

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Definisi Lauk Pauk**

Lauk pauk merupakan suatu hidangan pelengkap nasi yang dapat berasal dari bahan hewan serta produknya, tumbuh-tumbuhan atau kombinasi antara bahan hewan dan tumbuh-tumbuhan yang mana biasanya dimasak dengan suatu bumbu tertentu. Contoh bahan hewani yaitu, daging; ayam; unggas; jeroan; serta ikan. Sedangkan contoh produk hewan antara lain, daging; telur; dan sebagainya. Bahan nabati contohnya kacang tanah dan kacang hijau. Teknik pengolahan makanan biasanya meliputi persiapan, seperti cara memotong daging, ikan dan ayam (Khisa'an, dkk., 2016).

#### **2.2 Tinjauan Umum Tentang Pangan**

Kesehatan tubuh seseorang sangat dipengaruhi oleh pola makan orang itu sendiri. Dari zaman dahulu hingga sekarang pola makan masyarakat sudah banyak mengalami perubahan. Faktor ekonomi, sosial, budaya, agama, dan yang paling utama yaitu faktor lingkungan serta kebiasaan makan merupakan faktor pendukung dari perubahan pola makan. Saat ini, makanan cepat saji maupun olahan sudah banyak dikonsumsi oleh masyarakat, yang mana hal ini dapat berpengaruh terhadap berbagai jenis kandungan zat-zat pada makanan baik yang alami maupun buatan, khususnya pengawet, zat kimia, pemanis serta penyedap yang belum tentu baik untuk kesehatan tubuh jika zat-zat ataupun bahan tersebut kita konsumsi setiap harinya. Namun, pada kenyataannya masih banyak masyarakat yang tidak memperhatikan hal tersebut, pola makan yang tidak sehat masih sering menjadi kebiasaan, yaitu seringnya mengonsumsi makanan yang mengandung zat-zat buatan atau sintetis, yang mana hal tersebut seharusnya sangat dihindari (Sudirman, 2012).

Peraturan Pemerintah nomor 86 tahun 2019 tentang keamanan pangan menyebutkan bahwa, pangan merupakan segala sesuatu yang bersumber dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan,

peternakan, perairan, dan air, baik dari pengolahan maupun yang tidak melalui pengolahan, diperuntukan bagi manusia untuk dikonsumsi sebagai makanan atau minuman, termasuk bahan baku pangan, bahan tambahan pangan dan bahan lain yang mungkin digunakan dalam berbagai proses dari penyiapan, pengolahan, dan pembuatan makanan maupun minuman. Pencegahan pangan dari kemungkinan tercemar oleh cemaran biologi, kimia dan zat lainnya yang dapat mengganggu, merugikan serta membahayakan kesehatan manusia merupakan upaya atau kondisi yang diperlukan dari keamanan pangan.

Undang-undang nomor 18 tahun 2012 tentang pangan, menyatakan bahwa tujuan penyelenggaraan pangan yaitu agar kemampuan memproduksi pangan secara mandiri dapat meningkat, menyediakan pangan yang beraneka ragam jenisnya, serta memenuhi segala persyaratan keamanan, gizi dan mutu bagi konsumsi masyarakat, tingkat kecukupan pangan terjamin, terutama pangan pokok yang mana dari segi harga dalam batas wajar serta terjangkau sesuai dengan kebutuhan masyarakat. Keamanan pangan yang dimaksud disini mencakup bebas dari berbagai cemaran, misalnya cemaran biologis, mikrobiologis, kimia, logam berat, serta yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia.

### **2.2.1 Pangan hewani**

Kandungan asam amino pada pangan hewani sangat lengkap serta memiliki mutu gizi yaitu vitamin, protein, serta mineral lebih lengkap, hal ini dikarenakan komposisi komponen-komponen zat tersebut lebih banyak dan sangat baik diserap oleh tubuh, namun pangan hewani memiliki kolesterol yang tinggi (terkecuali ikan) dan lemak. Daging dan unggas memiliki banyak lemak jenuh, yang mana lemak jenuh dan kolesterol tidak diperlukan oleh tubuh, tetapi harus dibatasi pengkonsumsiannya pada orang lanjut usia (Ramadani, 2017).

### **2.2.2 Pangan nabati**

Pangan protein nabati merupakan jenis pangan yang memiliki kandungan lemak tidak jenuh lebih banyak jika dibandingkan dengan pangan hewani serta mengandung isoflavon yang merupakan

kandungan fitokimia yang mana berfungsi untuk hormone estrogen, antioksidan dan anti-kolesterol. Sumberi vitamin A (susu, hati, serta sayuran), vitamin D (susu, ikan serta kuning telur), vitamin E (kacang-kacangan, minyak dan kedelai), vitamin K (bayam, brokoli, dan wortel), vitamin B (ikan, susu, gandum dan telur), dan juga kalsium (ikan, susu dan kedelai) (Ramadani, 2017).

### 2.3 Bahan Tambahan Pangan (BTP)

Terdapat beberapa pengertian tentang bahan tambahan pangan (BTP), baik pendapat yang diberikan oleh pemerintah maupun organisasi seperti *Food and Agricultural Organization* (FAO), yaitu:

- a. Menurut Permenkes RI nomor 033 tahun 2012 tentang bahan tambahan pangan, yang selanjutnya disingkat (BTP) merupakan bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mengubah atau mempengaruhi sifat dan bentuk pangan.
- b. Menurut Permenkes RI no 86 tahun 2019 tentang keamanan pangan pada bab 1 pasal 1 menyebutkan bahwa, Bahan tambahan pangan adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan.
- c. Menurut FAO (*Food and Agricultural Organization*) menyebutkan bahwa, Bahan tambahan pangan merupakan suatu senyawa yang dalam penambahannya pada makanan dilakukan sengaja dengan jumlah serta ukuran dan terlibat dalam berbagai proses pengolahan makanan dari pengemasan sampai penyimpanan. Fungsi dari bahan ini yaitu untuk memperbaiki fisik dan rasa dari makanan tersebut misalnya, warna, bentuk, cita rasa, maupun tekstur, dan memperpanjang waktu simpan, dan bukan merupakan daru bahan baku (*ingredient*) yang utama (Mawaddah, 2015).

Berdasarkan perannya dalam produk makanan, golongan bahan tambahan pangan dapat dibedakan menjadi 27 golongan bahan tambahan makanan berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 86 Tahun 2019 tentang Keamanan Pangan, yaitu meliputi :

- 1) antibuih (*antifoaming agent*);
- 2) antikempal (*anticaking agent*);
- 3) antioksidan (*antioxidant*);
- 4) bahan pengkarbonasi (*carbonating agent*);
- 5) garam pengemulsi (*emulsifying salt*);
- 6) gas untuk kemasan (*packaging gas*);
- 7) humektan (*humectant*);
- 8) pelapis (*glazing agent*);
- 9) pemanis (*sweetener*);
- 10) pembawa (*carrier*);
- 11) pembentuk gel (*gelling agent*);
- 12) pembuih (*foaming agent*);
- 13) pengatur keasaman (*acidity regulator*);
- 14) pengawet (*preservative*);
- 15) pengembang (*raising agent*);
- 16) pengemulsi (*emulsifier*);
- 17) pengental (*thickener*);
- 18) penguat (*firming agent*);
- 19) penguat rasa (*flavour enhancer*);
- 20) peningkat volume (*bulking agent*);
- 21) penstabil (*stabilizer*);
- 22) peretensi warna (*colour retention agent*);
- 23) perisa (*flavouring*);
- 24) perlakuan tepung (*flour treatment agent*);
- 25) pewarna (*colour*);
- 26) propelan (*propellant*); dan
- 27) sekuestran (*sequestrant*).

Berdasarkan Permenkes RI No. 033 tahun 2012 tentang Bahan Tambah Pangan menyebutkan bahwa Bahan tambahan yang dilarang digunakan sebagai bahan tambahan makanan, meliputi: Asam borat dan senyawanya, asam salisilat dan garamnya, dietilpirokarbonat, kloramfenikol, kalium bromate, minyak nabati yang dibrominasi, formalin serta nitrofurazon.

## 2.4 Formaldehid

### 2.4.1 Definisi dan peraturan penggunaan formaldehid

Menurut Departemen Perindustrian Republik Indonesia tahun 2006 Formalin adalah suatu larutan yang tidak memiliki warna namun mempunyai bau yang sangat tajam. Sebanyak kurang lebih 37% formaldehid terkandung dalam suatu air yang berperan sebagai pelarut di dalam formalin, biasanya terdapat methanol sebagai bahan tambahan sebanyak 15% yang berperan sebagai pengawet. Serbuk atau berupa padatan merupakan bentuk dari formaldehid yang mana sering disebut dengan paraformaldehid, dimana formalin dan paraformaldehid dapat melepaskan gas formaldehid (Negari, dkk., 2006). Menurut BPOM RI tahun 2008 dalam suatu perdagangan formaldehid tersedia dalam larutan 37% dalam air yang sering dikenal sebagai formalin, dan larutan ini mempunyai sedikit asam, bau dari larutan ini sangat menyengat serta korosif, terurai jika larutan dipanaskan dan akan melepaskan asam formiat. Dalam penggunaannya formalin sering digunakan dalam membunuh kuman, sehingga tak heran formalin banyak dimasukkan kedalam produk-produk pembersih lantai, gudang serta pakaian, pembasmi berbagai jenis serangga, salah satu bahan pembuat setera, zat pewarna, bahan untuk pembuatan parfum, pengawet kosmetik, pengeras kuku, dan untuk pencegah korosi untuk sumur minyak (BPOM RI, 2008).

Hasil uji klinis menyebutkan bahwa besar dosis penggunaan formalin yang dapat ditoleransi dalam penggunaan terus-menerus (*Recommended Dietary Daily Allowances/RDDA*) yaitu sebesar 0,2 mg per kg berat badan (Sudirman, 2012). Di Indonesia menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 472/ Menkes/ Per/ V/ 1996 tentang Pengamanan Bahan Berbahaya Bagi Kesehatan, formalin merupakan salah satu bahan berbahaya, yang mana merupakan salah satu bahan kimia dalam bentuk campuran maupun tunggal yang dapat membahayakan kesehatan apabila dikonsumsi, hal ini dikarenakan formalin memiliki sifat racun, teratogenik, karsinogenik, mutagenik, dan korosif serta

iritasi, maka dari itu penggunaan formalin sangat dilarang dicampur dalam bahan pangan, sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (BPOM RI, 2008).

#### 2.4.2 Sifat fisikokimia formaldehid

Formaldehid memiliki sifat fisikokimia sebagai berikut (BPOM RI, 2008):

Rumus Molekul :  $\text{CH}_2\text{O}$

Nama Kimia : Formaldehyd

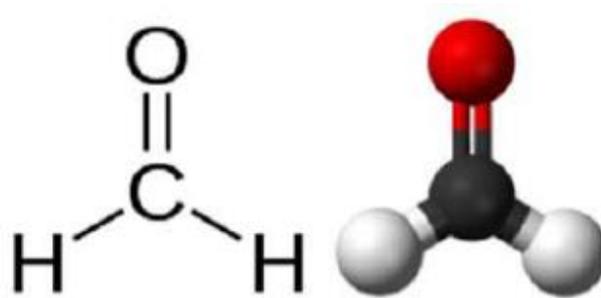
Nama lain : *Formoform, formalith, formic aldehyde, formol, karsan, lysoform, methyl aldehyde, methylene glycol, methylene oxide, morbicid, oxymethylene, paraform, oxomethane, polyoxymethylene glycols, superlysoform, tetraoxymethylene, trioxane, dan veracur*

Bobot Molekul : 30,03 Dalton

Titik leleh :  $-117^\circ\text{C}$

Titik didih :  $101^\circ\text{C}$

Rumus Struktur :



Gambar 2.1 Rumus Struktur Formaldehid (Sumber : Padila, 2019 )

Formalin mempunyai kemampuan untuk mengawetkan makanan agar bertahan lama karena memiliki suatu gugus aldehyd yang mana gugus ini sangat mudah bereaksi dengan suatu protein sehingga membentuk senyawa methylene (-NCHOH), suatu protein baik disiram ataupun direndam menggunakan larutan formalin, gugus aldehyda yang merupakan dari formaldehid akan mengikat unsur protein tersebut, sehingga bakteri

pembusuk tidak dapat menggunakan protein yang terikat, oleh karena itu, makanan yang mengandung formalin menjadi awet (Purawisastra & Sahara, 2011).

### **2.4.3 Penggunaan Formaldehid**

#### **2.4.3.1 Penggunaan formaldehid yang benar**

BPOM RI tahun 2008 tentang formalin, menyebutkan bahwa penggunaan suatu formalin yang benar yaitu sebagai:

- a. Pembunuh kuman, sehingga digunakan untuk pembersih lantai, gudang, serta pakaian.
- b. Pembasmi serangga, seperti lalat, kecoa, dan serangga lainnya.
- c. Digunakan sebagai zat pewarna dalam pembuatan sutera buatan, cerin kaca, dan sebagai bahan peledak.
- d. Digunakan sebagai pengeras lapisan-lapisan gelatin dan kertas dalam dunia fotografi.
- e. Salah satu bahan dalam pembuatan produk parfum.
- f. Dalam konsentrasi yang sangat kecil yaitu kurang dari 1% formalin dapat digunakan untuk pengawet berbagai barang-barang konsumen, misalnya pembersih rumah tangga, cairan untuk pencuci piring, pelembut, perawatan untuk sepatu, sabun pencuci mobil, lilin serta pembersih karpet.

#### **2.4.3.2 Penggunaan formaldehid yang salah**

Formalin dalam penggunaannya untuk bahan tambahan pangan sudah dilarang berdasarkan peraturan Menteri Kesehatan No. 1168 tahun 1999 namun masih banyak saja yang menggunakan formalin sebagai bahan pengawet makanan (Purawisastra & Sahara, 2011). Beberapa contoh penggunaan formalin yang salah yaitu, formalin masih digunakan sebagai bahan pengawet pada ikan segar, udang, cumi-cumi, ayam potong, ikan asin serta pada mie basah yang sudah banyak dilakukan penelitiannya beberapa contoh penelitian yang sudah dilakukan yaitu, oleh Sri hastuti,

(2010) tentang analisis kandungan formalin pada ikan asin di empat pasar mendapatkan hasil kadar sampel ikan asin positif formalin yang berbeda-beda, antara lain pada pasar Kamel kadar formalin pada ikan asin mendapatkan hasil sebesar 29,10 mg/kg, pada pasar Socah mendapatkan hasil kadar formalin pada ikan asin yaitu 30,65 mg/kg, pada pasar Bangkalan mendapatkan hasil kadar formalin pada ikan asin sebesar 49,26 mg/kg, dan yang terakhir yaitu pada pasar Sampang didapatkan hasil kadar formalin pada ikan asin sebesar 44,14 mg/kg. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Adisasmita, dkk., (2016) tentang analisis kandungan formalin pada seafood yang mana sampel yang digunakan adalah ikan blanak, udang putih dan cumi-cumi, hasil penelitian yang didapat yaitu, dari 31 sampel ikan blanak terdapat 8 sampel yang positif mengandung formalin dengan kadar tertinggi yaitu 7,02 ppm, dari 31 sampel terdapat 9 sampel udang putih yang positif mengandung formalin dengan kadar tertinggi yaitu 9,60 ppm, dan yang terakhir yaitu dari 31 sampel cumi-cumi terdapat 14 sampel yang positif mengandung formalin dengan kadar tertinggi yaitu 7,01 ppm. Selanjutnya, penelitian analisis formalin pada mie basah yang dilakukan oleh Male, dkk., (2017) menunjukkan hasil bahwa dari 14 sampel mie basah terdapat 2 sampel yang dinyatakan positif mengandung formalin dengan kadar 9,07 mg/kg dan 10,01 mg/kg. Dari penelitian-penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan bahwa masih banyak formalin yang disalahgunakan dari orang-orang yang tidak bertanggung jawab.

#### **2.4.4 Dampak Terpapar Formaldehid**

##### **2.4.4.1 Dampak terpapar formaldehid jangka pendek (akut)**

BPOM RI tahun 2008 menyebutkan tentang dampak terpapar dari formaldehid dalam waktu jangka pendek (akut) yaitu, sebagai berikut:

- a. Jika Terhirup

Pada konsentrasi 0,1-0,5 ppm dapat menyebabkan sulit untuk bernafas, tenggorokan dan hidung rasa terbakar yang disertai dengan batuk; konsentrasi 25-50 ppm dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan serta luka pada saluran pernafasan, dan pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kematian. Rasa sulit bernafas, rasang kerongkongan, dan juga dada terasa sesak serta sakit kepala, mual dan munta merupakan gejala lainnya yang dirasakan pada saat terpapar formaldehid.

b. Jika formaldehid terpapar pada kulit

Formalin jika dalam bentuk uap atau larutan dapat mengakibatkan rasa sakit pada kulit, mati rasa, dan juga terjadi perubahan pada warna kulit serta luka bakar tingkat satu.

c. Jika suatu formaldehid tertelan

Formaldehid jika tertelan dapat menyebabkan rasa terbakar pada mulut dan tenggorokan serta lambung, sulit bernafas, terasa mual dan muntah yang disertai dengan diare, sakit perut, sakit kepala, pingsan, kejang serta vertigo. Perubahan degeneratif dari jantung, hati dan otot, terjadi perubahan pada susunan saraf pusat serta pada ginjal.

#### **2.4.4.2 Dampak terpapar formaldehid jangka panjang (kronis)**

Berdasarkan BPOM RI tahun 2008 dampak terpapar formaldehid jangka panjang (kronis) yaitu, sebagai berikut:

a. Jika Terhirup

Dalam waktu jangka panjang atau paparan formaldehid secara berulang dapat mengakibatkan sakit kepala, gangguan pada pernafasan, rasa mengantuk yang berlebihan, terjadi gangguan pada ginjal serta terjadinya sensitisasi paru. Penurunan daya ingat juga dialami oleh orang yang terhirup formaldehid, serta hilangnya konsentrasi dan perubahan kejiwaan.

b. Jika Kontak Dengan Kulit

Paparan secara berulang atau jangka panjang dapat menyebabkan mati rasa pada kulit, luka bakar tingkat dua,

gatal pada kulit yang terpapar formaldehid, gangguan pada kuku, dan pengerasan pada permukaan kulit.

c. Jika Tertelan

Tertelan formalin dalam jumlah sedikit yang secara berulang dapat menimbulkan iritasi pada saluran pencernaan, pusing dan muntah. Seorang pria yang mengkonsumsi susu yang mana di dalamnya terdapat formalin selama dalam jangka waktu 15 hari mengeluhkan sakit pada perut atau lambung yang disertai dengan sakit kepala, dan dilaporkan area tenggorokan dan juga penurunan pada suhu tubuh.

## 2.5 Toksisitas Formaldehid

Toksisitas dari formaldehid telah diteliti oleh banyak organisasi yang ternama diberbagai negara misalnya seperti, ATSR (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry, USA*); IARS (*International Agency for Research on Cancer*); serta IPCS (*International Programme in Chemical Safety*). Pada pernyataan dari *International Agency For Research on Cancer (IARC)* menyebutkan bahwa aldehyd-aldehyd toksik yang mana memiliki sifat volatile terutama formaldehid telah digolongkan kedalam golongan senyawa yang dapat menyebabkan kanker. Hasil penelitian dari semua organisasi yang telah disebutkan, menyimpulkan bahwa formaldehid adalah suatu karsinogenik (pemicu kanker) (Uzairu, dkk., 2010).

## 2.6 Ciri Makanan Yang Mengandung Formaldehid

Masyarakat sering kali belum dapat membedakan lauk pauk yang mengandung pengawet dengan yang tidak mengandung pengawet, hal ini dikarenakan masih kurangnya pengetahuan tentang ciri-ciri lauk pauk yang aman dari pengawet, yaitu formaldehid atau yang sering disebut dengan formalin. Berikut beberapa ciri-ciri lauk pauk yang mengandung formalin (Ichya'uddin, 2014) :

a. Ayam potong

Pada makanan ini biasanya ciri yang terlihat apabila ditambahkan bahan pengawet yaitu, tidak dikerubungi lalat; jika dosis formalin yang diberikan

tinggi maka akan tercium bau obat atau bau formalin; daging kenyal atau kaku; dan jika dalam uji klinis apabila daging ayam dimasukkan dalam reagen maka akan menimbulkan gelembung gas.

b. Ikan asin

Pada ikan asin jika digunakan formalin dalam pengawetannya maka akan menimbulkan ciri-ciri seperti, waktu simpan dapat bertahan selama kurang lebih 1 bulan dalam suhu kamar ( $25^0$ ) dan tidak rusak; terlihat bersih dan cerah; tidak menimbulkan bau yang tak sedap; tekstur ikan kenyal; serta tidak dikerubungi lalat.

c. Ikan Segar

Jika ikan segar dicampurkan dengan formalin maka akan menimbulkan ciri-ciri seperti, tidak rusak selama 3 hari dalam suhu kamar ( $25^0$ ); warna daging akan putih bersih dan tekstur kenyal; mata ikan akan berwarna merah, namun insang akan berwarna merah tua bukan merah segar dan tidak cemerlang; bau amis pada ikan seperti umumnya akan hilang; serta tidak dikerubungi lalat.

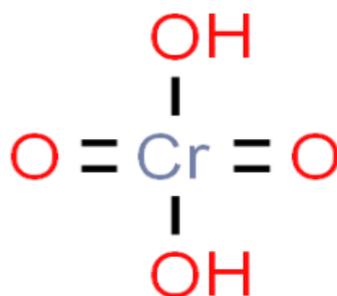
d. Mie basah

Ciri-ciri mie basah yang mengandung formalin yaitu, waktu simpan tahan dalam 2 hari pada suhu kamar ( $25^0$ ) dan bertahan lebih dari 15 hari dalam lemari es; bau formalin agak menyengat; warna mie lebih mengkilap dibandingkan mie yang tidak mengandung formalin; tidak dikerubungi lalat, serta mie terasa kenyal.

## **2.7 Analisis Kualitatif Formalin Dalam Makanan**

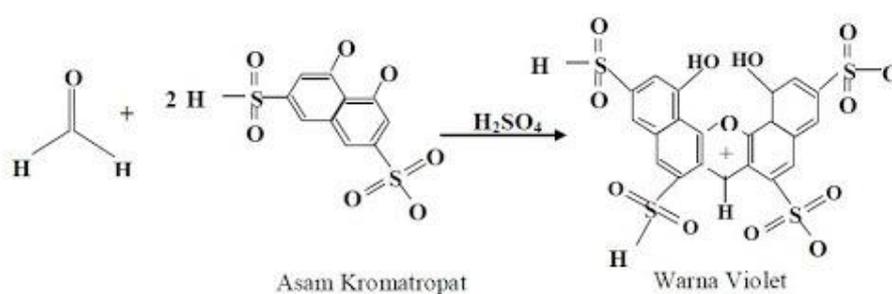
### **2.7.1 Reagensia asam kromatofat**

Formalin banyak digunakan sebagai bahan pengawet makanan, di mana formalin sendiri banyak mengandung senyawa aldehida, walaupun dalam penggunaannya sangat dilarang oleh Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Seiring dengan perkembangan zaman, banyak cara yang dapat dilakukan untuk mengetahui atau mendeteksi keberadaan formalin di dalam suatu makanan yang sudah banyak dilakukan oleh peneliti-peneliti sebelumnya, salah satu diantaranya adalah metode asam kromatofat (Ichya'uddin, 2014).



Gambar 2.2 Struktur Asam Kromatofat (Sumber: Chemspider.com)

Asam kromatofat merupakan salah satu metode yang sering digunakan untuk mendeteksi senyawa formaldehid. Kelebihan dari penggunaan metode asam kromatofat ini yaitu, terhadap senyawa formaldehid (formalin) asam kromatofat dapat bereaksi secara selektif, namun terdapat juga kelemahan dari metode ini adalah, penggunaannya dalam asam sulfat panas yang mana memiliki sifat korosif dan berbahaya. Senyawa formalin apabila ditambahkan atau dicampurkan dengan asam kromatofat dalam asam sulfat yang disertai dengan pemanasan beberapa menit maka akan terjadi perubahan warna menjadi violet (keunguan) atau reaksi yang terjadi yaitu 3,4,5,6 Dibenzoxyanthylum (Ichya'uddin, 2014).

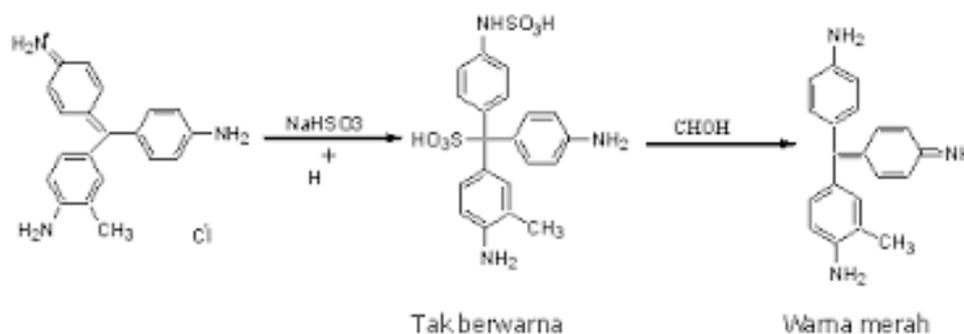


Gambar 2.3 Reaksi antara formalin dan pereaksi asam kromatofat (Sumber: Ichya'uddin, 2014)

### 2.7.2 Reagensia schiff

Reagen schiff banyak digunakan dalam hal untuk mendeteksi suatu keberadaan senyawa organik aldehida. Kegunaannya untuk tes kualitatif suatu senyawa aldehida, sampel yang akan dilakukan pengujian

dicampurkan kedalam reaksi schiff akan mengakibatkan perubahan warna magenta (warna merah), hal tersebut menunjukkan bahwa sampel tersebut positif mengandung senyawa aldehida (Ichya'uddin, 2014).



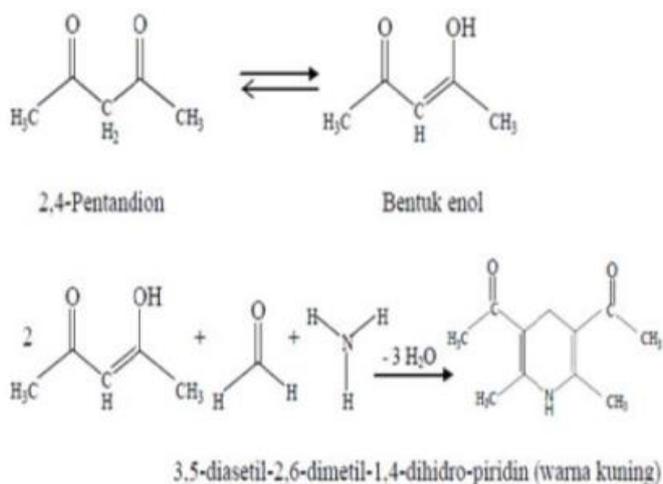
Gambar 2.4 Reaksi antara formalin dan pereaksi schiff (sumber: Ichya'uddin, 2014)

### 2.7.3 Titrasi asam-basa

Kadar dari suatu formalin dapat ditentukan dengan cara titrasi asam-basa yaitu dengan cara mencampurkan atau menambahkan hydrogen peroksida dan larutan NaOH 1 N kemudian dilakukan pemanasan sampai proses pembuihan berhenti, lalu dititrasi dengan HCL 1 N, fenolftalein merupakan suatu indikator yang akan memberikan perubahan warna (Ichya'uddin, 2014).

### 2.7.4 Pereaksi nash

Metode ini merupakan yang paling sering digunakan dalam analisis kualitatif formalin yaitu dengan menambahkan pereaksi nash. Formaldehida san bereaksi dengan pereaksi nash dengan pemanasan 30 menit akan menghasilkan warna kuning yang mantap, kemudian diukur pada panjang gelombang 415 nm (Ichya'uddin, 2014).



Gambar 2.5 Reaksi perubahan warna setelah penambahan pereaksi Nash (Sumber: Umbingo, dkk., 2015)

## 2.8 Validasi Metode

Menurut USP (*United State Pharmacoperia*) tujuan dari dilakukannya validasi metode yang tertulis dalam buku Gandjar dan Rohman, (2014) yaitu untuk terjaminnya keakuratan suatu metode yang digunakan, spesifik, reproduisible serta tahan terhadap kisaran analit yang hendak dianalisis. Menurut ISO 2017, menyatakan suatu standar internasional untuk laboratorium pengujian serta kalibrasi, suatu metode harus dilakukan validasi jika:

- Metode yang dikembangkan oleh laboratorium;
- Metode standar yang digunakan di luar ruang lingkupnya;
- Gabungan dari dua atau lebih metode standar;
- Gabungan antara metode standar dan metode bukan standar;
- Metode tidak baku, seperti dari buku teks, diktat, ataupun jurnal yang belum diakui secara luas;
- Perubahan sekecil apapun dari metode-metode standar, seperti prosedur dan perubahan volume reagensia.

Delapan parameter validasi metode analisis menurut USP (*United States Pharmacopeia*) dalam buku Gandjar dan Rohman, (2014) yaitu Presisi,

Akurasi, Batas Deteksi, Batas Kuantifikasi, Spesifisitas, Linearitas dan Rentang, Kekasaran (*Ruggedness*), Ketahanan (*Robustness*).

### 2.8.1 Akurasi

Kecermatan atau keakurasian merupakan suatu ukuran yang menyatakan derajat kedekatan suatu hasil analisis dengan suatu kadar analit yang sesungguhnya. Kecermatan dinyatakan dalam bentuk % (*recovery* (perolehan kembali) analit yang ditambahkan (Harmita, 2004).

Rentang kurang lebih 80%-122,0% merupakan suatu nilai perolehan kembali (*recovery*) akurasi yang ditunjukkan yang umum untuk suatu senyawa mayor dalam campuran (Gandjar & Rohman, 2014). Dalam buku Gandjar & Rohman, 2014 terdapat dua cara mencari akurasi, yaitu metode simulasi dan metode adisi. Metode simulasi dilakukan dengan cara analit bahan murni ditambahkan ke placebo, sedangkan metode adisi yaitu dengan cara sampel yang dianalisis dicampur dengan sampel baku.

Untuk mendokumentasikan akurasi, ICH (*International Conference on Harmonization*) merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (misalnya 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi). Data harus dilaporkan sebagai persentase perolehan kembali (Gandjar & Rohman, 2014).

### 2.8.2 Presisi

Ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual merupakan keseksamaan (presisi). Sampel dari campuran yang homogen diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang (Harmita, 2004).

Presisi ditunjukkan sebagai simpangan baku relative (Relative Standard Deviation, RSD). Presisi harus dilakukan pada tiga tingkatan yang berbeda, yaitu keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*), dan ketertiruan (*reproducibility*). Presisi

keterulangan (*repeatability*) merupakan presisi yang dilakukan pada kondisi percobaan yang sama (berulang); baik orangnya, peralatannya tempatnya, maupun waktunya. Presisi antara adalah presisi pada kondisi percobaan yang salah satunya berbeda; baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya. Presisi keteriruan mengukur presisi antarlaboratorium sebagaimana dalam studi-studi kolaboratif atau studi uji banding antarlaboratorium dari atau uji profesiensi (Gandjar & Rohman, 2014).

### **2.8.3 Spesifisitas**

Kemampuan untuk mengukur analit secara tepat dengan adanya komponen – komponen lain dalam matriks sampel seperti cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, dan senyawa asing lainnya. Suatu derajat penyimpangan (*degree of bias*) sering disebut dengan selektivitas. (Harmita, 2004).

### **2.8.4 Linieritas**

Linieritas merupakan cara untuk memperoleh hasil pengujian secara langsung dan sesuai dengan konsentrasi analit yang terdapat pada sampel. Pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda adalah cara mengukur linieritas (Harmita, 2004).

Metode linieritas yaitu suatu ukuran seberapa baiknya kurva kalibrasi yang mana menghubungkan respons ( $y$ ) dengan suatu konsentrasi ( $x$ ) (Gandjar & Rohman, 2014).

### **2.8.5 Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi (*LoD* dan *LoQ*)**

Suatu konsentrasi analit terendah yang masih bisa dideteksi walaupun tidak selalu dapat dikuantifikasi sering disebut dengan batas deteksi (LOD). Sedangkan batas kuantifikasi (LOQ) adalah konsentrasi analit terendah pada sampel yang dapat ditentukan dengan akurasi dan presisi pada kondisi analisis yang digunakan (Gandjar & Rohman, 2014).

Dalam menentukan nilai LOD dan LOQ dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu dapat dihitung secara statistik melalui garis linier dari kurva kalibrasi dan juga dapat dihitung secara matematika dengan rumus:

$$Q = \frac{K \times S_b}{SI}$$

Dengan:

Q= LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantifikasi)

K= 3 untuk batas deteksi atau 10 untuk batas kuantifikasi

S<sub>b</sub>= simpangan baku atau nilai S<sub>y</sub>/x

SI= arah garis linier (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope (b pada persamaan garis y= bx + a (Harmita, 2004).

### 2.8.6 Kekasaran (*ruggedness*)

Kekasaran merupakan derajat tingkat reproduibilitas suatu hasil yang diperoleh di bawah kondisi beragam yang ditunjukkan sebagai hasil persen simpangan baku relatif (%RSD). Jika metode yang digunakan baru pertama kali, kemungkinan kekasaran metode tersebut tidak akan diketahui (Gandjar & Rohman, 2014).

### 2.8.7 Ketahanan (*Robustness*)

Suatu kapasiatas metode agar tetap dan tidak terpengaruh oleh adanya variasi parameter metode yang kecil perlu adanya ketahanan. Evaluasi ketahanan dengan melakukan variasi berbagai parameter contohnya pelarut organik, pH, suhu dan kekuatan ionik dan lain-lain (Gandjar & Rohman, 2014).

## 2.9 Spektrofotometri

### 2.9.1 Spektrofotometri Ultraviolet-Visibel

Pada jurnal Arwibiyantari (2018) spektrofotometer memiliki alat pengukur intensitas cahaya yang disebut fotometer, dimana cahaya tersebut ditransmisikan atau diabsorpsi sesuai dengan panjang

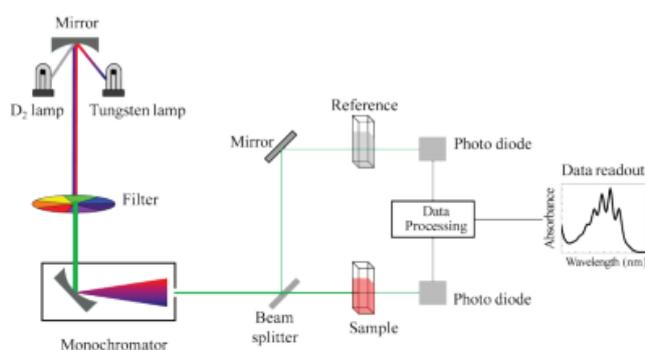
gelombang tertentu. Pengukuran energi cahaya pada panjang gelombang tertentu oleh suatu sistem kimia adalah Spektrofotometri Sinar Tampak (UV-Vis). Sinar ultraviolet (UV) memiliki suatu panjang gelombang antara 200-400 nm, dan 400-750 nm merupakan panjang gelombang yang dimiliki oleh sinar tampak (Visible).

### 2.9.2 Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis

Prinsip kerja dari spektrofotometri yaitu diawali dengan terdapatnya hubungan interaksi yang terjadi antara energy suatu radiasi elektromagnetik dengan zat kimia yang awalnya memiliki cahaya putih kemudian dialihkan menjadi cahaya monokromatis yang mana dapat dilewatkan ke dalam larutan yang memiliki warna, lalu sebagian cahaya warna warna diserap namun ada juga yang tidak diserap atau diteruskan. Panjang suatu gelombang serta warna yang diserap atau diabsorpsi dapat ditunjukkan pada tabel 1 (Shita, 2016).

Tabel 2.1 Rentang panjang gelombang dan warna yang diabsorpsi (Shita, 2016)

Warna yang diserap	Panjang gelombang (nm)
Ultraviolet	<400
Violet	400-450
Biru	450-500
Hijau	500-570
Kuning	570-590
Jingga	590-620
Merah	620-670
Inframerah	>700



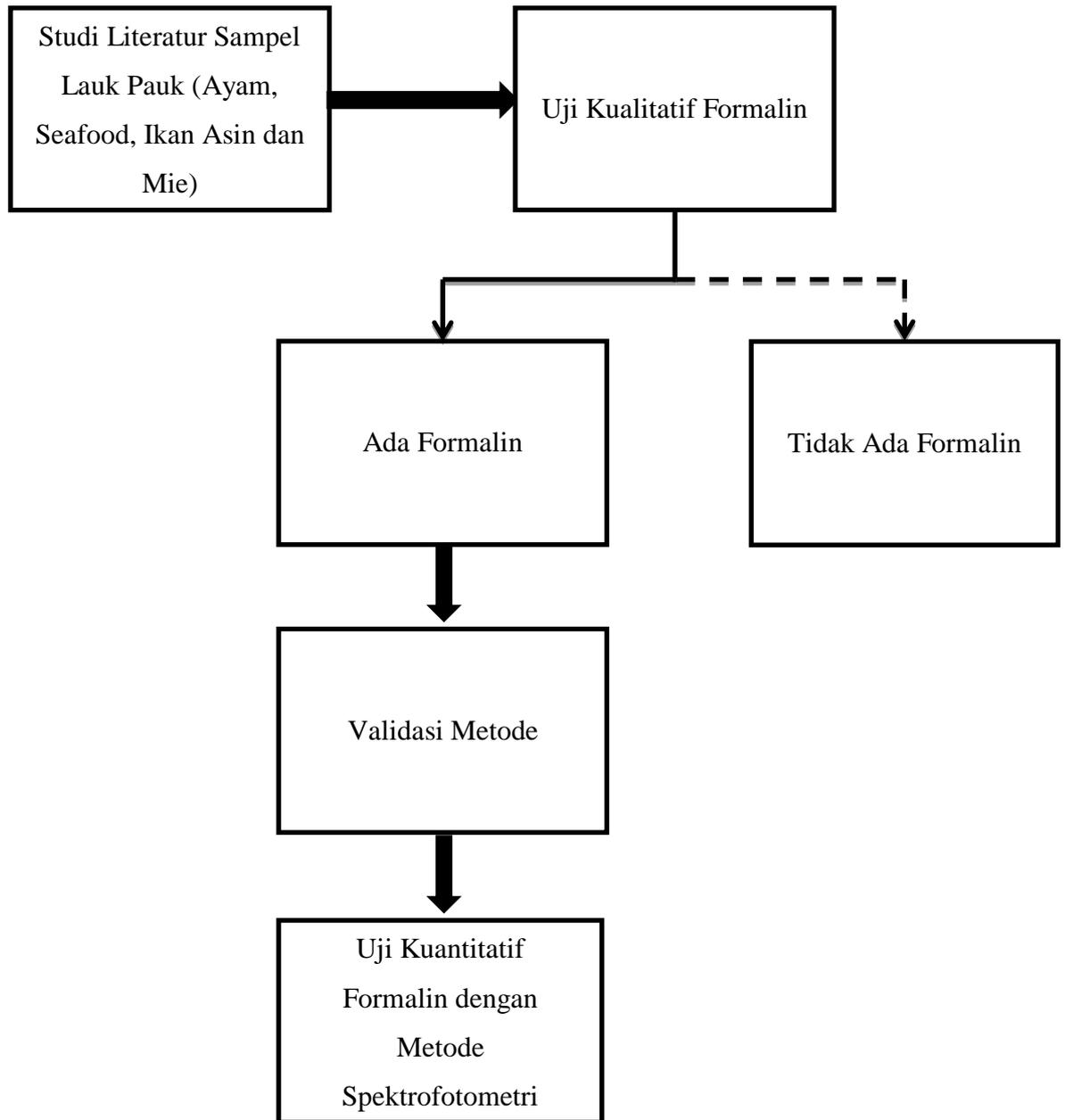
Gambar 2.6 Skema Spektrofotometri UV-Vis (Sumber: Suhartati, 2017)

Sumber sinar polikromatis digunakan dengan bermacam-macam rentang panjang gelombang. Perubahan cahaya dari sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis adalah fungsi monokromator. Kuvet berisi sampel diletakkan disel sampel. Kuvet umumnya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kualitas yang lebih baik adalah kuvet dari kuarsa silika. Cahaya yang ditangkap oleh detektor dari sampel akan diubah menjadi arus listrik. Sistem baca yang dapat menangkap besarnya isyarat suatu listrik yang berasal dari *detector* disebut dengan *read out*. (Mustikaningrum, 2015).

### **2.9.2 Kelebihan dan kekurangan Spektrofotometri UV-Vis**

Spektrofotometri Ultraviolet (UV) dan Visible (Vis) telah menjadi metode pilihan disebagian besar laboratorium yang berkaitan dengan identifikasi dan kuantifikasi senyawa organik dan anorganik diberbagai produk dan proses. Kelebihan spektrofotometri UV-Vis adalah cepat, akurat, dan dapat diandalkan. Spektrofotometer ini hanya membutuhkan sedikit tuntutan waktu dan keterampilan operator, panjang gelombang dari suatu sinar putih mampu dibaca atau dideteksi. Kekurangan metode ini adalah cukup selektif dan tidak mudah diterapkan pada analisis campuran (Arwibiyantari, 2018).

### 2.10 Kerangka Konsep



Gambar 2.7 Kerangka Konsep Penelitian