



UNIVERSITAS INDONESIA

**ANALISIS FORMALIN DALAM SAMPEL IKAN DAN
UDANG SEGAR DARI PASAR MUARA ANGKE**

SKRIPSI

YUANKI MELANIE

0606071090

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI FARMASI

DEPOK

JULI 2010



UNIVERSITAS INDONESIA

**ANALISIS FORMALIN DALAM SAMPEL IKAN DAN
UDANG SEGAR DARI PASAR MUARA ANGKE**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**YUANKI MELANIE
0606071090**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Yuanki Melanie

NPM : 0606071090

Tanda Tangan : 

Tanggal : 13 Juli 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Yuanki Melanie
NPM : 0606071090
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Analisis Formalin dalam Sampel Ikan dan Udang Segar
dari Pasar Muara Angke

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Herman Suryadi, MS


(.....)

Pembimbing II : Dra. Maryati Kurniadi, M.Si


(.....)

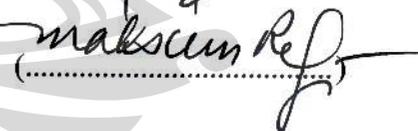
Penguji I : Dra. Rosmala Dewi, Apt


(.....)

Penguji II : Dr. Arry Yanuar, M.Si


(.....)

Penguji III : Dr. Maksum Radji, M.Biomed


(.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : /3 Juli 2010

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Herman Suryadi, MS selaku pembimbing pertama atas segala bimbingan, saran, dan bantuan yang diberikan selama penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini;
2. Ibu Dra. Maryati Kurniadi, M.Si selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, saran, dan bantuan selama penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini;
3. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI;
4. Ibu Santi Purna Sari, M.Si selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, dukungan, dan saran selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;
5. Seluruh dosen Departemen Farmasi FMIPA UI atas ilmu pengetahuan, didikan, nasihat dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;
6. Para laboran, terutama Bapak H. Rustam Pa'un dan Mbak Yayuk atas bantuan yang diberikan selama penulis melakukan penelitian, dan seluruh karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI.
7. Papa, Mama, dan Ceu-ceu Yuki atas kasih sayang, dukungan, motivasi, dan doa yang tak pernah putus.
8. Lutfi, atas semangat, dukungan, motivasi dan doa selama ini. Kak Nanda dan Kak Fransiskus atas bantuannya yang sangat berarti.
9. Sahabat-sahabatku farmasi angkatan 2006 “Rainbow United” atas kebersamaan, kekompakan, keceriaan, bantuan, motivasi dan semangat

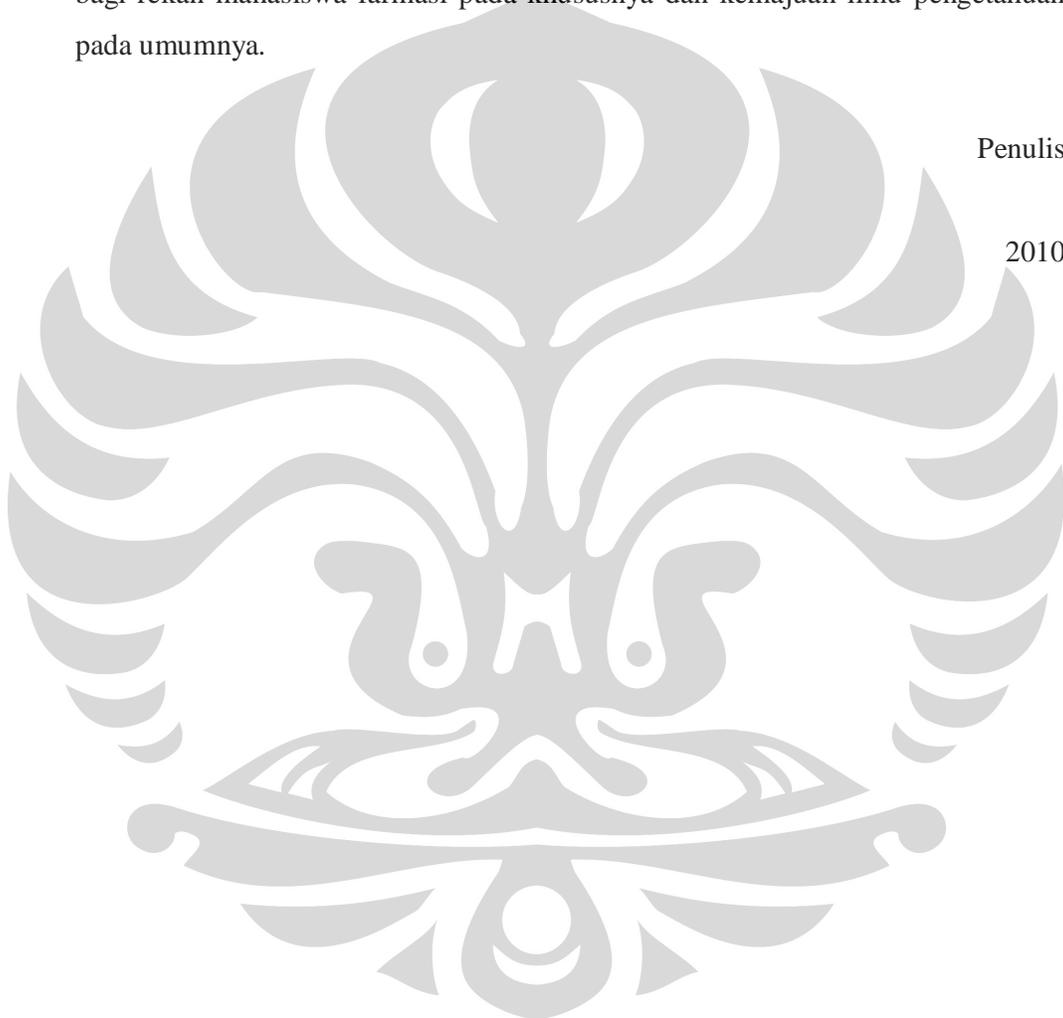
selama kita berjuang bersama di Farmasi UI. Semoga persahabatan ini akan terus terjalin.

10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu pada kesempatan ini yang telah membantu penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Meskipun demikian, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi rekan mahasiswa farmasi pada khususnya dan kemajuan ilmu pengetahuan pada umumnya.

Penulis

2010



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Yuanki Melanie
NPM : 0606071090
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

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

Analisis Formalin dalam Sampel Ikan dan Udang Segar dari Pasar Muara Angke

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 13 Juli 2010
Yang menyatakan



(Yuanki Melanie)

ABSTRAK

Nama : Yuanki Melanie
Program studi : Farmasi
Judul : Analisis Formalin dalam Sampel Ikan dan Udang Segar dari Pasar Muara Angke

Penggunaan formalin sebagai bahan tambahan dalam makanan dilarang oleh kementerian kesehatan dan tercantum dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.722/MenKes/Per/IV/88. Meskipun demikian, pada beberapa tahun terakhir ini muncul pemberitaan mengenai maraknya penggunaan formalin sebagai pengawet bahan makanan yang mudah membusuk seperti ikan dan udang. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi penggunaan formalin pada ikan dan udang segar yang dijual di Pasar Muara Angke, pasar tempat penjualan hasil laut segar di Jakarta. Penelitian ini diawali dengan identifikasi kandungan formalin dalam sampel ikan dan udang segar kemudian dilanjutkan dengan analisis kuantitatif untuk memperkuat hasil yang diperoleh. Analisis kualitatif formalin dilakukan dengan pereaksi Schryver sedangkan untuk analisis kuantitatif secara spektrofotometri UV-Vis menggunakan pereaksi Nash. Hasil validasi metode menunjukkan batas deteksi 0,0102 mg/L, batas kuantitasi 0,0341 mg/L, dan koefisien variasi 0,09%. Perolehan kembali formalin dalam sampel ikan berkisar antara 89,79-109,58% sedangkan dalam sampel udang udang 82,11-97,76%. Identifikasi terhadap enam sampel ikan dan enam sampel udang menunjukkan hasil yang negatif dan hasil analisis kuantitatif pada seluruh sampel memperkuat hasil yang diperoleh, yaitu tidak ditemukan adanya formalin dalam sampel ikan dan udang segar di Pasar Muara Angke.

Kata kunci : formalin, ikan, Muara Angke, Nash, segar, spektrofotometri, udang
xiv + 60 halaman : 11 gambar; 8 tabel; 5 lampiran
Daftar acuan : 36 (1910-2009)

ABSTRACT

Name : Yuanki Melanie
Program study : Pharmacy
Title : Formalin Analysis in Fresh Fish and Shrimp Samples from Muara Angke Market

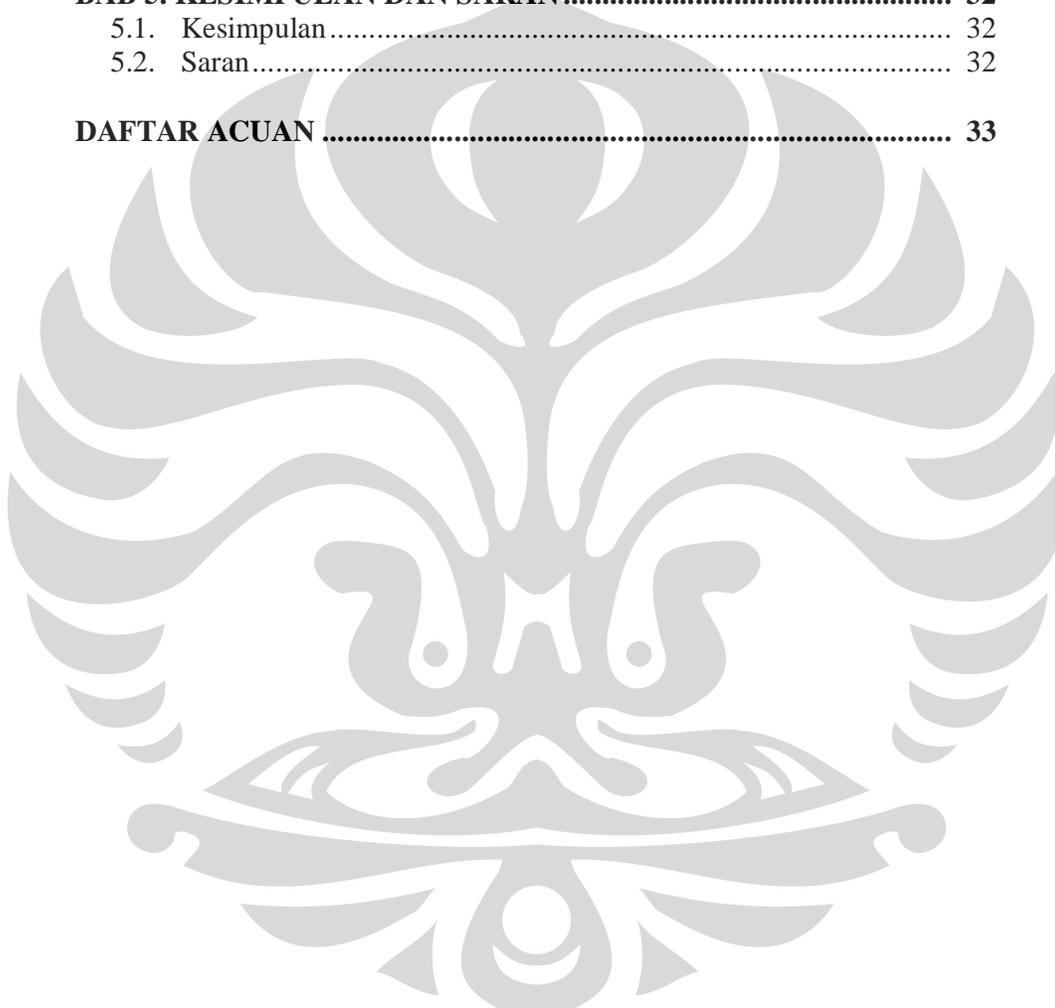
The use of formalin as a food additive has been prohibited by the ministry of health as stipulated in The Indonesia Ministry of Health Regulations No.722/Menkes/Per/IV/88. However, in recent years the Indonesian authorities have found trace amounts of formalin as a preservative in perishable foods such as fish and shrimp. The aim of this research is to identify the use of formalin in fresh fish and shrimp samples sold in Muara Angke Market as the fresh seafood market in Jakarta. The first step of this research was formalin identification in fish and shrimp samples and the next was quantitative analysis to assure the results obtained. Qualitative determination of formalin was carried out by Schryver reagent and the quantitative determination was carried out spectrophotometrically using Nash reagent. Validation of UV-Vis spectrophotometric method for determination of formalin showed that Nash reagent was suitable to determine formalin. The limit of detection, limit of quantitation, and coefficient of variation for formalin were 0,0102 mg/L, 0,0341 mg/L, and 0,09%, respectively. Recovery of formalin in fish samples was 89,79-109,58% and shrimp samples was 82,11-97,76%. Qualitative determination in six fish samples and six shrimp samples showed negative results and the quantitative analysis confirmed that formalin was not found in the fresh fish and shrimp samples from Muara Angke Market.

Keywords : fish, formalin, fresh, Muara Angke, Nash, Schryver, shrimp, spectrophotometry
xiv + 60 pages : 11 figures; 8 tables; 5 appendices
Bibliography : 36 (1910-2009)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Formalin.....	4
2.2. Ikan dan Udang Segar	5
2.3. Metode Analisis Formalin	7
2.4. Perekasi Schryver.....	9
2.5. Perekasi Nash.....	10
2.6. Spektrofotometri UV-Vis	11
2.6. Validasi Metode Analisis.....	14
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	17
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian	17
3.2. Bahan.....	17
3.3. Alat	18
3.4. Cara Kerja.....	18
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Penetapan kadar larutan baku formalin	25
4.2 Pembuatan larutan induk dan larutan standar formalin.....	25
4.3 Validasi metode analisis formalin dengan pereaksi Nash secara spektrofotometri UV-Vis.....	25

4.4. Penyiapan sampel untuk analisis formalin dalam sampel ikan segar.....	28
4.5. Analisis sampel ikan segar secara kualitatif	29
4.6. Analisis sampel ikan segar secara kuantitatif	29
4.7. Penyiapan sampel untuk analisis formalin dalam sampel udang segar.....	29
4.8. Analisis sampel udang segar secara kualitatif	30
4.9. Analisis sampel udang segar secara kuantitatif	30
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	32
5.1. Kesimpulan	32
5.2. Saran.....	32
DAFTAR ACUAN	33



DAFTAR GAMBAR

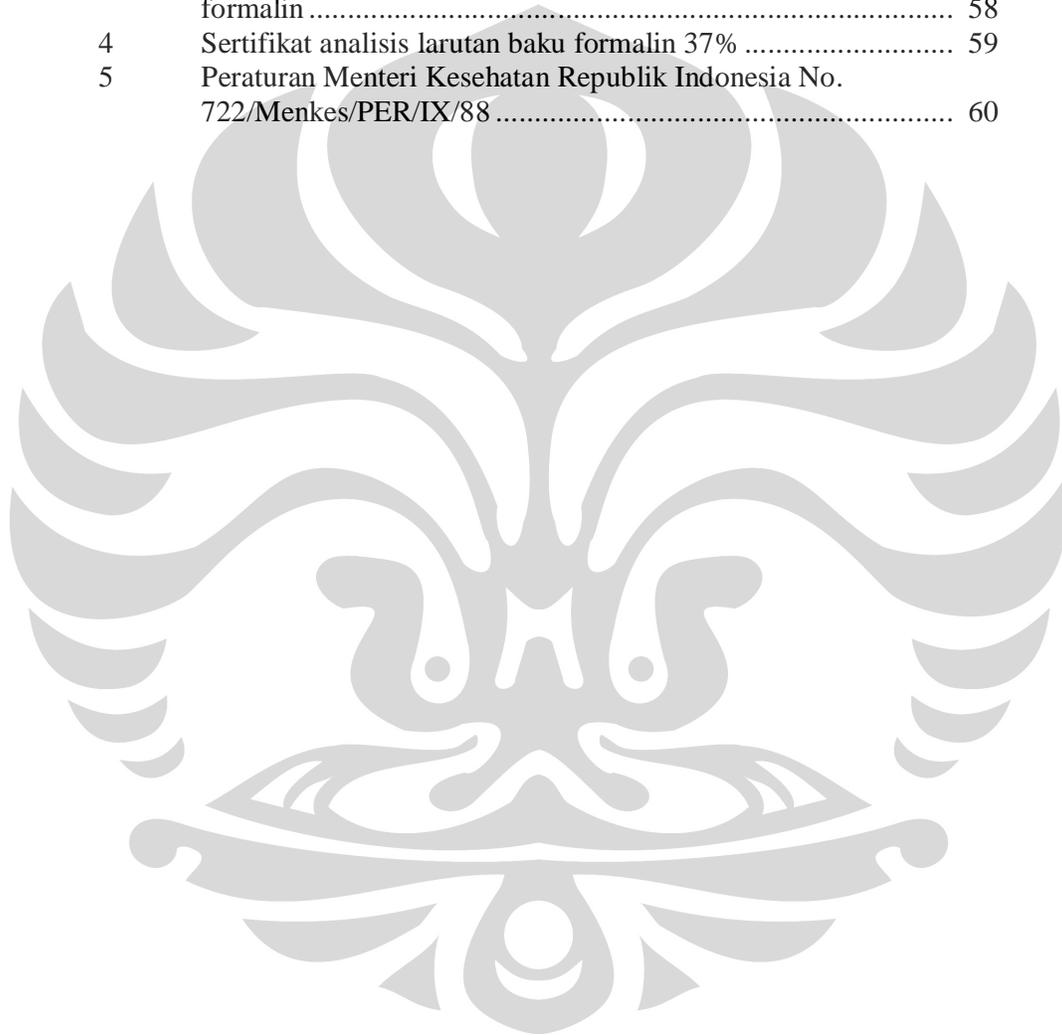
Gambar		Halaman
2.1	Rumus struktur formaldehida	4
4.1	Spektrum serapan hasil reaksi antara formalin konsentrasi 5,2 mg/L dengan pereaksi Nash	37
4.2	Kurva kestabilan serapan warna kompleks hasil reaksi antara formalin konsentrasi 5,2 mg/L dengan pereaksi Nash	38
4.3	Kurva kalibrasi senyawa kompleks hasil reaksi antara formalin dengan pereaksi Nash pada panjang gelombang 409,5 nm. Dengan persamaan garis $y = 0,13717x + 0,04860$ dan $r = 0,99998$	39
4.4	Pengujian 5 g sampel ikan segar dari Pasar Muara Angke secara kualitatif menggunakan pereaksi Schryver	40
4.5	Spektrum serapan sampel ikan segar yang tidak mengandung formalin dengan pereaksi Nash	41
4.6	Pengujian 5 g sampel udang segar dari Pasar Muara Angke secara kualitatif menggunakan pereaksi Schryver	42
4.7	Spektrum serapan sampel udang segar yang tidak mengandung formalin dengan pereaksi Nash	43
4.8	Spektrum serapan blanko (aquadest + pereaksi Nash)	44
4.9	Reaksi antara formaldehida dengan pereaksi Schryver	45
4.10	Reaksi antara formaldehida dengan pereaksi Nash	46

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
3.1	Formula pereaksi Schryver.....	19
4.1	Data penetapan kadar larutan baku formalin secara titrasi asam basa	48
4.2	Data hubungan waktu terhadap kestabilan warna senyawa kompleks hasil reaksi antara formalin konsentrasi 5,2 mg/L dengan pereaksi Nash.....	49
4.3	Data kurva kalibrasi formalin dengan pereaksi Nash	50
4.4	Data batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) pereaksi Nash	51
4.5	Data uji keterulangan pembentukan warna senyawa kompleks hasil reaksi antara formalin konsentrasi 5,2 mg/L dengan pereaksi Nash.....	52
4.6	Data uji perolehan kembali formalin dengan konsentrasi 3,0; 5,0; dan 8,0 mg/L yang ditambahkan pada sampel ikan.....	53
4.7	Data uji perolehan kembali formalin dengan konsentrasi 3,0; 5,0; dan 8,0 mg/L yang ditambahkan pada sampel udang	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Data pembakuan NaOH dengan KHP secara titrasi asam basa..	56
2	Data pembakuan HCl dengan $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ secara titrasi asam basa.....	57
3	Perhitungan pembuatan larutan induk dan larutan standar formalin	58
4	Sertifikat analisis larutan baku formalin 37%	59
5	Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 722/Menkes/PER/IX/88	60



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Wilayah Indonesia terdiri atas sekitar 17.000 pulau besar dan kecil membentang di sepanjang garis khatulistiwa (Samadi, 2006). Jumlah tersebut menjadikan Indonesia sebagai negara kepulauan terbesar di dunia (Samadi, 2006). Potensi lestari sumber daya ikan laut Indonesia diperkirakan 6,26 juta ton per tahun yang terdiri dari potensi di perairan wilayah Indonesia sekitar 4,4 juta ton per tahun dan perairan Zona Ekonomi Eksklusif Indonesia (ZEEI) sekitar 1,86 juta ton per tahun (Kwik Kian Gie, 2005). Hal tersebut menjadikan hasil laut, antara lain ikan dan udang, sebagai sumber pangan dan komoditi perdagangan nasional.

Ikan dan udang merupakan sumber pangan yang sangat dibutuhkan manusia karena kaya akan protein, vitamin, mineral, dan jaringan pengikatnya sedikit sehingga mudah dicerna. Di sisi lain, ikan dan udang termasuk jenis bahan pangan yang mudah rusak (membusuk). Hanya dalam waktu beberapa jam saja sejak ditangkap dan didaratkan akan timbul proses perubahan yang mengarah pada kerusakan (Adawyah, 2007). Cara yang umum dilakukan untuk mencegah kerusakan yaitu pengawetan dengan menggunakan es balok. Kendala yang dihadapi bila menggunakan es balok adalah dibutuhkan jumlah yang cukup banyak sehingga tidak praktis dan harganya relatif mahal. Hal tersebut menyebabkan nelayan dan penjual yang curang menggunakan zat kimia berbahaya seperti formalin sebagai pengganti es balok untuk menekan modal sehingga laba yang diperoleh meningkat.

Formalin adalah senyawa formaldehida dalam air dengan konsentrasi rata-rata 37% dan metanol 15% dan sisanya adalah air. Formaldehida yang merupakan bahan dasar formalin adalah gas yang tidak berwarna dan berbau sangat menyengat. Formaldehida banyak digunakan untuk berbagai keperluan industri dan bidang kesehatan. Formalin bukan pengawet makanan tetapi banyak digunakan oleh industri kecil untuk mengawetkan produk makanan karena

harganya yang murah sehingga dapat menekan biaya produksi, dapat membuat kenyal, utuh, tidak rusak, praktis dan efektif mengawetkan makanan (Widowati & Sumyati, 2006).

Larangan penggunaan formalin sebagai bahan tambahan makanan telah tercantum dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.722/MenKes/Per/IV/88 namun hingga saat ini masih ada saja pihak-pihak yang melanggarnya. Secara umum, sulit membedakan ikan dan udang berformalin dengan yang tidak. Oleh karena itu, jangan terkecoh oleh penampilan ikan dan udang segar dari kapal yang baru pulang melaut. Kuat dugaan bahwa ikan dan udang segar sudah mulai diberi formalin sejak di dalam palka (Saparinto & Hidayati, 2006).

Kontaminasi formaldehida dalam bahan makanan sangat membahayakan tubuh. Norliana, Abdulamir, Abu Bakar, dan Salleh (2009) menyatakan bahwa formaldehida dapat menyebabkan kanker saluran pernapasan dan meningkatkan resiko leukimia. *International Agency for Research on Cancer (IARC)* mengklasifikasikan formaldehida ke dalam kelompok 1 (*carcinogenic to humans*) (IARC, 2006).

Terdapat beberapa cara untuk menganalisis formaldehida dalam sampel makanan, antara lain dengan metode kolorimetri (Altshuller, Miller, & Sleva, 1961; Nash, 1953; Schryver, 1910), spektrofotometri (Wang, Cui, & Fang, 2007), kromatografi cair kinerja tinggi (Li, Zhu, & Ye, 2007), dan kromatografi gas (Bianchi, Careri, Musci, & Mangia, 2007).

Analisis secara KG-MS dan KCKT memerlukan instrumentasi yang relatif mahal dan rumit. Selain itu, dibutuhkan proses derivatisasi menggunakan zat penderivat yang mahal sehingga tidak cocok untuk analisis rutin. Oleh karena itu, diperlukan metode analisis lebih sederhana, cepat, ekonomis, dan sensitif. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah kolorimetri dengan pereaksi Schryver untuk analisis kualitatif dan spektrofotometri UV-Vis menggunakan pereaksi Nash untuk analisis kuantitatif. Bahan-bahan kimia penyusun pereaksi Schryver dan pereaksi Nash relatif mudah diperoleh dan lebih ekonomis dibandingkan dengan zat penderivat formaldehida pada analisis dengan KG-MS dan KCKT. Selain itu, instrumentasi spektrofotometri UV-Vis lebih sederhana dibandingkan

dengan KG-MS dan KCKT. Hal-hal ini meringankan sehingga metode cocok untuk diterapkan dalam analisis rutin.

Pemilihan pereaksi Schryver untuk analisis kualitatif disebabkan oleh terbentuknya warna yang spesifik dan sensitif antara pereaksi dengan formaldehida dengan batas deteksi terendah 0,2 mg/L (Suryadi, Hayun, & Harsono, 2008). Analisis kuantitatif formalin dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis berdasarkan reaksi antara formaldehida dengan pereaksi Nash yang menghasilkan senyawa kompleks 3,5-diasetil-1,4-dihidrolutidin (DDL) (Nash, 1953).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan formalin dalam ikan dan udang segar untuk mengetahui adanya penyalahgunaan formalin pada ikan dan udang segar yang dijual di Pasar Muara Angke serta mengetahui tingkat kontaminasi formalin pada ikan dan udang segar yang beredar di pasaran.

1.2. Tujuan Penelitian

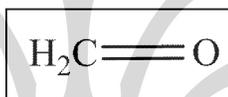
1. Melakukan validasi metode analisis untuk penetapan kadar formalin dalam ikan dan udang segar dengan pereaksi Nash secara spektrofotometri UV-Vis.
2. Mengidentifikasi formalin dalam ikan dan udang segar dari Pasar Muara Angke menggunakan pereaksi Schryver.
3. Mengukur kadar formalin dalam ikan dan udang segar dari Pasar Muara Angke menggunakan pereaksi Nash secara spektrofotometri UV-Vis.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Formalin

Formalin merupakan nama dagang dari senyawa formaldehida dalam air dengan konsentrasi sekitar 37%, biasanya ditambahkan 10-15% metanol sebagai penstabil untuk mencegah polimerisasi (The Merck Index 13th Edition, 2001). Formaldehida adalah gas dengan bau yang menyengat, tidak berwarna dan termasuk dalam golongan aldehida alifatik yang paling sederhana dengan rumus molekul CH₂O (Patnaik, 1992). Formaldehida sangat mudah larut dalam air, alkohol, dan pelarut polar lainnya (WHO, 2002). Formaldehida memiliki bobot molekul 30,03, jarak lebur -118°C sampai -92°C, dan jarak didih -21°C sampai -19°C (WHO, 2002). Rumus struktur formaldehida adalah sebagai berikut:



Gambar 2.1. Rumus struktur formaldehida.

Penggunaan terbesar formaldehida yaitu untuk produksi resin dengan urea, fenol dan melamin, dan resin poliasetal. Selain itu, dalam dunia industri formaldehida banyak digunakan sebagai senyawa antara pada sintesis senyawa kimia yang selanjutnya digunakan dalam pembuatan plastik poliuretan dan poliester dan minyak pelumas sintetik (WHO, 1989; IARC, 1995; Reuss et al., 2003; Gerberich & Seaman, 2004). Formaldehida juga dimanfaatkan sebagai pengawet spesimen biologi dan desinfektan peralatan rumah sakit. Dalam dunia kosmetik formaldehida digunakan sebagai agen antimikroba dalam berbagai produk, antara lain sabun, *shampoo*, deodoran, losion, cairan penyegar mulut (*Cosmetic Ingredient Review Expert Panel*, 1984; Reuss et al., 2003).

Pada sel mamalia, formaldehida merupakan zat antara yang penting dalam metabolisme normal asam amino seperti serin, glisin, metionin, dan kolin. Formaldehida dimetabolisme oleh konjugat formaldehida-glutation menjadi

hidroksimetilglutation yang lalu dimetabolisme menjadi format oleh formaldehida dehidrogenase. Formaldehida dieliminasi dari tubuh sebagai format dalam urin atau karbon dioksida dalam hembusan napas. Apabila formaldehida tidak dimetabolisme oleh formaldehida dehidrogenase, ia dapat membentuk tautan silang antara protein dan DNA utas tunggal (Naya & Nakahashi, 2005).

Penelitian mengenai efek formaldehida terhadap manusia telah banyak dilakukan. Studi menunjukkan bahwa inhalasi kronik formaldehida menyebabkan iritasi mata, hidung, dan tenggorokan (Zhang, Steinmaus, Eastmond, Xin, & Smith, 2008; Noisel, Bouchard, & Carrier, 2007). Paparan oral formaldehida dapat menginduksi ulser saluran cerna.

Studi efek genetik pada sel mukosa bukal atau nasal dan pada limfosit perifer telah diamati pada individu yang terpapar formaldehida. Beberapa studi menunjukkan terjadinya efek genetik seperti aberasi kromosom dan *sister chromatid exchange* pada limfosit perifer individu yang terpapar formaldehida. Studi genotoksisitas in vitro menunjukkan formaldehida bersifat genotoksik pada kultur sel mamalia. Ketika formaldehida mencapai *nuclear* DNA, ia membentuk tautan silang antara protein dan DNA (DNA-protein *crosslinks*/DPX). Perbaikan DPX yang tidak sempurna dapat mengarah pada terjadinya mutasi, khususnya mutasi kromosom dan mikronukleus pada sel yang berproliferasi. Karena reaktivitasnya yang sangat tinggi, formaldehida terutama menyebabkan efek genotoksik lokal pada tempat kontak (Speit & Schmid, 2006).

International Agency for Research on Cancer (IARC) mengklasifikasikan formaldehida ke dalam kelompok 2A (*probably carcinogenic to human*). Namun pada Juni 2004 formaldehida diklasifikasi ulang dan dimasukkan ke dalam kelompok 1 berdasarkan bukti epidemiologis yang cukup bahwa formaldehida menyebabkan kanker nasofaringeal pada manusia (Bosetti, Mclaughlin, Tarone, Pira, & La Vecchia, 2008; Duhayon, Hoet, Van Maele-Fabry, Lison, 2008).

2.2. Ikan dan Udang Segar

Sejak beberapa abad yang lalu, manusia telah memanfaatkan ikan dan udang sebagai salah satu bahan pangan yang banyak mengandung protein. Ikan dan udang yang baik adalah ikan dan udang yang masih segar. Ikan dan udang

segar masih mempunyai sifat sama dengan ikan dan udang hidup, baik rupa, bau, rasa, maupun teksturnya. Menurut Adawyah (2007), ikan dan udang segar adalah:

- ikan dan udang yang baru saja ditangkap dan belum mengalami proses pengawetan maupun pengolahan lebih lanjut;
- ikan dan udang yang belum mengalami perubahan fisika maupun kimia atau yang masih mempunyai sifat sama ketika ditangkap.

Adawyah (2007) menyatakan bahwa segar atau tidaknya ikan dapat dinilai melalui pengamatan kondisi fisik ikan, yaitu sebagai berikut:

- Kenampakan luar

Ikan yang masih segar mempunyai penampakan cerah dan tidak suram. Keadaan itu dikarenakan belum banyak perubahan biokimia yang terjadi. Pada ikan tidak ditemukan tanda-tanda perubahan warna, tetapi secara berangsur warna makin suram, karena timbulnya lendir sebagai akibat berlangsungnya proses biokimiawi lebih lanjut dan berkembangnya mikroba.

- Lenturan daging ikan

Daging ikan segar cukup lentur jika dibengkokkan dan segera akan kembali ke bentuknya semula apabila dilepaskan. Kelenturan itu dikarenakan belum terputusnya jaringan pengikat pada daging, sedangkan pada ikan busuk jaringan pengikat banyak mengalami kerusakan dan dinding selnya banyak yang rusak sehingga daging ikan kehilangan kelenturan.

- Keadaan mata

Parameter ini merupakan yang paling mudah untuk dilihat. Perubahan kesegaran ikan akan menyebabkan perubahan yang nyata pada kecerahan matanya.

- Keadaan daging

Kualitas ikan ditentukan oleh dagingnya. Ikan yang masih segar berdaging kenyal, jika ditekan dengan telunjuk atau ibu jari maka bekasnya akan segera kembali. Daging ikan yang belum kehilangan cairan daging kelihatan basah dan pada permukaan tubuh belum terdapat lendir yang menyebabkan kenampakan ikan menjadi suram/kusam dan tidak menarik. Setelah ikan mati, beberapa jam kemudian daging ikan menjadi kaku. Karena kerusakan pada jaringan dagingnya,

maka makin lama kesegarannya akan hilang, timbul cairan sebagai tetes-tetes air yang mengalir keluar, dan daging kehilangan kekenyalan tekstur.

- Keadaan insang dan sisik

Insang ikan merupakan pusat darah mengambil oksigen dari dalam air. Warna insang dapat dikatakan sebagai indikator kesegaran ikan. Insang ikan yang masih segar berwarna merah cerah, sedangkan yang tidak segar berwarna coklat gelap. Sisik ikan juga dapat menjadi parameter kesegaran ikan. Jika sisiknya masih melekat kuat dan tidak mudah dilepaskan dari tubuhnya berarti ikan tersebut masih segar.

2.3. Metode Analisis Formalin

2.3.1. Metode kolorimetri

2.3.1.1. Reaksi Schryver

Ke dalam 10 mL larutan uji yang mengandung formaldehida tambahkan 2 mL larutan fenilhidrazin hidroklorida 1% (dibuat baru dan disaring), 1 mL larutan kalium ferrisianida yang baru dibuat, dan 5 mL asam klorida pekat. Adanya formaldehida dalam larutan uji ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah terang (Schryver, 1910).

2.3.1.2. Reaksi Nash

Ke dalam larutan uji yang mengandung formaldehida tambahkan 5 mL pereaksi Nash (campuran dari 150 gram amonium asetat, 3 mL asam asetat glasial, dan 2 mL asetilaseton dilarutkan dalam aquadest hingga volume 1 L). Kocok dan panaskan selama 30 menit di penangas air ($40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$). Dinginkan pada temperatur kamar. Adanya formaldehida dalam larutan uji ditunjukkan oleh terbentuknya warna kuning (Nash, 1953).

2.3.2. Metode kromatografi gas-spektrofotometri massa

Formaldehida diderivatisasi terlebih dahulu menggunakan *O*-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)-hydroxylamine hydrochloride (PFBHA) menghasilkan

PFBHA-*formaldoxime* yang selanjutnya dianalisis dengan kromatografi gas Hewlett Packard 6890 Series Plus yang dilengkapi dengan spektrometer massa MSD 5973. Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju alir 1,0 mL/menit. Kolom yang digunakan yaitu kolom kapiler HP-5MS berukuran 30 m x 0,25 μm . Suhu oven diprogram dengan suhu awal 70°C ditahan selama 1 menit dengan kenaikan suhu 3°C/menit hingga 100°C, kemudian suhu dinaikkan kembali hingga 250°C dengan kenaikan suhu 20°C/menit dan suhu akhir 250°C ditahan selama 2 menit (Bianchi, Careri, Musci, & Mangia, 2007).

2.3.3. Metode kromatografi cair kinerja tinggi

Formaldehida diderivatisasi terlebih dahulu menggunakan 2,4-*dinitrophenylhydrazine* (DNPH) menghasilkan *formaldehyde-dinitrophenylhydrazone* (HCHO-DNPHo) yang selanjutnya dianalisis dengan kromatografi cair LC-VP (Shimadzu) yang dilengkapi dengan sebuah SCL-10Avp *system controller*, dua pompa LC-10Atvp, dan sebuah SPD-M10Avp *diode array detector* (DAD) yang diatur pada panjang gelombang 352 nm. Pemrosesan data dilakukan dengan Class-VP Workstation (Shimadzu). Kolom yang digunakan yaitu kolom C18 (Inertsil ODS-P) berukuran 250 mm x 4,6 mm i.d. dan ukuran partikel 5 μm . Fase gerak yang dipakai adalah campuran asetonitril dan air (70:30, v/v) dengan laju alir 1,2 mL/menit (Liu, Peng, Chi, & Jiang, 2005).

2.3.4. Spektrokolorimetri

2.3.4.1. Reaksi Nash

Larutan formaldehida dengan konsentrasi 5 mg/L dipipet sebanyak 5,0 ml ke dalam labu ukur 10,0 mL, kemudian volumenya dicukupkan sampai batas menggunakan pereaksi Nash (dibuat dari 2 mL asetil aseton, 3 mL asam asetat, dan 150 gram amonium asetat yang diencerkan dengan aquadest hingga 1 L), kemudian dipanaskan di atas penangas air ($40\pm 2^\circ\text{C}$) selama 30 menit akan terbentuk warna kuning. Didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar kemudian diukur serapan pada panjang gelombang maksimumnya (412 nm) (Nash, 1953).

2.3.4.2. Reaksi asam kromotropat

Pereaksi yang digunakan adalah larutan jenuh asam 1,8-dihidroksinaftalen-3,6-disulfonat (0,5% b/v) dalam asam sulfat 72%. 5,0 mL larutan formaldehida yang dipipet ke dalam labu ukur 10,0 mL dicukupkan volumenya dengan pereaksi tersebut. Dikocok lalu dipanaskan di atas penangas air (100°C) selama 15 menit. Warna ungu yang terbentuk kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimumnya (580 nm).

2.4. Pereaksi Schryver

Pereaksi Schryver merupakan salah satu metode analisis kualitatif yang spesifik untuk formalin. Pereaksi ini terdiri dari 2 mL larutan fenilhidrazin hidroklorida 1% (dibuat baru dan disaring), 1 mL larutan kalium ferrisianida (dibuat baru) dan 5 mL asam klorida pekat.

Metode analisis ini pertama kali diperkenalkan oleh Rimini. Rimini menyatakan bahwa ketika ke dalam larutan formaldehida ditambahkan fenilhidrazin hidroklorida, setetes ferri klorida dan asam sulfat pekat, maka akan terbentuk warna seperti *fuchsin*. Reaksi ini kemudian dinyatakan tidak pasti karena bila penambahan ferri klorida terlalu sedikit maka warna tidak terbentuk sempurna, sedangkan bila penambahan ferri klorida terlalu banyak maka warna yang terbentuk akan cepat hilang. Selain itu, penggunaan asam sulfat pekat menyebabkan metode ini kurang disukai untuk diterapkan dalam analisis kuantitatif (Schryver, 1910).

Reaksi terjadi karena terbentuk hasil kondensasi antara formaldehida dan fenilhidrazin, yang pada reaksi oksidasi menghasilkan basa lemah. Basa lemah tersebut dengan adanya asam kuat berlebih akan menghasilkan garam yang langsung mengalami disosiasi hidrolitik pada pengenceran (Gambar 4.9). Schryver kemudian memodifikasi pereaksi yang digunakan, yaitu dengan mensubstitusi ferri klorida dengan zat oksidator lain yang bila ditambahkan berlebih tidak akan menghancurkan warna, dan dengan mensubstitusi asam sulfat pekat dengan asam klorida pekat sehingga reaksi ini dapat diterapkan pada analisis kuantitatif formaldehida. Modifikasi ini mampu meningkatkan sensitivitas reaksi, dimana sebelum modifikasi reaksi ini memiliki tingkat sensitivitas

1:50.000 dan setelah dimodifikasi sensitivitasnya menjadi 1:1.000.000 (Schryver, 1910).

Metode ini juga cukup spesifik untuk formaldehida. Ketika reaksi Schryver dicobakan pada aldehida, antara lain formaldehida, asetaldehida, benzaldehida, salisilaldehida, furfuraldehida, paraldehida, dan metaldehida, hanya formaldehida yang menghasilkan warna merah terang, sedangkan yang lainnya menghasilkan warna yang bervariasi dari jingga sampai hijau (Young & Conway, 1941).

2.5. Pereaksi Nash

Pereaksi Nash merupakan pereaksi yang spesifik untuk formaldehida dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif. Pada penelitian ini, pereaksi Nash digunakan dalam analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pereaksi Nash terdiri dari 2 mL asetil aseton, 3 mL asam asetat glasial, dan 150 gram amonium asetat yang diencerkan dengan aquadest hingga 1 L.

Metode ini pertama kali diperkenalkan sebagai metode kolorimetri untuk formaldehida oleh Nash (1953) yang menggunakan asetil aseton (2,4-pentanadion), asam asetat glasial dan amonium asetat sebagai pereaksi untuk membentuk derivat 3,5-diasetil-1,4-dihidrolutidin (DDL) yang berwarna kuning. Reaksi dilakukan dengan cara mencampurkan pereaksi Nash dengan larutan yang mengandung formaldehida dimana jumlah volume keduanya sebanding. Kompleks yang terbentuk dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 412 nm (Nash, 1953).

Pembentukan kompleks DDL terjadi berdasarkan reaksi Hantzsch dimana terjadi siklisasi antara β -diketon, amonium asetat, dan formaldehida yang menghasilkan derivat 3,5-diasetil-1,4-dihidrolutidin (DDL) (Vairavamurthy, Roberts, & Newman, 1991). Dua molekul asetil aseton berikatan dengan metilen formaldehida di bagian atas dan nitrogen amonia pada bagian bawah (Gambar 4.9).

Reaksi ini spesifik untuk formaldehida. Dengan pereaksi Nash asetaldehida dapat menghasilkan diasetildihidrokolidin namun puncak serapan

diukur pada 388 nm, bukan 412 nm seperti formaldehida. Selain itu, aseton, kloral, fural, dan glukosa tidak mengganggu reaksi. Polimer formaldehida dapat bereaksi namun lambat, mungkin disebabkan oleh pelepasan monomer (Nash, 1953).

2.6. Spektrofotometri UV-Vis

2.6.1. Dasar teori

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. REM merupakan bentuk energi radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel (foton). Karena bersifat sebagai gelombang maka beberapa parameter perlu diketahui, misalnya panjang gelombang, frekuensi, bilangan gelombang, dan serapan. REM mempunyai vektor listrik dan vektor magnet yang bergetar dalam bidang-bidang yang tegak lurus satu sama lain dan masing-masing tegak lurus pada arah perambatan radiasi.

Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorpsi/diteruskan. Jika radiasi yang monokromatik melewati larutan yang mengandung zat yang dapat menyerap, maka radiasi ini akan dipantulkan, diabsorpsi oleh zatnya dan sisanya ditransmisikan.

Lambert dan Beer telah menurunkan secara empirik hubungan antara intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan tebalnya larutan dan hubungan antara intensitas tadi dengan konsentrasi zat.

Hukum Lambert-Beer:

$$A = \log \frac{I_0}{I_t} = \gamma \cdot b \cdot c = a \cdot b \cdot c$$

Dimana:

- A = serapan
- I_0 = intensitas sinar yang datang
- I_t = intensitas sinar yang diteruskan
- γ = absorbtivitas molekuler (mol.cm.I_t^{-1})
- a = daya serap (g.cm.I_t^{-1})
- b = tebal larutan/kuvet

c = konsentrasi ($\text{g.l}^{-1} \cdot \text{mg.mL}^{-1}$)

Penyimpangan-penyimpangan Hukum Beer yaitu pada konsentrasi rendah, grafik hubungan dari serapan dengan konsentrasi biasanya merupakan garis lurus. Pada konsentrasi yang lebih tinggi kurva ini dapat membelok ke arah absis atau ordinat. Penyimpangan ini disebabkan oleh kondisi percobaan yang sudah tidak dipenuhi lagi, yaitu:

- a. Cahaya tidak cukup monokromatis
- b. Cahaya sampingan mengenai detektor
- c. Kepekaan detektor berubah
- d. Intensitas sumber cahaya dan amplifiser dari detektor berubah-ubah karena tegangan tidak stabil
- e. Pada desiasi-asosiasi keseimbangan kimia berubah, misalnya pada perubahan pH larutan
- f. Larutan berfluoresensi
- g. Suhu larutan berubah selama pengukuran

Seperti diketahui bahwa Beer hanya berlaku untuk cahaya monokromatis. Dalam praktek hal ini sukar dipenuhi karena derajat kemonokromatisan ditentukan oleh lebar celah yang digunakan. Makin kecil lebar celah yang ditetapkan, makin monokromatis cahaya yang diperoleh, akan tetapi intensitas cahaya yang mengenai detektor juga makin kecil sehingga kepekaan berkurang. Jadi selalu dicari jalan tengah antara keakuratan, kepekaan, dan persyaratan detektor.

2.6.2. Instrumentasi

Instrumen dasar dari spektrofotometer UV-Vis terdiri dari sumber tenaga radiasi, monokromator, tempat cuplikan, detektor, dan rekorder.

2.6.2.1. Sumber tenaga radiasi

Sumber tenaga radiasi yang ideal untuk pengukuran serapan harus menghasilkan spektrum kontinu dengan intensitas yang seragam pada keseluruhan kisaran panjang gelombang yang sedang dipelajari. Sumber radiasi yang paling

umum digunakan pada daerah cahaya tampak adalah lampu filamen tungsten, sedangkan untuk daerah ultraviolet digunakan lampu deuterium (Sastrohamidjojo, 1991).

2.6.2.2. Monokromator

Sumber radiasi yang umum digunakan menghasilkan radiasi kontinu dalam kisaran panjang gelombang yang lebar. Dalam spektrometer, radiasi yang polikromatik ini harus diubah menjadi radiasi monokromatik. Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang menguraikan radiasi polikromatik menjadi jalur-jalur yang efektif/panjang gelombang-gelombang tunggalnya dan memisahkan panjang gelombang-gelombang tersebut menjadi jalur-jalur yang sangat sempit. Suatu monokromator terdiri dari lensa atau cermin untuk memusatkan radiasi pada celah pintu masuk dan keluar untuk membatasi radiasi yang tidak dikehendaki dan membantu mengendalikan kemurnian spektrum dari radiasi yang dipancarkan, dan suatu medium dispersi untuk memisahkan panjang gelombang radiasi yang polikromatis dari sumber radiasi (Sastrohamidjojo, 1991).

2.6.2.3. Tempat cuplikan

Tempat cuplikan tentunya harus transparan pada daerah panjang gelombang pengukuran. Tempat cuplikan yang dipakai pada spektrofotometer cahaya tampak dan ultraviolet biasanya berupa kuvet dengan ketebalan 1 cm (Sastrohamidjojo, 1991).

2.6.2.4. Detektor

Setiap detektor menyerap tenaga foton yang mengenainya dan mengubah tenaga tersebut untuk dapat diukur secara kuantitatif sebagai arus listrik atau perubahan-perubahan panas (Sastrohamidjojo, 1991). Detektor bervariasi sesuai dengan daerah panjang gelombang pengukuran. Sebuah tabung foto atau sel foto yang terdiri dari sebuah anoda dan katoda fotoemisif umumnya digunakan pada daerah cahaya tampak dan ultraviolet.

2.6.2.5. Rekorder

Pada kebanyakan peralatan spektrofotometri yang telah menggunakan teknologi maju, peran pengolahan data dilakukan oleh suatu alat pengolah data (*data processor*) atau komputer.

2.7. Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2006).

Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis antara lain kecermatan (*accuracy*), keseksamaan (*precision*), selektivitas (*selectivity*), linearitas (*linearity*) dan rentang (*range*), batas deteksi (*limit of detection/LOD*) dan batas kuantitasi (*limit of quantitation/LOQ*), ketangguhan (*ruggedness*), serta kekuatan (*robustness*).

2.7.1. Kecermatan

Kecermatan atau *accuracy* adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan.

Ada tiga cara untuk menentukan akurasi, yaitu metode perbandingan terhadap standar acuan, metode simulasi (*spiked placebo recovery*) dan metode penambahan bahan baku (*standard addition method*). Cara yang umum digunakan untuk menentukan kecermatan adalah berdasarkan persentase yang didapat dari kurva linier standar.

Persen perolehan kembali dinyatakan sebagai perbandingan antara hasil kadar yang diperoleh dengan kadar yang sebenarnya. Kriteria cermat diberikan jika hasil analisis memberikan rasio antara 80–120%. Pada percobaan penetapan kecermatan, sedikitnya lima sampel yang mengandung analit dan plasebo harus disiapkan dengan kadar antara 50–150% dari kandungan yang diharapkan (Harmita, 2006).

2.7.2. Keseksamaan

Keseksamaan atau *precision* adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur ditetapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen.

Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Keseksamaan dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*).

Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi 2% atau kurang. Dari penelitian dijumpai bahwa koefisien variasi meningkat dengan menurunnya kadar analit yang dianalisis. Percobaan keseksamaan dilakukan terhadap paling sedikit enam replika sampel dengan matriks yang homogen (Harmita, 2006).

2.7.3. Selektivitas

Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur analit tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel.

Selektivitas metode ditentukan dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya atau pembawa plasebo dengan hasil analisis sampel tanpa penambahan bahan-bahan tadi. Penyimpangan hasil jika ada merupakan selisih dari hasil uji keduanya (Harmita, 2006).

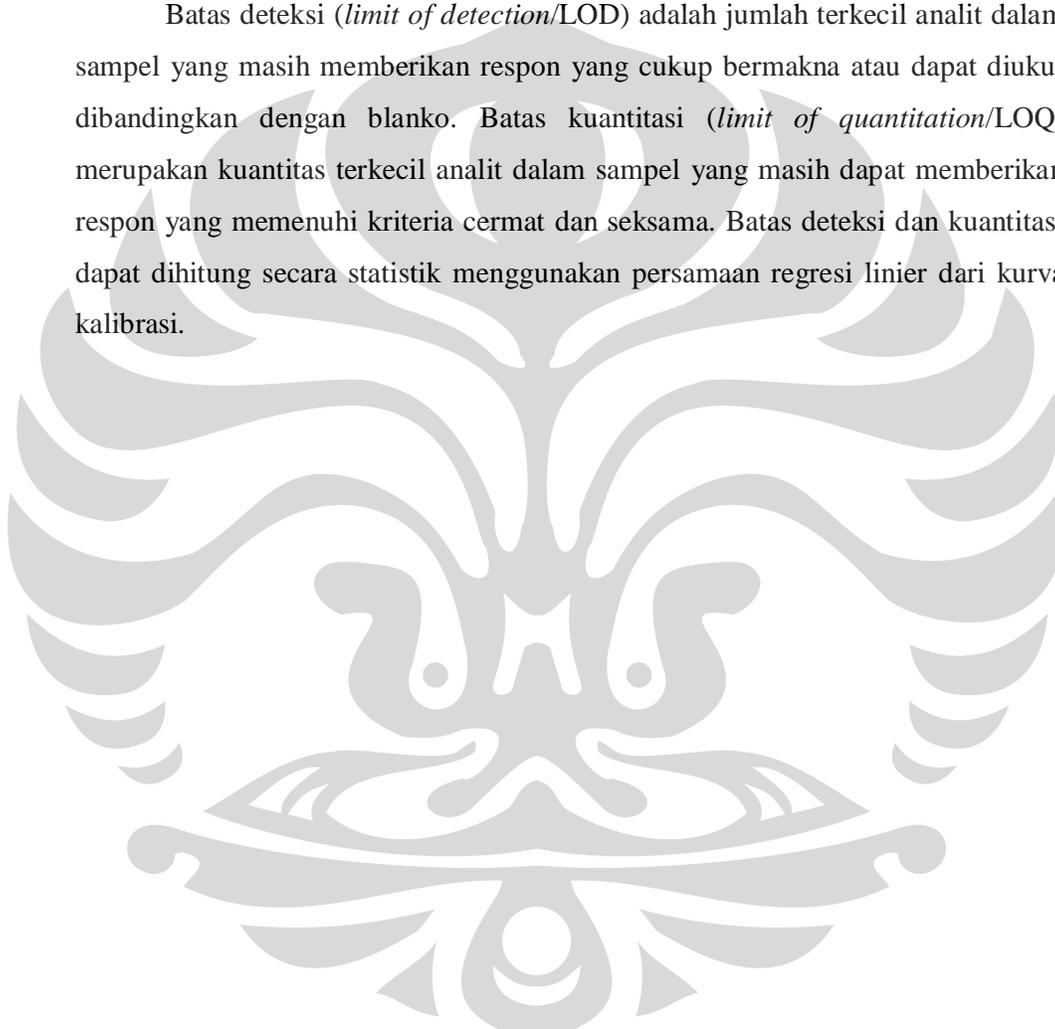
2.7.4. Linearitas dan rentang

Linearitas adalah kemampuan metode analisis untuk memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang sangat baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima.

Linearitas dapat diperoleh dengan mengukur beberapa (minimal 5) konsentrasi standar yang berbeda antara 50-150% dari kadar analit dalam sampel kemudian data diproses dengan menggunakan regresi linier, sehingga dapat diperoleh nilai *slope*, intersep dan koefisien korelasi (Harmita, 2006).

2.7.5. Batas deteksi dan batas kuantitasi (LOD dan LOQ)

Batas deteksi (*limit of detection/LOD*) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih memberikan respon yang cukup bermakna atau dapat diukur dibandingkan dengan blanko. Batas kuantitasi (*limit of quantitation/LOQ*) merupakan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memberikan respon yang memenuhi kriteria cermat dan seksama. Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik menggunakan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi.



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia. Penelitian ini dilakukan dari bulan Februari sampai Juni 2010.

3.2. Bahan

3.2.1. Bahan kimia

Aquadest, larutan baku formalin 37% (Merck), fenilhidrazin hidroklorida (Merck), kalium ferrisianida (Merck), asam klorida pekat (Merck), amonium asetat (Merck), asetil aseton (Merck), asam asetat glasial (Mallinckrodt), hidrogen peroksida (Merck), natrium hidroksida (Mallinckrodt).

3.2.2. Sampel ikan dan udang segar yang diperoleh dari Pasar Muara Angke, Jakarta Utara

3.2.2.1. Sampel ikan segar

Diperoleh dari enam pedagang berbeda yang dipilih secara acak di Pasar Muara Angke. Seluruh sampel ikan segar diperoleh pada hari yang sama. Sampel ikan yang diperoleh antara lain ikan bawal yang berukuran sedang (I_1) dari pedagang pertama, ikan ekor kuning yang berukuran sedang (I_2) dari pedagang kedua, ikan kacang-kacang yang berukuran kecil (I_3) dari pedagang ketiga, ikan kakap yang berukuran besar (I_4) dari pedagang keempat, ikan tenggiri yang berukuran besar (I_5) dari pedagang kelima, dan ikan kembung yang berukuran sedang (I_6) dari pedagang keenam.

3.2.2.1. Sampel udang segar

Diperoleh dari enam pedagang berbeda yang dipilih secara acak di Pasar Muara Angke. Seluruh sampel udang segar diperoleh pada hari yang sama namun berbeda dengan hari perolehan sampel ikan segar. Sampel udang yang diperoleh antara lain udang jerbung yang berukuran besar (U_1) dari pedagang pertama, udang jerbung berukuran kecil (U_2) dari pedagang kedua, udang pancet yang berukuran kecil (U_3) dari pedagang ketiga, udang pancet yang berukuran sedang (U_4) dari pedagang keempat, udang pancet yang berukuran kecil (U_5) dari pedagang kelima, dan udang fame yang berukuran besar (U_6) dari pedagang keenam.

3.3. Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Jasco V-530), timbangan analitik (Acculab), penangas air (Lab-Line), oven (Heraeus), sentrifugator (Labofuge), lemari pendingin, alat-alat gelas.

3.4. Cara Kerja

3.4.1. Penetapan kadar larutan baku formalin

Larutan baku formalin (37%) ditimbang seksama sebanyak 1,5 g kemudian ditambahkan campuran 12,5 mL hidrogen peroksida encer P dan 25 mL natrium hidroksida 1 N. Hangatkan di penangas air hingga pembuihan berhenti. Titrasi dengan asam klorida 1 N menggunakan indikator larutan fenolftalein P.

1 mL natrium hidroksida 1 N setara dengan 30,03 mg formaldehida.

3.4.2. Pembuatan larutan induk dan larutan standar formalin

3.4.2.1. Larutan induk formalin

Larutan formalin standar sebanyak 757,3 mg yang ditimbang seksama dilarutkan dalam aquadest hingga volume 250,0 mL.

3.4.2.2. Larutan standar formalin

Larutan induk formalin dipipet 10,0 mL dan dilarutkan dalam aquadest hingga volume 100,0 mL.

3.4.3. Pembuatan pereaksi Schryver

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pereaksi Schryver dengan formula berikut merupakan yang paling sensitif dalam mendeteksi formalin secara kualitatif dengan batas deteksi terendah 0,2 mg/L (Suryadi, Mansur, & Christine, 2008).

Tabel 3.1. Formula pereaksi Schryver.

Fenilhidrazin HCl	$K_3Fe(CN)_6$	HCl
5% dalam HCl 4,5 N (1:4); 0,7 mL	5%; 0,3 mL	-

[Sumber: Suryadi, Mansur, & Christine, 2008 (telah diolah kembali)]

3.4.4. Pembuatan pereaksi Nash

Dibuat dari 2 mL asetil aseton, 3 mL asam asetat glasial, dan 150 gram amonium asetat yang diencerkan dengan aquadest hingga 1 L (Nash, 1953).

3.4.5. Validasi metode analisis formalin dengan pereaksi Nash secara spektrofotometri UV-Vis

3.4.5.1. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan standar formalin dipipet 5,0 mL kemudian diencerkan dengan aquadest hingga volume 100,0 mL. Larutan tersebut dipipet 5,0 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL kemudian ditambahkan pereaksi Nash hingga batas. Campuran dikocok dan dipanaskan ($40 \pm 2^\circ C$) selama 30 menit, didinginkan pada temperatur kamar selama 30 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 300-600 nm.

3.4.5.2. Penentuan kestabilan serapan warna kompleks hasil reaksi formalin dengan pereaksi Nash

Larutan standar formalin dipipet 5,0 mL, diencerkan dengan aquadest hingga volume 100,0 mL. Larutan tersebut dipipet 5,0 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL dan ditambahkan dengan pereaksi Nash hingga batas. Campuran dihomogenkan kemudian dipanaskan ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit, didinginkan pada temperatur kamar selama 30 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum setiap 5 menit selama 30 menit.

3.4.5.3. Pembuatan kurva kalibrasi

Dibuat larutan formalin dengan konsentrasi 0,5; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 dan 10,0 mg/L. Masing-masing larutan di atas dipipet 5,0 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL dan ditambahkan dengan pereaksi Nash hingga batas. Campuran dihomogenkan kemudian dipanaskan ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit, didinginkan pada temperatur kamar selama 30 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum.

3.4.5.4. Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ)

Dari kurva kalibrasi yang diperoleh, dihitung konsentrasi terkecil yang masih dapat dideteksi (LOD) dan terdeteksi secara kuantitatif (LOQ) menggunakan perhitungan statistik.

3.4.5.5. Uji keterulangan pembentukan warna hasil reaksi antara formalin dengan pereaksi Nash

Dibuat 6 buah larutan formalin dengan konsentrasi 5,0 mg/L. Masing-masing larutan tersebut dipipet 5,0 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan dengan pereaksi Nash hingga batas. Campuran dihomogenkan kemudian dipanaskan ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit, didinginkan pada temperatur kamar selama 30 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum.

3.4.5.6. Uji perolehan kembali pada sampel ikan

Larutan formaldehida dengan konsentrasi akhir 3,0; 5,0 dan 8,0 mg/L dibuat sebagai berikut, sejumlah formalin 37% ditambahkan pada 10 g ikan yang tidak mengandung formalin kemudian dihomogenkan. Kurang lebih 5 g campuran tersebut dipanaskan selama 1 jam di penangas air ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) kemudian didinginkan dan disaring ke dalam labu ukur 100,0 mL. Volume dicukupkan sampai batas menggunakan air bilasan residu, dihomogenkan, kemudian disentrifus. Supernatan dipipet 2,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 mL dan dicukupkan volumenya dengan aquadest hingga batas. Larutan di atas dipipet 5,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL, ditambahkan dengan pereaksi Nash hingga batas. Campuran dihomogenkan kemudian dipanaskan ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit, didinginkan pada temperatur kamar selama 30 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Untuk larutan blanko digunakan 5,0 mL aquadest lalu ditambahkan dengan pereaksi Nash hingga batas dalam labu ukur 10,0 mL.

3.4.5.7. Uji perolehan kembali pada sampel udang

Larutan formaldehida dengan konsentrasi akhir 3,0; 5,0 dan 8,0 mg/L dibuat sebagai berikut, sejumlah formalin 37% ditambahkan pada 10 g udang yang tidak mengandung formalin kemudian dihomogenkan. Kurang lebih 5 g campuran tersebut dipanaskan selama 1 jam di penangas air ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) kemudian didinginkan dan disaring ke dalam labu ukur 100,0 mL. Volume dicukupkan sampai batas menggunakan air bilasan residu, dihomogenkan, kemudian disentrifus. Supernatan dipipet 2,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 mL dan dicukupkan volumenya dengan aquadest hingga batas. Larutan di atas dipipet 5,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL, ditambahkan dengan pereaksi Nash hingga batas. Campuran dihomogenkan kemudian dipanaskan ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit, didinginkan pada temperatur kamar selama 30 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum. Untuk larutan blanko digunakan 5,0 mL aquadest lalu ditambahkan dengan pereaksi Nash hingga batas dalam labu ukur 10,0 mL.

3.4.6. Penyiapan sampel untuk analisis formalin dalam sampel ikan segar

Sampel ikan yang telah diberi kode (I_1 , I_2 , I_3 , I_4 , I_5 , dan I_6) dibuang kepala, ekor, dan isi perutnya. Pembilasan dengan air dilakukan secukupnya untuk menghilangkan darah yang menempel ketika isi perut dibuang. Sampel kemudian di-*fillet* kemudian *fillet* tersebut dipotong-potong sampai berukuran ± 1 cm x 0,5 cm x 0,5 cm. Potongan sampel ditimbang sebanyak ± 5 g, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer bertutup dan ditambahkan 50 mL aquadest. Panaskan selama 1 jam pada suhu $40\pm 2^\circ\text{C}$ sambil dikocok selama 1 menit setiap 5 menit. Biarkan dingin lalu saring ke dalam labu ukur 100,0 mL. Volume dicukupkan hingga batas menggunakan air bilasan residu. Prosedur di atas dilakukan sebanyak tiga kali untuk masing-masing sampel, totalnya akan didapat 18 filtrat. Masing-masing filtrat disentrifus untuk selanjutnya dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif.

3.4.6.1. Analisis kualitatif dengan menggunakan pereaksi Schryver

Masing-masing filtrat yang diperoleh dari sampel I_1 , I_2 , I_3 , I_4 , I_5 , dan I_6 diambil sebanyak 5 tetes, diteteskan ke plat tetes, ditambahkan pereaksi Schryver lalu diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil yang positif formalin ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah.

3.4.6.2. Analisis kuantitatif dengan menggunakan pereaksi Nash

Masing-masing filtrat yang diperoleh dari sampel I_1 , I_2 , I_3 , I_4 , I_5 , dan I_6 dipipet sebanyak 5,0 mL ke dalam labu ukur 10,0 mL. Volumennya dicukupkan dengan menggunakan pereaksi Nash sampai tanda batas, dipanaskan selama 30 menit pada suhu $40\pm 2^\circ\text{C}$ lalu dibiarkan dingin pada suhu kamar selama 30 menit. Diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Dicatat serapan yang didapat dan kadar formalin dalam ikan dihitung.

3.4.7. Penyiapan sampel untuk analisis formalin dalam sampel udang segar

Sampel udang utuh (tidak ada bagian tubuh yang dibuang) yang telah diberi kode (U_1 , U_2 , U_3 , U_4 , U_5 , dan U_6) diletakkan memanjang ke samping kemudian dipotong setiap jarak $\pm 0,5$ cm (untuk udang berukuran besar/sedang) dan $\pm 0,3$ cm (untuk udang berukuran kecil). Potongan sampel ditimbang

sebanyak ± 5 g, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer bertutup dan ditambahkan 50 mL aquadest. Panaskan selama 1 jam pada suhu $40\pm 2^\circ\text{C}$ sambil dikocok selama 1 menit setiap 5 menit. Biarkan dingin lalu saring ke dalam labu ukur 100,0 mL. Volume dicukupkan hingga batas menggunakan air bilasan residu. Prosedur di atas dilakukan sebanyak tiga kali untuk masing-masing sampel, totalnya akan didapat 18 filtrat. Masing-masing filtrat disentrifus untuk selanjutnya diuji secara kualitatif dan kuantitatif.

3.4.7.1. Kualitatif dengan menggunakan pereaksi Schryver

Masing-masing filtrat yang diperoleh dari sampel U_1 , U_2 , U_3 , U_4 , U_5 , dan U_6 diambil sebanyak 5 tetes, diteteskan ke plat tetes, ditambahkan pereaksi Schryver lalu diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil yang positif formalin ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah.

3.4.7.2. Kuantitatif dengan menggunakan pereaksi Nash

Masing-masing filtrat yang diperoleh dari sampel U_1 , U_2 , U_3 , U_4 , U_5 , dan U_6 dipipet sebanyak 5,0 mL ke dalam labu ukur 10,0 mL. Volumennya dicukupkan dengan menggunakan pereaksi Nash sampai tanda batas, dipanaskan selama 30 menit pada suhu $40\pm 2^\circ\text{C}$ lalu dibiarkan dingin pada suhu kamar selama 30 menit. Diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Dicatat serapan yang didapat dan kadar formalin dalam udang dihitung.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyalahgunaan formalin sebagai pengawet bahan pangan dilarang oleh pemerintah Indonesia namun ada pihak-pihak tertentu yang melanggarnya demi kepentingan pribadi. Oleh karena itu, perlu dilakukan analisis rutin terhadap bahan-bahan pangan yang rentan diberi formalin untuk menjaga kualitas bahan pangan yang beredar di masyarakat.

Maraknya pemberitaan formalin sebagai pengawet bahan pangan membuat formalin memperoleh perhatian besar. Analisis kualitatif maupun kuantitatif formalin dalam bahan pangan telah banyak dilakukan. Analisis kualitatif dapat menggunakan pereaksi asam kromatropat, pereaksi Nash, dan pereaksi Schryver. Dari ketiga pereaksi tersebut, pereaksi Schryver merupakan pereaksi warna yang paling baik untuk analisis formalin karena kemudahan pengamatan dan pelaksanaannya serta memiliki batas deteksi terendah yang dapat dibedakan dengan jelas dengan penglihatan normal berdasarkan intensitas warna yang terbentuk (Suryadi, Hayun, & Harsono, 2008). Sedangkan analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan kromatografi gas-spektrofotometri massa (Bianchi, Careri, Musci, & Mangia, 2007) dan kromatografi cair kinerja tinggi (Liu, Peng, Chi, & Jiang, 2005). Metode KG-MS yang dilakukan oleh Bianchi, Careri, Musci, & Mangia tahun 2007 memiliki batas deteksi hingga 17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sampel ikan. Sedangkan metode KCKT yang dilakukan oleh Liu, Peng, Chi, & Jiang pada tahun 2005 memiliki batas deteksi 8,92 $\mu\text{g}/\text{L}$ dalam larutan standar dan 0,18 mg/kg dalam sampel cumi. Meskipun memiliki sensitivitas yang sangat baik, analisis secara KG-MS dan KCKT memerlukan instrumentasi yang relatif mahal dan rumit. Selain itu, dibutuhkan proses derivatisasi menggunakan zat penderivat yang mahal sehingga tidak cocok untuk analisis rutin. Oleh karena itu, diperlukan metode analisis kuantitatif yang lebih sederhana, cepat, ekonomis namun sensitif. Pada penelitian ini metode kuantitatif yang digunakan adalah spektrofotometri UV-Vis menggunakan pereaksi Nash.

4.1. Penetapan kadar larutan baku formalin

Sebelum digunakan, larutan baku formalin 37% ditetapkan dahulu kadarnya secara titrasi asam basa. Penetapan kadar ini bertujuan untuk mengetahui kadar larutan baku formalin yang sebenarnya. Penetapan kadar dilakukan secara titrasi asam basa tidak langsung karena reaksi berjalan lambat pada suhu kamar sehingga dibutuhkan pemanasan. Prinsip reaksi ini yaitu oksidasi formaldehida menjadi asam format oleh hidrogen peroksida dalam suasana alkali berlebih. Selanjutnya, asam format akan bereaksi dengan natrium hidroksida berlebih menghasilkan natrium format. Kelebihan natrium hidroksida dititrasi dengan asam klorida. Dari titrasi tersebut diperoleh kadar formaldehida sebesar $\pm 34,46\%$ (Tabel 4.1). Hasil ini memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia edisi III (34,0% - 38,0%).

4.2. Pembuatan larutan induk dan larutan standar formalin

Kadar larutan formalin baku yang diperoleh dari tahap sebelumnya digunakan untuk perhitungan pembuatan larutan induk dan larutan standar. Konsentrasi larutan induk dan larutan standar formalin yang didapat sebesar 1043,86 mg/L dan 104,386 mg/L. Larutan standar ini digunakan untuk membuat konsentrasi yang diinginkan pada tahap-tahap berikutnya. Data perhitungan pembuatan larutan induk dan larutan standar formalin dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.3. Validasi metode analisis formalin dengan pereaksi Nash secara spektrofotometri UV-Vis

4.3.1. Penentuan panjang gelombang maksimum

Sebelum melakukan validasi metode, terlebih dahulu ditentukan panjang gelombang maksimum untuk analisis formalin secara spektrofotometri menggunakan pereaksi Nash. Panjang gelombang maksimum perlu dicari karena akan digunakan untuk penetapan kadar. Penetapan kadar dilakukan pada panjang gelombang maksimum karena pada panjang gelombang maksimum diperoleh serapan maksimum, dimana perubahan serapan karena konsentrasi juga

maksimum sehingga menghasilkan kepekaan dan keakuratan yang lebih tinggi. Kedua, pada pita panjang gelombang maksimum daya serap relatif konstan sehingga diperoleh kurva kalibrasi yang linier. Ketiga, pada panjang gelombang maksimum bentuk serapan pada umumnya landai sehingga kesalahan penempatan/pembacaan panjang gelombang dapat diabaikan (Harmita, 2006).

Spektrum serapan untuk memperoleh panjang gelombang maksimum dibuat dari larutan formaldehida dengan konsentrasi 5,2 mg/L yang dicampurkan dengan pereaksi Nash. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 409,5 nm (Gambar 4.1). Berdasarkan literatur, panjang gelombang maksimum pereaksi Nash adalah 412 nm (Nash, 1953). Namun, pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum 409,5 nm. Peristiwa turunnya panjang gelombang dari yang seharusnya disebut hipsokromik. Hipsokromik dapat disebabkan oleh perubahan pelarut dan pH larutan (Harmita, 2006).

4.3.2. Penentuan kestabilan serapan warna kompleks hasil reaksi formalin dengan pereaksi Nash

Tahap ini dilakukan untuk mendapatkan waktu analisis optimum dimana pada waktu tersebut serapan cukup stabil dan perbedaan serapan karena perbedaan waktu analisis tidak signifikan. Serapan warna kompleks hasil reaksi antara formalin dengan pereaksi Nash cukup stabil pada menit ke-5 sampai menit ke-10 setelah tahap mereaksikan selesai. Data dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan kurva kestabilan serapan dapat dilihat pada Gambar 4.2.

4.3.3. Pembuatan kurva kalibrasi

Kurva kalibrasi dibuat dengan menghubungkan serapan yang dihasilkan oleh sedikitnya lima konsentrasi analit berbeda. Pada penelitian ini, pembuatan kurva kalibrasi formalin dilakukan dengan menghubungkan enam titik pada berbagai konsentrasi formalin yaitu 0,52193; 2,08772; 4,17544; 6,26316; 8,35088 dan 10,4386 mg/L. Persamaan kurva kalibrasi merupakan hubungan antara sumbu x dan y. Deretan konsentrasi yang dibuat dinyatakan sebagai nilai sumbu x sedangkan serapan yang diperoleh dari hasil pengukuran dinyatakan sebagai nilai sumbu y. Persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi yang diperoleh adalah

$y = 0,13717x + 0,04860$ dengan koefisien korelasi $r = 0,99998$. Harga koefisien korelasi (r) yang mendekati nilai 1 menyatakan hubungan yang linier antara konsentrasi dengan serapan yang dihasilkan. Data selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4.3 dan Tabel 4.3.

4.3.3. Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ)

Batas deteksi (*limit of detection/LOD*) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon yang signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi (*limit of quantitation/LOQ*) merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Batas deteksi dan batas kuantitasi dapat dihitung secara statistik menggunakan persamaan garis regresi linier dari kurva kalibrasi yang telah diperoleh.

Berdasarkan perhitungan secara statistik menggunakan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi, diperoleh batas deteksi formalin sebesar 0,0102 mg/L dan batas kuantitasi formalin sebesar 0,0341 mg/L. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.4.

4.3.4. Uji keterulangan pembentukan warna kompleks hasil reaksi antara formalin dengan pereaksi Nash

Uji presisi dilakukan dengan cara mengukur keterulangan pembentukan warna kompleks hasil reaksi antara formalin dengan pereaksi Nash. Kriteria seksama atau presisi diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif (koefisien variasi atau KV) sebesar 2% atau kurang. Nilai koefisien variasi yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu 0,09%. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa metode analisis yang digunakan memenuhi kriteria seksama. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.5.

4.3.5. Uji perolehan kembali pada sampel ikan

Uji perolehan kembali (UPK) merupakan cara untuk menentukan kecermatan hasil analisis suatu metode. Uji perolehan kembali dapat dilakukan

dengan dua cara, yaitu metode absolut dan metode adisi. Pada penelitian ini dilakukan uji perolehan kembali dengan metode adisi, dimana sejumlah analit ditambahkan dengan konsentrasi tertentu pada sampel yang diperiksa lalu dianalisis. Persen perolehan kembali ditentukan dengan menentukan berapa persen analit yang ditambahkan tadi dapat ditemukan.

Penambahan formalin ke dalam sampel ikan dilakukan pada rentang 50%, 100%, dan 150%. Pada rentang 50% diperoleh persentase rata-rata perolehan kembali sebesar 102,29%; pada rentang 100% diperoleh persentase rata-rata perolehan kembali sebesar 99,41%; pada rentang 150% diperoleh persentase rata-rata perolehan kembali sebesar 96,46%. Dengan demikian, hasil uji perolehan kembali formalin pada sampel ikan memenuhi kriteria, dimana nilai persen perolehan kembali yang baik berada dalam rentang 80-120%. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.6.

4.3.6. Uji perolehan kembali pada sampel udang

Seperti halnya pada sampel ikan, uji perolehan kembali pada sampel udang dilakukan dengan metode adisi. Penambahan formalin ke dalam sampel udang juga dilakukan pada rentang 50%, 100%, dan 150%. Pada rentang 50% diperoleh persentase rata-rata perolehan kembali sebesar 90,44%; pada rentang 100% diperoleh persentase rata-rata perolehan kembali sebesar 84,40%; pada rentang 150% diperoleh persentase rata-rata perolehan kembali sebesar 93,97%. Dengan demikian, hasil uji perolehan kembali formalin pada sampel udang memenuhi kriteria, dimana nilai persen perolehan kembali yang baik berada dalam rentang 80-120%. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.7.

4.4. Penyiapan sampel untuk analisis formalin dalam sampel ikan segar

Sebelum dianalisis, ikan segar terlebih dahulu dipotong kecil kemudian dihomogenkan. Selanjutnya, dilakukan penyarian untuk mendapatkan formaldehida dalam sampel. Penyarian dilakukan dengan menggunakan aquadest berdasarkan sifat formaldehida yang sangat mudah larut dalam air. Potongan sampel ikan yang telah ditimbang kemudian dimasukkan dalam Erlenmeyer tertutup dan ditambahkan aquadest sebanyak ± 50 mL. Selanjutnya, Erlenmeyer

dipanaskan di atas penangas air bersuhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama satu jam sambil dikocok-kocok selama satu menit setiap lima menit. Pemanasan dilakukan untuk mempercepat kelarutan formaldehida. Setelah satu jam, isi Erlenmeyer tadi disaring menggunakan kertas saring ke dalam labu ukur 100,0 mL. Volume labu ukur dicukupkan menggunakan filtrat dan air bilasan residu kemudian dihomogenkan. Larutan dalam labu ukur tersebut digunakan untuk analisis.

4.5. Analisis sampel ikan segar secara kualitatif

Pemeriksaan kualitatif sampel I_1 , I_2 , I_3 , I_4 , I_5 , dan I_6 dilakukan dengan menggunakan pereaksi Schryver. Ketika pereaksi Schryver diteteskan ke plat tetes yang telah berisi filtrat masing-masing sampel, tidak terjadi perubahan warna pada seluruh sampel (Gambar 4.4). Hal ini menunjukkan bahwa dalam seluruh sampel tidak terkandung formalin. Untuk lebih memastikan hasil tersebut, dilakukan analisis kuantitatif secara spektrofotometri menggunakan pereaksi Nash.

4.6. Analisis sampel ikan segar secara kuantitatif

Pemeriksaan sampel I_1 , I_2 , I_3 , I_4 , I_5 , dan I_6 dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis menggunakan pereaksi Nash pada panjang gelombang 409,5 nm. Spektrum yang dihasilkan keenam sampel (Gambar 4.5) sama dengan larutan blanko (Gambar 4.8). Hal ini menunjukkan bahwa keenam sampel ikan segar yang diperoleh dari Pasar Muara Angke tidak mengandung formalin.

4.7. Penyiapan sampel untuk analisis formalin dalam sampel udang segar

Seperti halnya pada penetapan kadar formalin dalam ikan, sebelum dianalisis udang dipotong-potong kecil kemudian dihomogenkan dan ditimbang. Selanjutnya, udang yang telah ditimbang disari menggunakan aquadest dalam Erlenmeyer bertutup berdasarkan sifat formaldehida yang sangat mudah larut dalam air. Erlenmeyer berisi sampel dipanaskan di atas penangas air bersuhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama satu jam sambil dikocok-kocok selama satu menit setiap lima menit. Setelah satu jam, isi Erlenmeyer tadi disaring menggunakan kertas saring ke dalam labu ukur 100,0 mL. Volume labu ukur dicukupkan menggunakan filtrat

dan air bilasan residu kemudian dihomogenkan. Larutan dalam labu ukur itulah yang digunakan untuk analisis.

4.8. Analisis sampel udang segar secara kualitatif

Pemeriksaan sampel U_1 , U_2 , U_3 , U_4 , U_5 , dan U_6 dengan pereaksi Schryver menunjukkan warna larutan yang sama dengan blanko pada seluruh sampel (Gambar 4.6). Hal ini menunjukkan bahwa keenam sampel udang segar yang diperoleh dari Pasar Muara Angke tidak mengandung formalin.

4.9. Analisis sampel udang segar secara kuantitatif

Pemeriksaan kuantitatif sampel U_1 , U_2 , U_3 , U_4 , U_5 , dan U_6 dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis menggunakan pereaksi Nash pada panjang gelombang 409,5 nm. Spektrum yang dihasilkan dari keenam sampel (Gambar 4.7) sama dengan larutan blanko (Gambar 4.8). Hal ini memperkuat hasil dari analisis kualitatif bahwa keenam sampel udang segar yang diperoleh dari Pasar Muara Angke tidak mengandung formalin.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suryadi, Mansur, & Christine, pereaksi Schryver dengan formula yang digunakan dalam penelitian ini (Tabel 3.1) sensitif untuk formalin dan memiliki batas deteksi terendah 0,2 mg/L. Dalam penelitian tersebut juga dilakukan pengujian stabilitas dan dilaporkan bahwa dengan formula tersebut pereaksi Schryver dapat bertahan sampai tiga minggu. Selain itu, formula tersebut hanya tersusun atas dua komponen sehingga praktis untuk dijadikan pereaksi kit.

Menurut Schryver (1910), reaksi terjadi karena terbentuk hasil kondensasi antara formaldehida dan fenilhidrazin, yang pada reaksi oksidasi menghasilkan basa lemah. Basa lemah tersebut dengan adanya asam kuat berlebih akan menghasilkan garam yang langsung mengalami disosiasi hidrolitik pada pengenceran dan menghasilkan kompleks yang berwarna merah (Gambar 4.9).

Dalam penelitian mengenai metode pemilihan analisis formalin berdasarkan reaksi warna dan spektrofotometri UV-Vis yang dilakukan oleh Suryadi, Hayun, & Harsono dilaporkan bahwa pereaksi Nash merupakan pereaksi

warna yang paling baik untuk digunakan dalam analisis formalin secara kuantitatif dibandingkan dengan pereaksi asam kromotropat dan pereaksi Schryver. Dari uji stabilitas pereaksi Nash dalam penelitian tersebut dilaporkan bahwa pereaksi Nash yang disimpan dalam pada suhu dingin ($2-8^{\circ}\text{C}$), suhu $28-30^{\circ}\text{C}$, suhu $40-50^{\circ}\text{C}$, dan pada suhu dingin dengan penambahan dapar fosfat pH 6,0 dapat stabil selama tiga hari. Apabila lebih dari tiga hari, kemampuan deteksi pereaksi Nash terhadap formalin menurun baik secara visual maupun secara spektrofotometri.

Metode ini pertama kali diperkenalkan sebagai metode kolorimetri untuk formaldehida oleh Nash (1953) yang menggunakan asetil aseton (2,4-pentanadion), asam asetat glasial dan amonium asetat sebagai pereaksi untuk membentuk derivat 3,5-diasetil-1,4-dihidrolutidin (DDL) yang berwarna kuning. Pembentukan kompleks DDL terjadi berdasarkan reaksi Hantzsch dimana terjadi siklisasi antara β -diketon, amonium asetat, dan formaldehida yang menghasilkan derivat 3,5-diasetil-1,4-dihidrolutidin (DDL) (Vairavamurthy, Roberts, & Newman, 1991). Dua molekul asetil aseton berikatan dengan metilen formaldehida di bagian atas dan nitrogen amonia pada bagian bawah (Gambar 4.9).

Hasil analisis menunjukkan bahwa sampel ikan dan udang segar yang diperoleh dari Pasar Muara Angke tidak mengandung formalin. Hasil ini dapat disebabkan oleh sampel yang diambil adalah yang baru tiba di pasar setelah diturunkan dari kapal nelayan. Namun, dapat pula dikarenakan tingkat pencemaran formalin pada ikan dan udang sangat rendah sehingga tidak terdeteksi dengan metode dan cara penyarian yang digunakan. Cara penyarian yang digunakan dalam penelitian ini didasarkan pada kelarutan formalin dalam air.

Dengan demikian, dalam perkembangan selanjutnya dibutuhkan metode dan cara penyarian yang lebih baik untuk mengantisipasi rendahnya tingkat kontaminasi formalin dalam sampel. Selain itu, perlu pengawasan yang ketat terhadap sampel-sampel bahan pangan yang rentan diberi formalin dengan cara melakukan analisis terhadap sampel bahan pangan secara rutin dan inspeksi mendadak di pasar-pasar.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Hasil validasi dari metode untuk analisis formalin menggunakan pereaksi Nash secara spektrofotometri menunjukkan bahwa kriteria validasi yaitu kurva kalibrasi, linearitas, uji presisi, dan uji akurasi memenuhi syarat yang ditetapkan.
2. Identifikasi formalin dalam enam sampel ikan dan enam sampel udang segar yang diperoleh dari Pasar Muara Angke menunjukkan hasil yang negatif.
3. Analisis kuantitatif sampel ikan dan udang segar yang diperoleh dari Pasar Muara Angke menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya formalin dalam seluruh sampel.

5.2. Saran

1. Mencari cara penyarian dan metode analisis yang lebih baik sehingga dapat mendeteksi formalin hingga kadar yang sangat kecil dalam sampel.
2. Melakukan analisis formalin dan inspeksi mendadak secara rutin ke pasar-pasar terutama untuk bahan-bahan makanan yang rentan ditambahkan formalin.

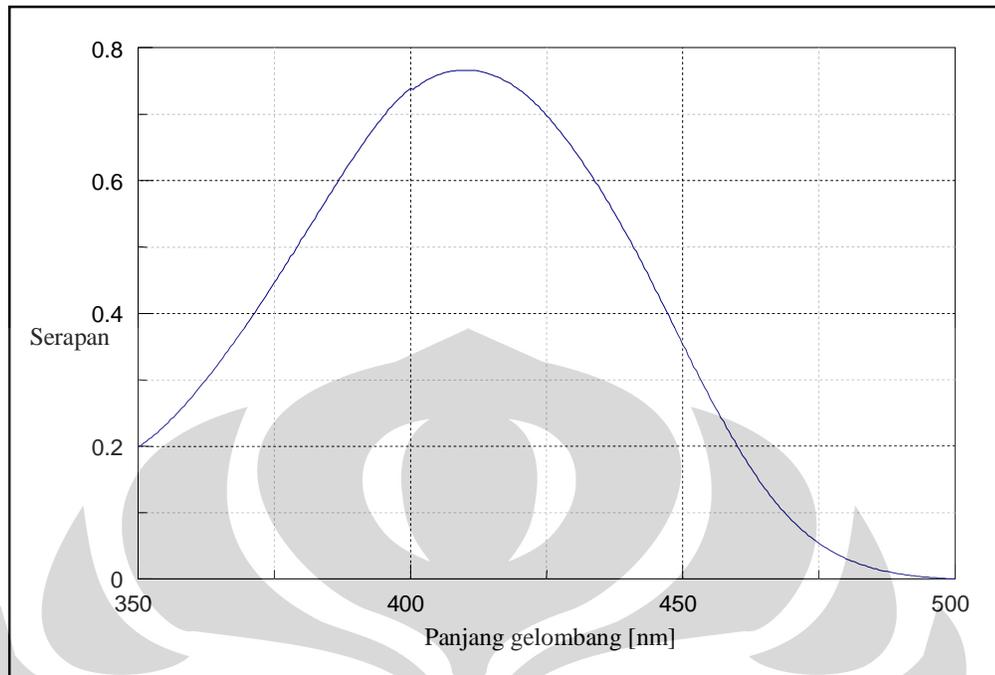
DAFTAR ACUAN

- Adawyah, Rabiatul. (2007). *Pengolahan dan pengawetan ikan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Altshuller, A.P., Miller, D.L., & Sleva, S.F. (1961). Determination of formaldehyde in gas mixture by the chromotropic acid method. *Anal. Chem.*, 33(4), 621-625.
- Bianchi, F., et al. (2007). Fish and food safety: determination of formaldehyde in 12 fish species by SPME extraction and GC-MS analysis. *Food Chem.*, 100, 1049-1053.
- Bosetti, C., et al. (2008). Formaldehyde and cancer risk: A quantitative review of cohort studies through 2006. *Ann. Oncol.*, 19, 29-43.
- Suryadi, H., Mansur, U., & Christine, N. (2008, Agustus). *Optimasi pereaksi Schryver untuk identifikasi formalin dalam sampel permen*. Makalah dipresentasikan pada Kongres Ilmiah XVI Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia, Yogyakarta.
- Cosmetic Ingredient Review Expert Panel. (1984). Final report on the safety assessment of formaldehyde. *J. Am. Coll. Toxicol.*, 3, 157-184.
- Duhayon, S., et al. (2008). Carcinogenic potential of formaldehyde in occupational settings: A critical assessment and possible impact on occupational exposure levels. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 81, 695-710.
- Farmakope Indonesia III. (1979). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Gerberich, H.R. & Seaman, G.C. (2004). Formaldehyde. In J.I. Kroschwitz & M. Howe-Grant (Ed.). *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* (5th Ed., Vol. 11, pp. 929-951). New York: John Wiley & Sons.
- Harmita. (2004). *Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara penggunaannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian 1 (3), 117-135.
- Harmita. (2006). *Buku ajar analisis fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.

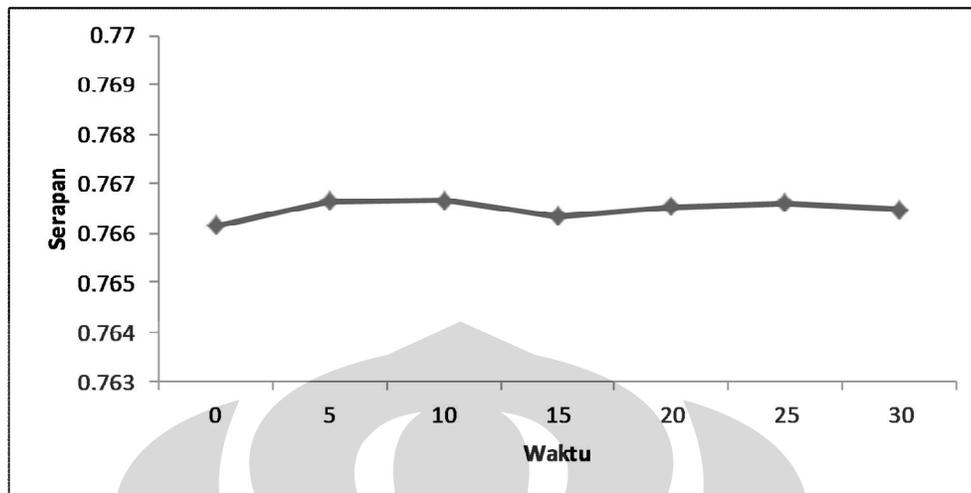
- Harmita. (2006). *Analisis kuantitatif bahan baku dan sediaan farmasi*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Suryadi, H., Hayun, & Harsono, F.D. (2008, Agustus). *Pemilihan metode analisis formalin berdasarkan reaksi warna dan spektrofotometri UV-Tampak*. Makalah dipresentasikan pada Kongres Ilmiah XVI Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia, Yogyakarta.
- IARC. (1995). *IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Wood dust and formaldehyde*. Vol. 62. Lyon: WHO.
- IARC. (2006). *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol*. Vol. 88. Lyon: WHO.
- Kwik Kian Gie. (2005). *Kebijakan dan strategi pembangunan nasional: Sektor pertanian sebagai 'prime mover' pembangunan ekonomi nasional. Dalam bundling pemikiran dan permasalahan ekonomi di Indonesia dalam setengah abad terakhir, Buku 5 (1997-2005) Krisis dan Pemulihan Ekonomi*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Li, J., Zhu, J., & Ye, L. (2007). Determination of formaldehyde in squid by high-performance liquid chromatography. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 16 (Suppl 1), 127-130.
- Nash, T. (1953). Colorimetric estimation of formaldehyde by means of Hantzsch reaction. *Biochem. J.*, 55 (3), 417-418.
- Naya, M. & Nakahashi, J. (2005). Risk assessment of formaldehyde for the general population in Japan. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 43, 232-248.
- Noisel, N., Bouchard, M., & Carrier, G. (2007). Evaluation of the health impact of lowering the formaldehyde occupational exposure limit for Quebec workers. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 48, 118-127.
- Norliana, S., et al. (2009). The health risk of formaldehyde to human beings. *Am. J. Pharm. & Toxicol.*, 4 (3): 98-106.
- Patnaik, Praydot. (1992). *A comprehensive guide to the hazardous properties of chemical substances*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Reuss, G., al. (2003). Formaldehyde. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (6th rev. Ed., Vol. 15, pp. 1-34). Weinheim: Wiley.

- Samadi. (2006). *Geografi 2*. Jakarta: Yudhistira.
- Saparinto, C., & Hidayati, D. (2006). *Bahan tambahan pangan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. (1991). *Dasar-dasar spektroskopi*. (Ed. ke-2). Yogyakarta: Liberty.
- Schryver, S.B. (1910). The photochemical formation of formaldehyde in green plants. *Proc. Roy. Soc. London, Series B* 82 (554), 227.
- Speit, S. & Schmid, O. (2006). Local genotoxic effects of formaldehyde in humans measured by the micronucleus test with exfoliated epithelial cells. *Mutat. Res.*, 613, 1-9.
- The Merck Index. (2001). *The Merck Index* (13th ed.). New Jersey: Author.
- Vairavamurthy, A., Roberts, J.M., & Newman, L. (1991). Methods for determination of low molecular weight carbonyl compounds in the atmosphere: A review. *Atmos. Environ.*, Vol. 26A (11), 1965-1988.
- Wang, S., Cui, X., & Fang, G. (2007). Rapid determination of formaldehyde and sulfur dioxide in food products and chinese herbals. *Food Chem.*, 103, 1487-1493.
- WHO. (1989). *Environmental Health Criteria 89: Formaldehyde*. Geneva: International Programme on Chemical Safety.
- WHO. (2002). *Concise international chemical assessment document 40: Formaldehyde*. Geneva: World Health Organization.
- Widowati, W., & Sumyati. (2006). Pengaturan tata niaga formalin untuk melindungi produsen makanan dari ancaman gulung tikar dan melindungi konsumen dari bahaya formalin. *Pemberitaan Ilmiah Percikan*, 63, 33-40.
- Young, E.G., & Conway, C.F. (1941). On the estimation of allantoin by the Rimini-Schryver reaction. *J. Biol. Chem.*, 55, 849.
- Zhang, L., et al. (2008). Formaldehyde exposure and leukimia: A new meta-analysis and potential mechanisms. *Mutat. Res.*, 681, 150-168.

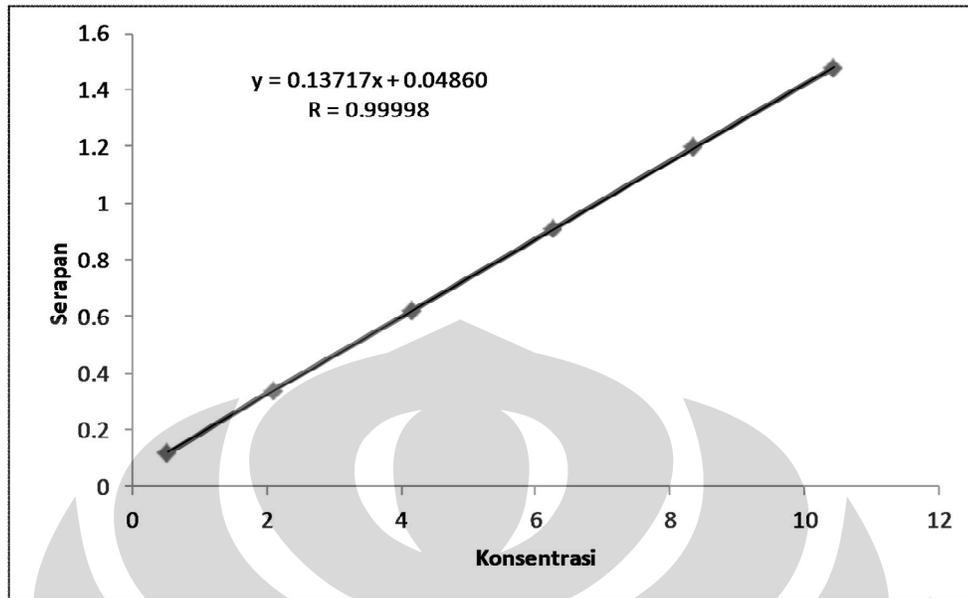




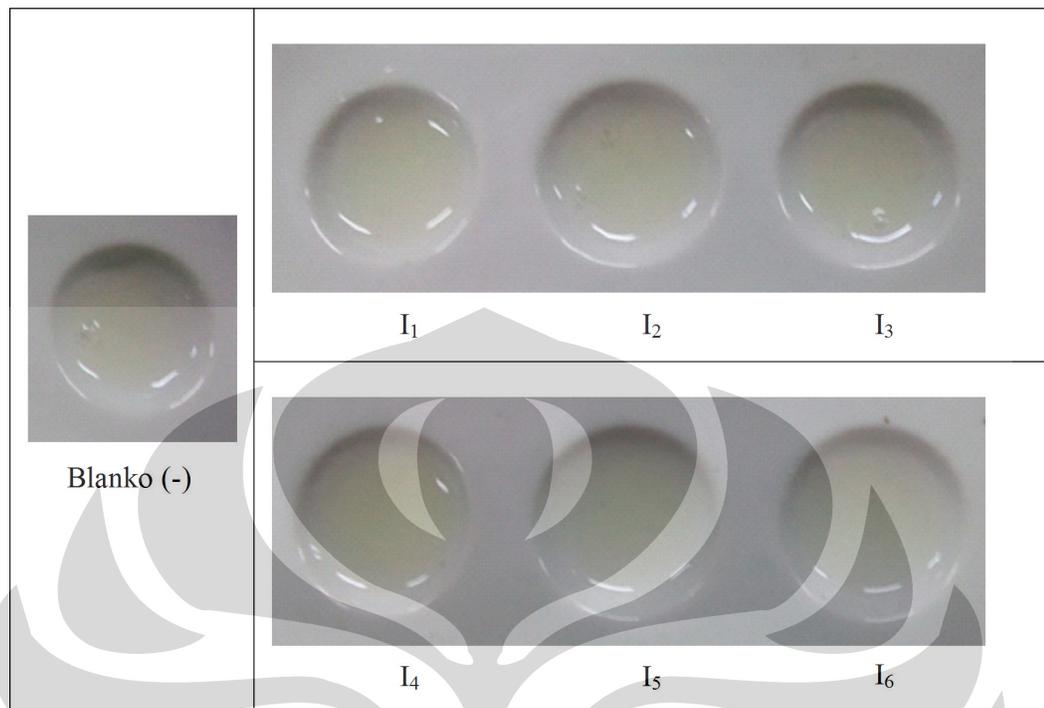
Gambar 4.1. Spektrum serapan hasil reaksi antara formalin konsentrasi 5,2 mg/L dengan pereaksi Nash



Gambar 4.2. Kurva kestabilan serapan warna kompleks hasil reaksi formalin konsentrasi 5,2 mg/L dengan pereaksi Nash

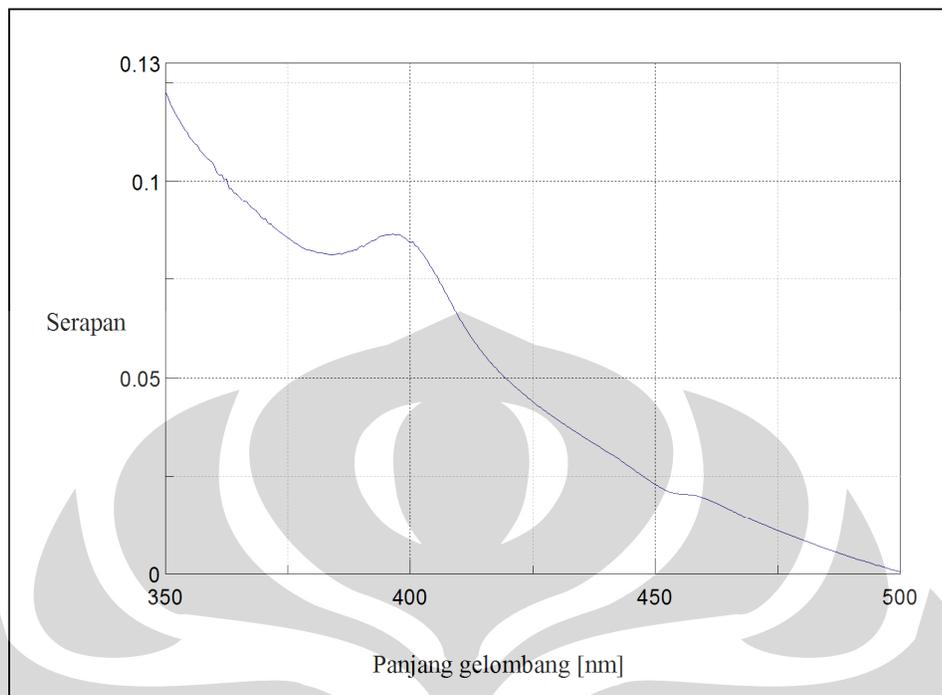


Gambar 4.3. Kurva kalibrasi senyawa kompleks hasil reaksi antara formalin dengan pereaksi Nash pada panjang gelombang 409,5 nm. Dengan persamaan garis $y = 0,13717x + 0,04860$ dan $r = 0,99998$.

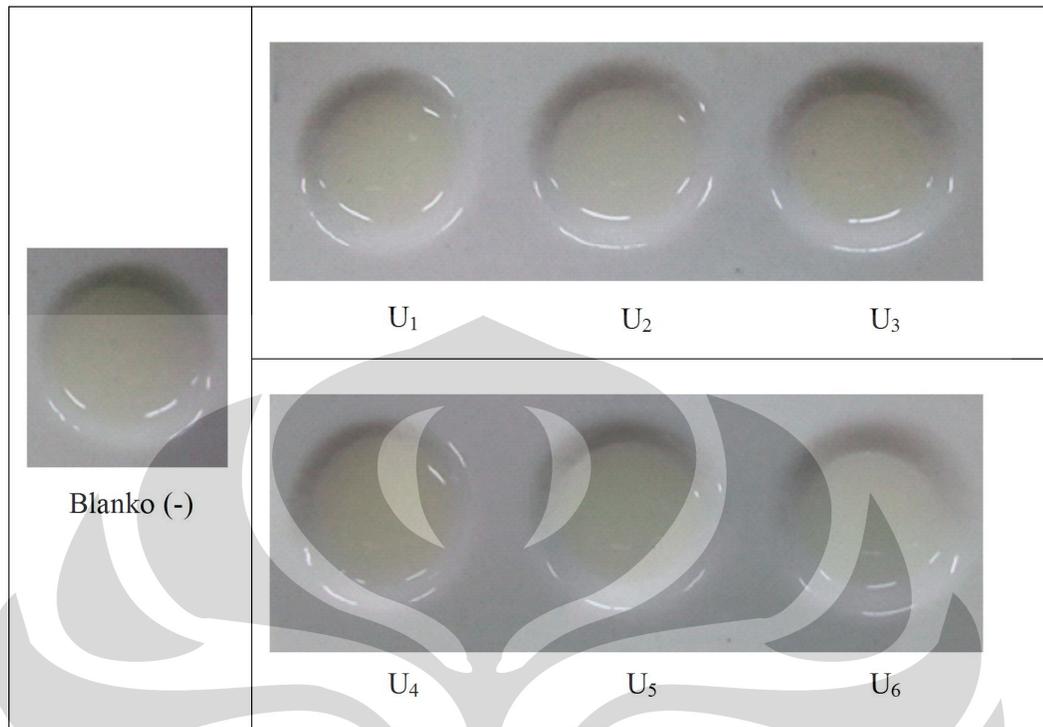


Keterangan : I₁ = ikan bawal yang berukuran sedang; I₂ = ikan ekor kuning yang berukuran sedang; I₃ = ikan kacang-kacang yang berukuran kecil; I₄ = ikan kakap yang berukuran besar; I₅ = ikan tenggiri yang berukuran besar; I₆ = ikan kembung yang berukuran sedang.

Gambar 4.4. Pengujian 5 g sampel ikan segar dari Pasar Muara Angke secara kualitatif menggunakan pereaksi Schryver

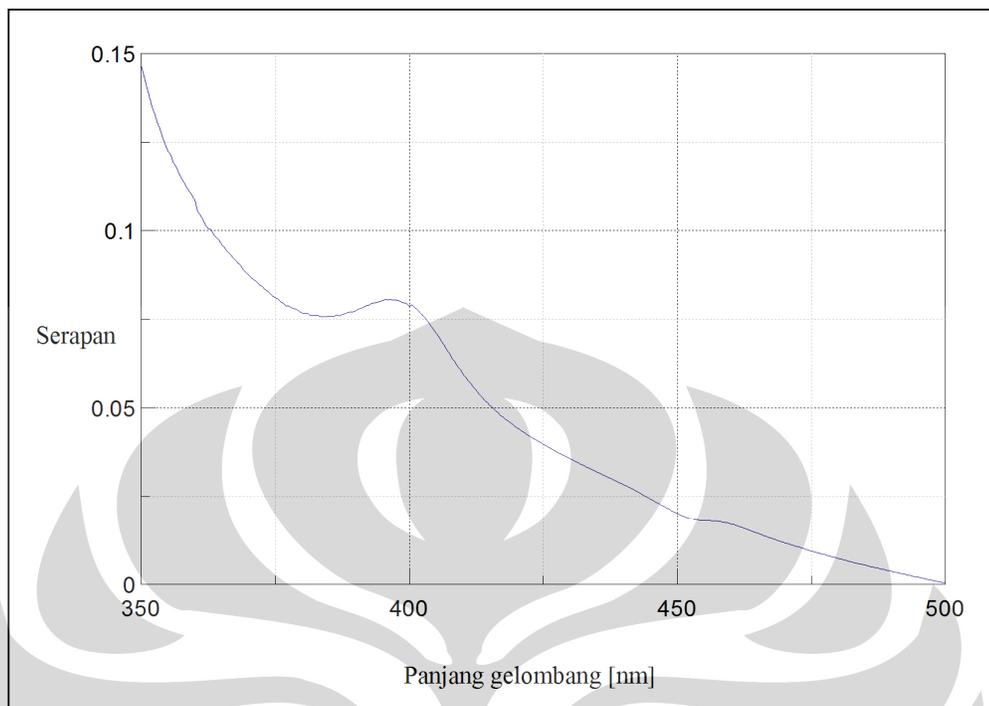


Gambar 4.5. Spektrum serapan sampel ikan segar yang tidak mengandung formalin dengan pereaksi Nash

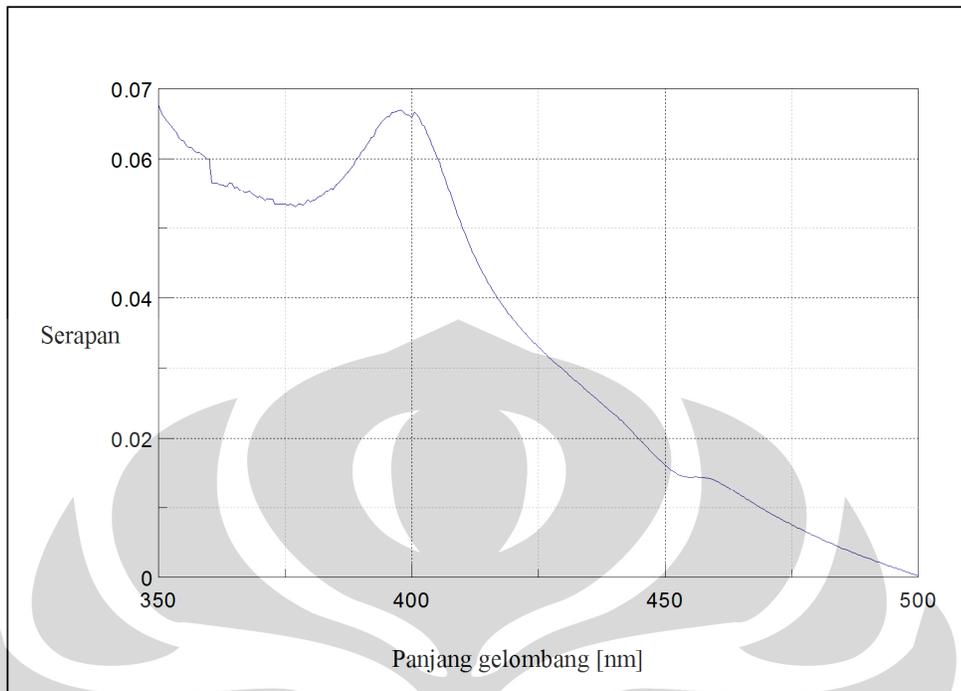


Keterangan : U₁ = udang jerbung yang berukuran besar ;U₂ = udang jerbung berukuran kecil;
 U₃ = udang pancet yang berukuran kecil; U₄ = udang pancet yang berukuran
 sedang; U₅ = udang pancet yang berukuran kecil; U₆ = udang fame yang berukuran
 besar.

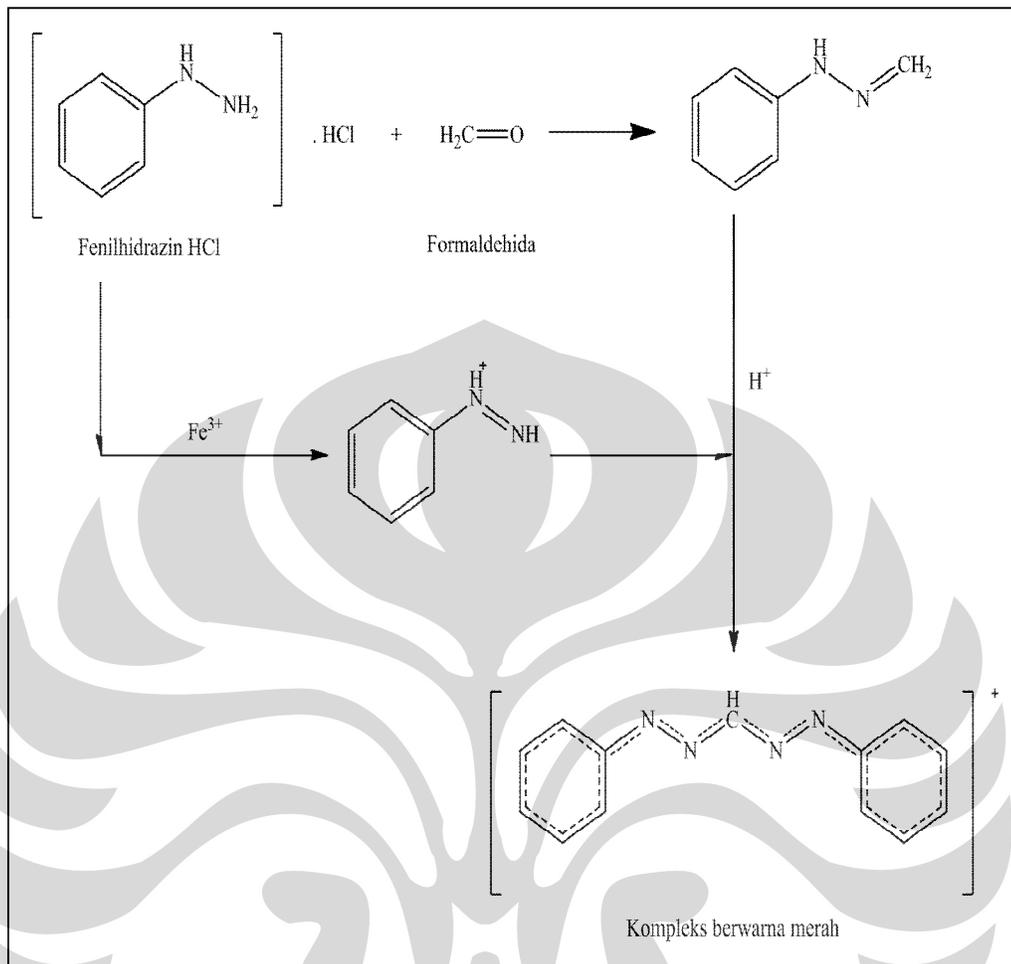
**Gambar 4.6. Pengujian 5 g sampel udang segar dari Pasar Muara Angke secara
 kualitatif menggunakan percaksi Schryver**



Gambar 4.7. Spektrum serapan sampel udang segar yang tidak mengandung formalin dengan pereaksi Nash

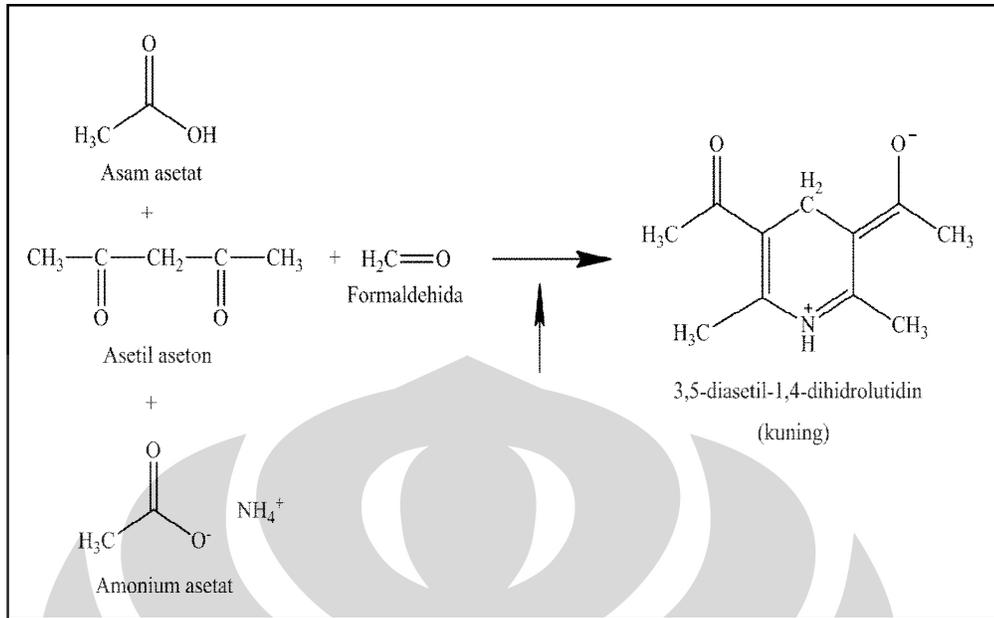


Gambar 4.8. Spektrum serapan blanko (aquadest + pereaksi Nash)



[Sumber: Suryadi, Mansur, & Harsono, 2008]

Gambar 4.9. Reaksi antara formaldehida dengan pereaksi Schryver (telah diolah kembali)



[Sumber: Nash, 1953]

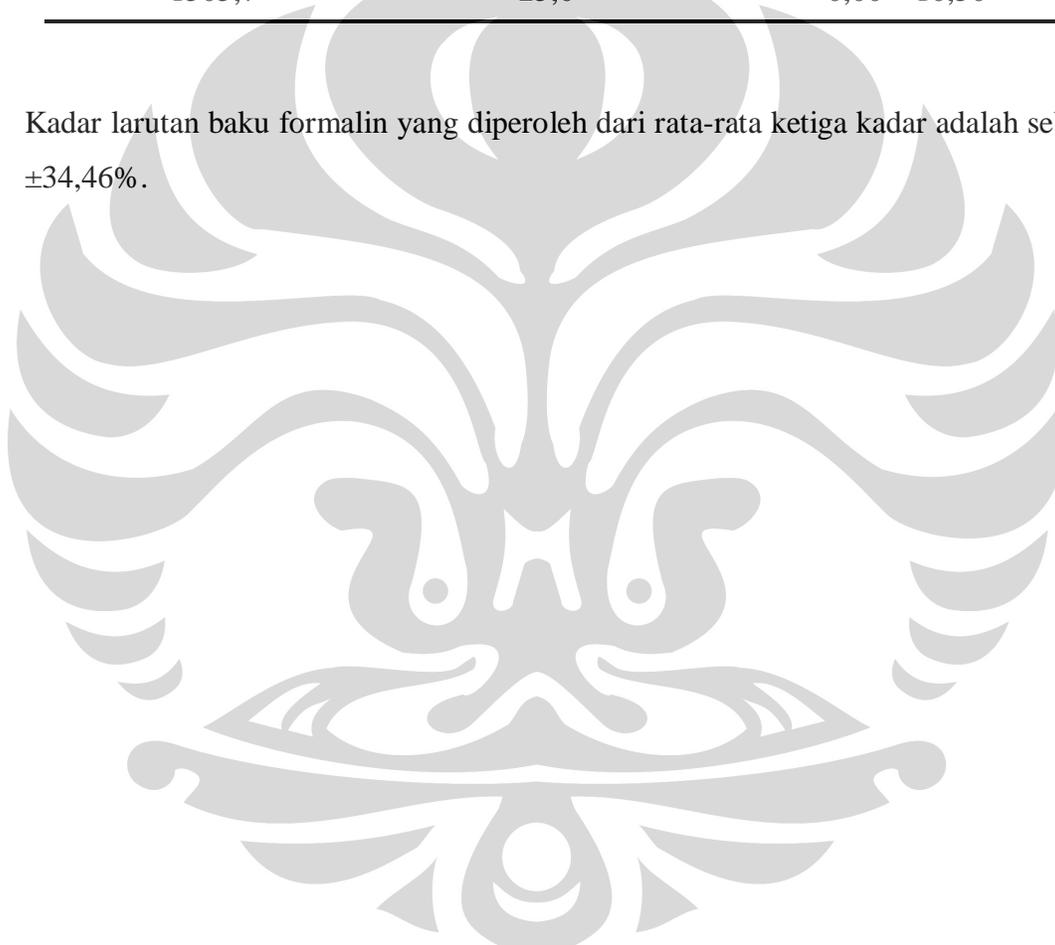
Gambar 4.10. Reaksi antara formaldehida dengan pereaksi Nash (telah diolah kembali)



Tabel 4.1. Data penetapan kadar larutan baku formalin secara titrasi asam basa

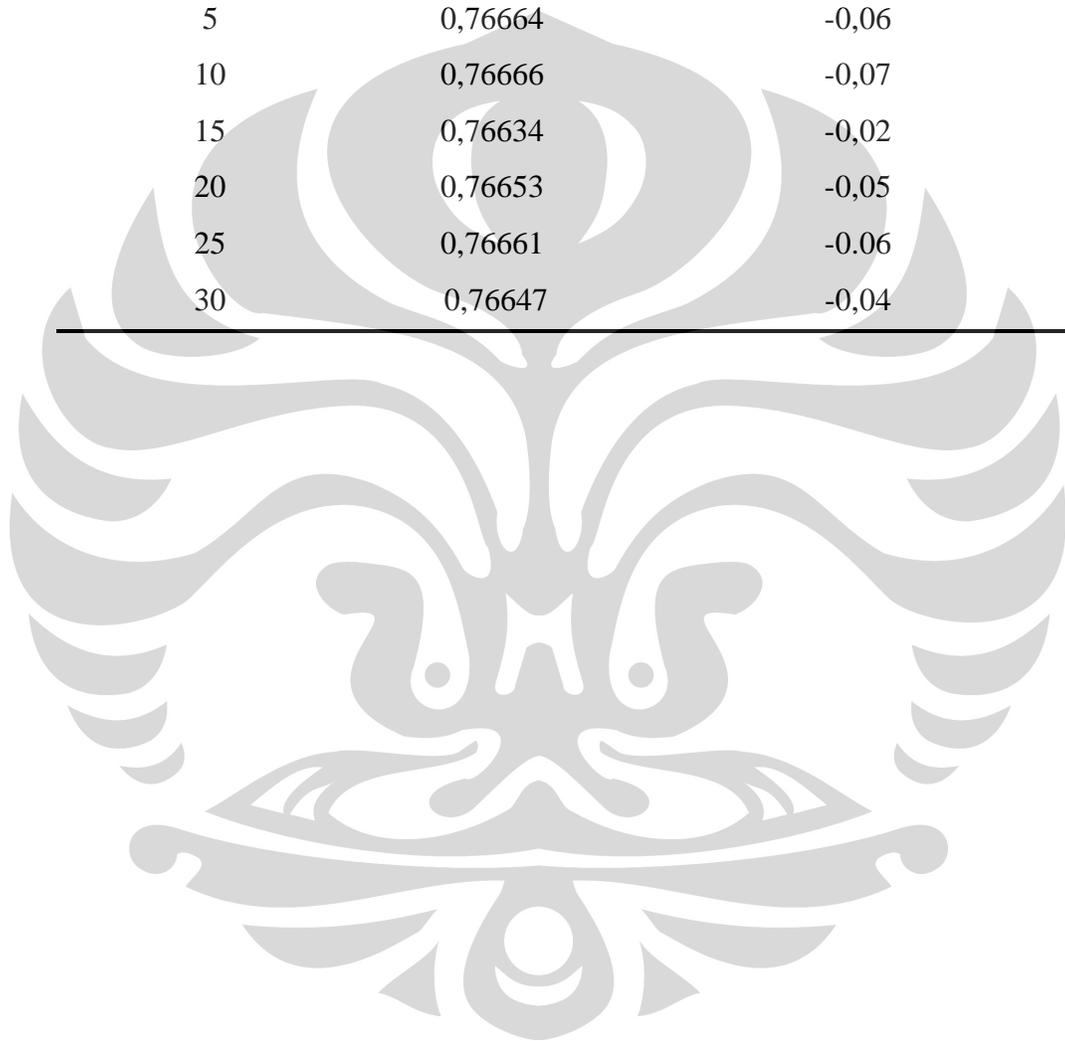
Berat formalin (mg)	Volume NaOH 0,9308 N (mL)	Volume HCl 0,6815 N (mL)
1518,3	25,0	0,00 – 10,85
1552,3	25,0	0,00 – 10,40
1505,7	25,0	0,00 – 10,50

Kadar larutan baku formalin yang diperoleh dari rata-rata ketiga kadar adalah sebesar $\pm 34,46\%$.



Tabel 4.2. Data hubungan waktu terhadap kestabilan warna senyawa kompleks hasil reaksi antara formalin konsentrasi 5,2 mg/L dengan pereaksi Nash

Waktu (menit)	Serapan	Penurunan serapan (%)
0	0,76615	0
5	0,76664	-0,06
10	0,76666	-0,07
15	0,76634	-0,02
20	0,76653	-0,05
25	0,76661	-0,06
30	0,76647	-0,04



Tabel 4.3. Data kurva kalibrasi formalin dengan pereaksi Nash

Konsentrasi formalin (mg/L)	Serapan
0,52193	0,11623
2,08772	0,33860
4,17544	0,62105
6,26316	0,90911
8,35088	1,19646
10,4386	1,47731

$$a = 0,04860$$

$$b = 0,13717$$

$$r = 0,99998$$

Persamaan regresi linier :

$$y = 0,13717x + 0,04860$$

Tabel 4.4. Data batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) pereaksi Nash

Konsentrasi (mg/L)	Serapan	$Y_i = a + bx$	$(Y - Y_i)^2$	X^2
0.52193	0.11623	0.120193138	0.0000157065	0.2724109249
2.08772	0.3386	0.334972552	0.0000131584	4.3585747984
4.17544	0.62105	0.621345105	0.0000000871	17.4342991936
6.26316	0.90911	0.907717657	0.0000019386	39.2271731856
8.35088	1.19646	1.19409021	0.0000056159	69.7371967744
10.4386	1.47731	1.480462762	0.0000099399	108.9643699600
N = 6			$\Sigma = 0.0000464464$	$\Sigma = 239.9940248369$

Persamaan regresi linier : $y = 0,13717x + 0,04860$

$$r = 0,99998$$

$$S(y/x) = 0,003407579786$$

$$b = 0,13717$$

$$\text{Batas deteksi (LOD)} = 0,010222739 \text{ mg/L}$$

$$\text{Batas kuantitasi (LOQ)} = 0,03407579786 \text{ mg/L}$$

Tabel 4.5. Data uji keterulangan pembentukan warna senyawa kompleks hasil reaksi antara formalin konsentrasi 5,2 mg/L dengan pereaksi Nash

No.	Konsentrasi formalin (mg/L)	Serapan
1	5,2193	0,77419
2	5,2193	0,77519
3	5,2193	0,77755
4	5,2193	0,77588
5	5,2193	0,77575
6	5,2193	0,77580

Serapan rata-rata = 0,77573

Standar deviasi = 0,00073

Koefisien variasi = 0,09%

Tabel 4.6. Data uji perolehan kembali formalin dengan konsentrasi 3,0; 5,0; dan 8,0 mg/L yang ditambahkan pada sampel ikan

Simulasi	Ulangan	Serapan (A) $\lambda = 409,5 \text{ nm}$	Kadar (mg/L)		Perolehan Kembali (%)	Rata- rata %UPK
			Sebenarnya	Diperoleh		
I	1	0,51023	3,53	3,36	95,18	102,29
	2	0,55473	3,61	3,69	102,22	
	3	0,57279	3,49	3,82	109,46	
II	1	0,78293	5,87	5,35	91,14	99,41
	2	0,84259	5,80	5,79	99,83	
	3	0,90039	5,78	6,20	107,27	
III	1	1,14911	8,91	8,02	90,01	96,46
	2	1,14608	8,91	8,00	89,79	
	3	1,38219	8,87	9,72	109,58	

Tabel 4.7. Data uji perolehan kembali formalin dengan konsentrasi 3,0; 5,0; dan 8,0 mg/L yang ditambahkan pada sampel udang

Simulasi	Ulangan	Serapan (A) $\lambda = 409,5 \text{ nm}$	Kadar (mg/L)		Perolehan Kembali (%)	Rata- rata %UPK
			Sebenarnya	Diperoleh		
I	1	0,52513	3,55	3,47	97,75	90,44
	2	0,46571	3,52	3,04	86,36	
	3	0,47000	3,52	3,07	87,22	
II	1	0,70915	5,87	4,82	82,11	84,40
	2	0,71157	5,87	5,54	82,28	
	3	0,68146	5,19	4,61	88,82	
III	1	1,26192	9,37	8,80	93,92	93,97
	2	1,21564	9,43	8,51	90,24	
	3	1,30795	9,39	9,18	97,76	



Lampiran 1

Data pembakuan NaOH dengan KHP secara titrasi asam basa

Berat KHP (mg)	Volume NaOH (mL)
600,4	0,00 – 3,16
601,0	0,00 – 3,16
600,5	0,00 – 3,16

Normalitas larutan NaOH yang diperoleh dari rata-rata ketiga pembakuan adalah sebesar 0,9308 N.

Rumus perhitungan normalitas NaOH :

$$\text{Normalitas NaOH} = \frac{\text{Berat KHP}}{\text{BE KHP} \times \text{Volume NaOH}}$$

Contoh perhitungan normalitas NaOH :

$$\text{Mek NaOH} = \text{Mek KHP}$$

$$V \times N = \frac{\text{mg}}{\text{BE}}$$

$$3,16 \times N = \frac{600,4}{204,2}$$

$$N = 0,9305$$

Lampiran 2

Data pembakuan HCl dengan $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ secara titrasi asam basa

Berat $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (mg)	Volume HCl (mL)
601,9	0,00 – 4,64
601,1	0,00 – 4,62
600,7	0,00 – 4,62

Normalitas larutan HCl yang diperoleh dari rata-rata ketiga pembakuan adalah sebesar 0,6815 N.

Rumus perhitungan normalitas HCl :

$$\text{Normalitas HCl} = \frac{\text{Berat } \text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}}{\text{BE } \text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O} \times \text{Volume HCl}}$$

Contoh perhitungan normalitas HCl :

$$\text{Mek HCl} = \text{Mek Dinatrium tetraborat}$$

$$V \times N = \frac{\text{mg}}{\text{BE}}$$

$$4,64 \times N = \frac{601,9}{\frac{381,37}{2}}$$

$$N = 0,6803$$

Lampiran 3

Perhitungan pembuatan larutan induk dan larutan standar formalin

4.3.1. Konsentrasi larutan induk formalin

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{berat penimbangan} \times \text{kadar sebenarnya} \times 1000}{100 \times \text{volume pembuatan}} \\ &= \frac{747,3 \times 34,46 \times 1000}{100 \times 250,0} \\ &= 1043,86 \text{ ppm} \end{aligned}$$

4.3.2. Konsentrasi larutan standar formalin

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{volume pipet} \times \text{konsentrasi larutan induk}}{\text{volume pembuatan}} \\ &= \frac{10,0 \times 1043,86}{100,0} \\ &= 104,386 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Lampiran 4

Sertifikat analisis larutan baku formalin 37%

22-SEP-2006 15:45 FROM PT.PRAGLAS RAYA TO 9-7863433 P.01
 repaag : transistus , ex. 04.
 Max : 7063433
 Dari : Pragas Raya.



Certificate of Analysis

<http://certificates.merck.de>

Date of print: 22.09.2006

1.04003.1000 Formaldehyde solution min. 37% GR for analysis
 stabilized with about 10% methanol ACS, Reag. Ph Eur
 Batch K35855803

	Specification Values		Batch Values	
Assay (acidimetric after oxidation)	37.0 - 38.0	%	37.8	%
Identity	passes test		passes test	
Colour	max 10	Hazen	≤ 10	Hazen
Free acid (as HCOOH)	max 0.025	%	≤ 0.025	%
Density (d 20 °C/ 4 °C)	1.080 - 1.090	g/ml	1.088	g/ml
Chloride (Cl)	max 0.0001	%	≤ 0.0001	%
Sulphate (SO ₄)	max 0.002	%	≤ 0.002	%
Heavy metals (as Pb)	max 0.0002	%	≤ 0.0002	%
Fe (Iron)	max 0.0001	%	≤ 0.0001	%
Methanol (GC)	9.0 - 11.0	%	10.4	%
Sulfated ash	max 0.002	%	≤ 0.002	%

Test date (DD.MM.YYYY): 09.03.2006
 Expiry date (DD.MM.YYYY): 31.03.2008

Dr. Joachim Ruf

 responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature

Merck KGaA 64271 Darmstadt Tel. (06151)72-0 Page 1 of 1
 SA-7 Anfor 12827972 1375635 - 10400300/0000000 V. 960

Lampiran 5

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.722/MENKES/PER/IX/88

LAMPIRAN II

Peraturan Menteri Kesehatan
Nomor : 1168/Menkes/Per/X/1999
tentang Perubahan Atas Peraturan
Menteri Kesehatan No.
722/Menkes/Per/IX/1988 tentang
Bahan Tambahan Makanan

BAHAN TAMBAHAN YANG DILARANG PENGGUNAANNYA DALAM MAKANAN:

1. Asam Borat (Boric Acid) dan senyawanya
2. Asam Salisilat dan garamnya (Salicylic Acid and its salt)
3. Dietilpirokarbonat (Diethylpirocarbonate DEPC)
4. Dulsin (Dulcin)
5. Kalium Klorat (Potassium Chlorate)
6. Kloramfenikol (Chloramphenicol)
7. Minyak Nabati yang dibrominasi (Brominated vegetable oils)
8. Nitrofurazon (Nitrofurazone)
9. Formalin (Formaldehyde)
10. Kalium Bromat (Potassium Bromate)

Menteri Kesehatan

Prof. Dr. F.A. Moeloek