

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian kali ini telah dilakukan dengan membuat alat uji carik untuk mengidentifikasi keberadaan formalin dalam produk makanan. Maraknya penyalahgunaan formalin yang sengaja ditambahkan ke dalam makanan sebagai pengawet dapat memberikan efek yang membahayakan bagi tubuh jika makanan tersebut dikonsumsi.

5.1. Uji Pendahuluan Polimer PSDVB

5.1.1. Uji daya absorpsi PSDVB

Polimer direndam dengan Pereaksi *Schryver* berdasarkan metode impregnasi yang memiliki konsep dasar yaitu dengan penggabungan suatu pereaksi ke dalam polimer berpori sebagai pengembannya (Kabay, 1998:220) dimana polimer berpori di sini yang digunakan adalah polimer PSDVB, kemudian dihitung persentase daya serapnya. Penggunaan PSDVB karena dapat digunakan sebagai polimer bahan pendukung pada metode *Solvent Impregnation Resin* dimana memiliki ukuran pori yang besar (*macroporous*), sehingga Pereaksi *Schryver* dalam jumlah tertentu dapat terabsorpsi ke dalam polimer PSDVB (Warapsari, 2008:4). Data yang diperoleh secara duplo karena untuk lebih memastikan jumlah Pereaksi *Schryver* yang terabsorpsi, dimana didapatkan yang pertama 69,141% dan yang kedua 65,340%

dengan rata-rata 67,241%. Hal ini menunjukkan bahwa polimer PSDVB memiliki daya serap yang cukup baik dimana memiliki daya serap diatas 50% sehingga dapat menyimpan suatu reagen di dalam polimer tersebut.

5.1.2. Uji stabilitas PSDVB

Hasil yang diperoleh dari uji stabilitas yaitu polimer PSDVB yang disimpan dalam wadah tertutup rapat terhadap udara dan cahaya warnanya tetap bening dibandingkan dengan polimer PSDVB yang disimpan dalam tempat terbuka warna polimer berubah menjadi putih tidak bening lagi. Hal ini membuktikan kekurangan dari polimer PSDVB yang bersifat higroskopis. Tujuan penutupan dan pelapisan menggunakan plastik wrap dan alumunium foil ini agar zat kimia yang akan digunakan sebagai komposisi suatu reagen tidak terurai oleh cahaya serta udara khususnya fenilhidrazin hidroklorida dan kalium ferrisianida. Selain itu polimer PSDVB memiliki stabilitas yang tinggi pada berbagai pH, tahan terhadap suhu tinggi (J.Y.He. *et al.*, 2008:3994).

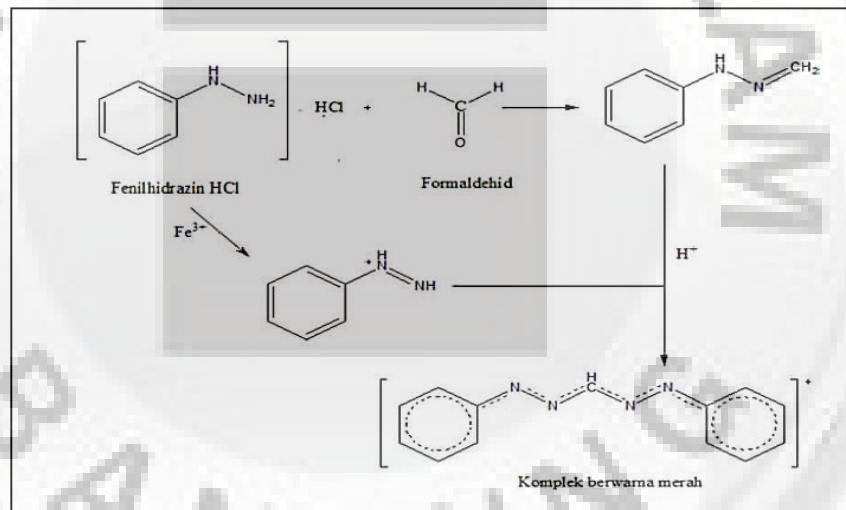
5.2. Polimer Uji Formalin

Pembuatan alat uji carik kali ini menggunakan polimer uji yaitu polistiren divinilbenzen (PSDVB) yang diimpregnasi dengan Pereaksi *Schryver* sebagai reagen untuk mengidentifikasi formalin. PSDVB yang diimpregnasi atau direndam dapat menyerap Pereaksi *Schryver* yang kemudian ditempelkan ke kertas *gloosy* dengan menggunakan *double tape* agar memudahkan penggunaan saat mendeteksi keberadaan formalin. Pembuatan Pereaksi *Schryver* ini terdiri dari fenilhidrazin

hidroklorida 7,5% : asam hidroklorida 4,5 N : kalium ferrisianida 7,5% dengan perbandingan (0,5 : 2 : 1). Perbandingan yang digunakan tersebut merupakan hasil optimasi yang paling baik dari berbagai macam formula yang dicoba karena dapat memberikan perubahan warna yang lebih jelas jika direaksikan dengan formaldehid. Pereaksi *Schryver* sebanyak 10 mL yang telah dibuat berwarna bening digunakan untuk mengimpregnasi polimer PSDVB didalam desikator yang dilapisi dengan alumunium foil, hal ini dikarenakan komposisi bahan Pereaksi *Schryver* yang kurang stabil jika terpapar udara dan cahaya sehingga dibutuhkan tempat yang tertutup saat proses impregnasi.

Polimer PSDVB yang telah diimpregnasi ini tetap berwarna bening untuk selanjutnya dihilangkan pelarutnya, karena pelarut yang digunakan untuk melarutkan bahan fenilhidrazin hidroklorida dan kalium ferrisianida menggunakan etanol maka tidak perlu waktu lama untuk menguapkan karena sifat etanol yang mudah menguap, sehingga didapat polimer yang mengandung reagen atau pereaksi saja. Polimer ini yang akan digunakan untuk mendeteksi keberadaan formaldehid dalam suatu produk makanan, tetapi untuk memudahkan penggunaan maka polimer PSDVB yang mengandung Pereaksi *Schryver* ini ditempelkan ke kertas *gloosy* yang sudah diberikan *double tape* dan terbentuk alat uji carik. Pengujian pada alat uji carik yang sudah jadi dilakukan dengan mencelupkan ke dalam larutan formaldehid, apabila terjadi perubahan warna menjadi merah maka Pereaksi *Schryver* dapat terimpregnasi ke dalam polimer dengan baik. Hal ini dapat dilihat pada **Gambar L.3.1**.

Timbulnya perubahan warna merah pada carik setelah direaksikan dengan larutan formaldehid dimana larutan formaldehid bereaksi dengan Pereaksi *Schryver* yang berada didalam polimer PSDVB. Terjadi reaksi kondensasi pada formaldehid dan fenilhidrazin, dimana dengan adanya oksidator maka akan menghasilkan basa lemah. Adanya asam kuat dapat mudah mengalami disosiasi hidrolitik pada pengenceran. Penggantian ferri klorida menjadi kalium ferrisianida sebagai agen pengoksidasi tidak akan merusak warna, dan dengan menambahkan konsentrasi asam hidroklorida sebagai pengganti asam sulfat dapat memberikan warna pada garamnya



Gambar 5. 1. Mekanisme Pereaksi *Schryver*

5.3. Pengujian Uji Carik

Untuk mengetahui apakah alat uji carik yang telah dibuat dapat memberikan hasil yang optimal maka dilakukan beberapa pengujian terhadap carik yang terdiri dari pengujian pada kontrol positif untuk mengetahui apakah alat uji carik yang

dibuat dapat memberikan hasil positif dimana terjadi perubahan warna jika diuji dengan larutan formaldehid. Pengujian pada kontrol negatif dilakukan untuk mengetahui alat uji carik yang dibuat tidak berubah warna dan bereaksi jika diuji pada sampel yang tidak mengandung formaldehid. Pengujian terhadap larutan uji formaldehid dilakukan pada konsentrasi rendah yang berbeda-beda, dengan tujuan untuk mengetahui batas deteksi terendah pada carik yang dapat mendeteksi larutan formaldehid. Pengujian selanjutnya yaitu pengujian langsung carik terhadap sampel, serta pengujian konfirmasi menggunakan instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk mengetahui kebenaran alat uji carik dapat menguji pada konsentrasi tertentu.

5.3.1. Kontrol positif dan kontrol positif

Hasil yang didapat menunjukkan hasil positif dimana terjadi perubahan warna pada carik dari bening menjadi warna *orange* ketika dicelupkan ke dalam larutan formaldehid 37%, waktu perubahan yang terjadi pada carik untuk mendapatkan warna yang optimal yaitu 10 menit. Sedangkan pada kontrol negatif tidak terjadi perubahan warna pada alat uji carik. Hal ini dapat dilihat pada **Gambar L.3.2.**

5.3.2. Pengujian sampel

Sampel simulasi yang digunakan yaitu tofu yang tidak mengandung formalin karena tertera kode registrasi BPOM, selain itu tofu diuji terlebih dahulu menggunakan Pereaksi *Schryver* dan hasil menunjukkan tidak adanya perubahan warna menjadi merah pada tofu. Tofu kemudian direndam dengan larutan formaldehid 37% selama 30 menit dan setelah direndam tofu diangkat dan dipreparasi

dengan cara dihancurkan dan ditambah aquades sambil diaduk untuk menarik formaldehidnya. Kemudian campuran larutan tersebut disaring, dan dilakukan pengujian dengan mencelupkan carik ke dalam larutan sampel tersebut. Hasil yang didapat yaitu terjadi perubahan warna pada carik menjadi orange kemerahan yang cukup jelas. Hal ini dapat dilihat pada **Gambar L.3.3**.

5.3.3. Larutan uji formaldehid

Larutan uji formaldehid dibuat dengan mengencerkan larutan formaldehid 37% menjadi 0,5; 0,3; 0,25; 0,125 ppm, kemudian masing-masing pengenceran digunakan untuk merendam sampel yaitu tofu selama 30 menit. Untuk menarik larutan uji formaldehid yang terkandung dalam tofu maka dipreparasi terlebih dahulu dengan cara dihancurkan terlebih dahulu dan ditambah aquades kemudian diaduk, setelah itu disaring dan hasil larutan yang telah disaring diuji dengan cara mencelupkan alat uji carik ke dalam masing-masing larutan uji. Hasil yang didapat menunjukkan perubahan warna masih terjadi pada konsentrasi 0,5 ppm menjadi warna *orange* muda dan pada konsentrasi dibawah 0,5 ppm pada larutan uji tidak terjadi perubahan warna pada carik tetap berwarna bening karena konsentrasi larutan uji formaldehid dibawah 0,5 ppm terlalu encer sehingga batas deteksi terendah dari carik uji yaitu 0,5 ppm. Hal ini dapat dilihat pada **Gambar L.3.4**.

Tabel V.1. Hasil pengujian carik dengan larutan formaldehid

Konsentrasi	Hasil	Warna
Kontrol (+)	√	Orange kemerahan
Kontrol (-)	-	Bening
0,5 ppm	√	Orange
0,3 ppm	-	Bening
0,25 ppm	-	Bening
0,125 ppm	-	Bening
Sampel	√	Orange kemerahan

Ket: √ = terjadi perubahan warna

- = tidak terjadi perubahan warna

5.3.4. Uji *Life-time*

Alat uji carik yang sudah jadi dikemas dengan alat pengemas atau vakum serta dilapisi dengan alumunium foil. Setiap harinya alat uji carik diuji dengan larutan formaldehid untuk mengetahui seberapa lama carik masih dapat bereaksi dengan formaldehid. Hasilnya pada hari ke-25 alat uji carik masih dapat menunjukkan perubahan warna yang stabil, hal ini dikarenakan penyimpanan carik pada wadah tertutup dengan menggunakan plastik divakum, dilapisi alumunium foil serta dengan menambahkan *silica gel* sehingga tahan lama dan carik tidak mudah terurai oleh cahaya dan udara. Hasil pengamatan ini dapat dilihat pada **Tabel L.3.1.**

5.4. Pengujian Konfirmasi Menggunakan KCKT

Pengujian konfirmasi bertujuan untuk mengetahui atau membandingkan kebenaran konsentrasi larutan formaldehid yang dapat dideteksi oleh alat uji carik

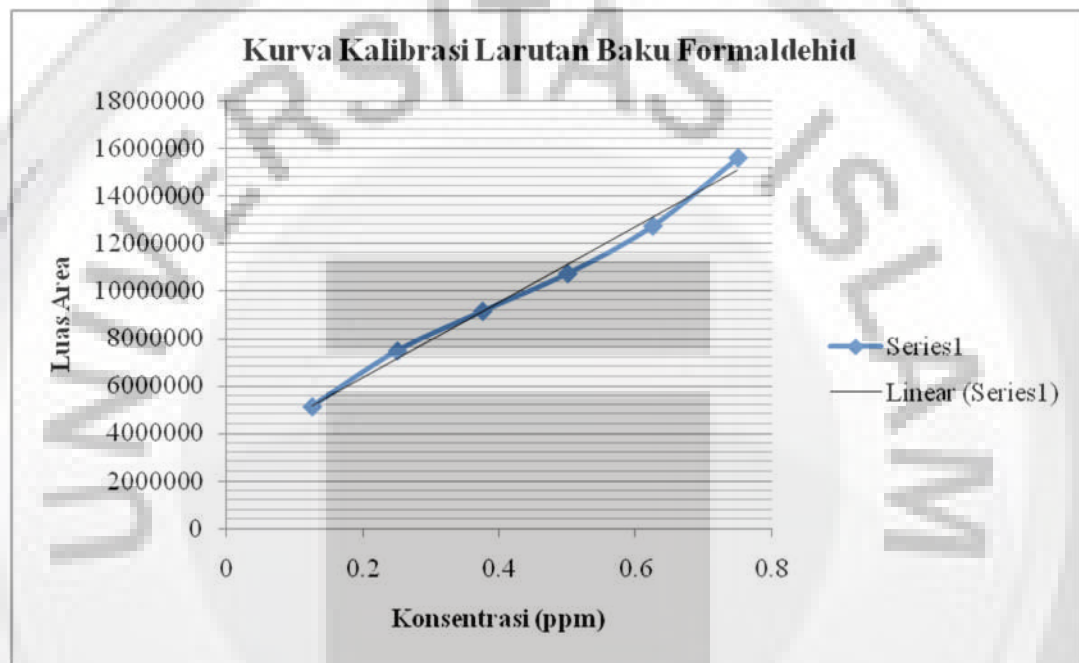
dengan menggunakan instrumen yaitu Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Sistem kromatografi yang digunakan yaitu fase balik dimana fase diamnya bersifat lebih non polar dibandingkan dengan fase geraknya. Fase diam yang digunakan yaitu oktadesil silane (ODS) karena larutan formaldehid bersifat polar maka senyawa formaldehid tidak akan tertahan pada fase diam tetapi ikut mengalir bersama fase gerak yaitu asetonitril-aquabides (60:40) yang bersifat lebih polar dibanding dengan fase diam. Sebelum melakukan penginjekan, larutan standar formaldehid ditambahkan terlebih dahulu larutan 2,4-dinitrofenilhidrazin sebagai kromotag agar dapat terbaca oleh detektor, dimana detektor yang digunakan yaitu detektor UV 360 nm.

5.4.1. Uji Kesesuaian Sistem

Uji Kesesuaian Sistem dilakukan dengan menginjek larutan formaldehid 37% yang telah diencerkan menjadi 10 ppm sebanyak 7 kali ke dalam KCKT dengan tujuan untuk mengetahui sistem kromatografi yang akan digunakan telah sesuai. Hasil yang diperoleh bahwa nilai simpangan baku relatifnya (SBR) telah memenuhi syarat yaitu kurang dari 2%, dimana pada SBR luas area 0,486%, dan pada waktu retensi 0,065%, hal ini menunjukkan bahwa sistem kromatografi telah siap digunakan. Hasil ini dapat dilihat pada **Tabel L.4.1**.

5.4.2. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Hasil dari pembuatan kurva kalibrasi diperoleh persamaan $Y = 15920462.630x + 3159165.267$ dengan nilai $r^2 = 0,9908$ atau $r = 0,995$. Hasil kurva kalibrasi digunakan juga sebagai data validasi parameter linieritas.



Gambar 5.1. Kurva kalibrasi larutan baku formaldehid

5.4.3. Validasi

Parameter-parameter validasi yang dilakukan kali ini yaitu linieritas, akurasi serta presisi. Hal ini bertujuan untuk mengetahui carik deteksi yang dibuat dapat tervalidasi menggunakan KCKT.

a. Linieritas

Pengujian linieritas yang dilakukan menggunakan data yang sama dengan pembuatan data kurva kalibrasi, dimana konsentrasi yang digunakan adalah 0,125; 0,250; 0,375; 0,500; 0,625; 0,750 ppm. Berdasarkan hasil pengujian diperoleh koefisien korelasi 0,995 serta parameter linieritas yang didapat yaitu nilai simpangan baku 401498,194, standar deviasi 0,025, koefisien variansi 5,764%. Menurut Ahuja S (2005), untuk kriteria penerimaan linieritas pada metode kadar rendah seharusnya nilai koefisien variansi yang diperoleh kurang dari 5%, akan tetapi nilai r atau koefisien korelasinya memenuhi kriteria yaitu mendekati 1. Hal ini dapat dilihat pada **Tabel L.4.2.**

b. Akurasi

Pengujian akurasi ini dilakukan dengan cara *Spiked method* dimana analisis kadar analit yang ditambahkan ke dalam matriks sampel (placebo) yang dianalisis, dimana data yang didapat dari pengujian akurasi yaitu nilai perolehan kembali dalam satuan persen. Dari hasil yang didapat persen nilai perolehan kembali masih berada pada rentang yang ditetapkan menurut *Handbook of Pharmaceutival by HPLC* yaitu 80-120%, sehingga dapat dikatakan bahwa metode ini mempunyai tingkat akurasi yang baik. Hal ini dapat dilihat pada **Tabel L.4.3.**

c. Presisi

Pada pengujian presisi dilakukan dengan menggunakan salah satu konsentrasi yang sama untuk pengujian akurasi yaitu dengan menggunakan konsentrasi larutan formaldehid 0,5 ppm yang ditambahkan matriks atau plasebo untuk selanjutnya diinjek ke dalam KCKT sebanyak 6 kali. Parameter-parameter yang didapat dari hasil pengujian presisi adalah simpangan baku (SD), simpangan baku relatif (SBR). Berdasarkan *Handbook of Pharmaceutical by HPLC* nilai SBR yang didapat tidak boleh lebih dari 2%, dimana hasil yang diperoleh dari 6 kali penginjekan yaitu didapat nilai SBR nya 1,871% yang menunjukkan metode ini dapat memberikan hasil analisis yang sama. Hal ini dapat dilihat pada **Tabel L.4.4**.

Berdasarkan uji konfirmasi KCKT terhadap batas konsentrasi terendah, terlihat bahwa metode analisis formaldehid pada kadar terendah memenuhi kriteria validasi, baik parameter linieritas, akurasi dan presisi. Hal ini bermakna kadar terendah yang dapat dideteksi oleh alat uji carik yaitu 0,5 ppm terkonfirmasi oleh instrument KCKT.