

VALIDASI METODE ANALISIS FORMALIN DALAM DAGING PAHA AYAM DI KOTA MANADO

Silvana Chichilia Umbingo¹⁾, Sri Sudewi¹⁾, Defny Silvia Wewengkang¹⁾
¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Formaldehyde is food additive thus requiring the routine analysis with the increase in consumption of chicken thigh meat. The study aimed to determine whether there is any formaldehyde content in chicken thighs. This research using Spectrophotometric UV-Vis method and Nash reagent with a validity value the validation parameters that can be accepted by the correlation coefficient 0,995, the average recovery 100,247 % and the coefficient variation of a function is 1,201%. The chicken thigh meat in Manado city by this method was not detected formaldehyde.

Keywords : Formaldehyde, Validation, Chicken thigh meat, Manado.

ABSTRAK

Formalin merupakan bahan tambahan pangan yang dilarang sehingga diperlukan analisis rutin seiring dengan peningkatan konsumtif daging paha ayam. penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil validasi metode penentuan formalin pada daging paha ayam serta menentukan ada tidaknya kandungan formalin dalam daging paha ayam. Pada penelitian ini, digunakan alat spektrofotometri UV-Vis dengan pereaksi Nash. Metode ini memiliki nilai validitas yang memenuhi parameter validasi sehingga dapat diterima dengan nilai koefisien korelasi 0,995, rata – rata perolehan kembali adalah 100,247% dan nilai koefisien variasi fungsi sebesar 1,201%. Sampel yang diteliti tidak terdeteksi formalin.

Kata kunci : Formalin, Validasi, Daging paha ayam, Manado.

PENDAHULUAN

Di Indonesia daging ayam merupakan daging favorit karena hampir semua orang gemar mengkonsumsinya (Tamalludin,2014). Daging ayam merupakan salah satu sumber protein hewani yang baik karena mengandung asam amino esensial yang lengkap dengan perbandingan yang cukup serta serat – serat dagingnya yang pendek dan lunak sehingga lebih mudah dicerna (Departemen Peternakan, 2004). Adapun daging ayam yang tinggi peminatnya ialah ayam ras pedaging (broiler), hal tersebut dapat dilihat dari tingkat konsumsi masyarakat pada tahun 2011 dari 5,5kg/kapita/tahun maka 65% (3,65kg/kapita/tahun) adalah daging ayam broiler (Tammalludin, 2004) sedangkan berdasarkan pola konsumsi maka bagian paha lebih disukai dibandingkan bagian dada ayam (Simatupang dkk, 2004).

Salah satu bahan tambahan pangan pada daging ayam yaitu formalin yang digunakan agar ayam menjadi berwarna putih bersih, tekstur daging lebih kenyal, tidak dihindangi lalat dan tidak mudah busuk (Suryadi *et al.*, 2008). Berbagai bahaya serius yang akan dihadapi jika formalin masuk ke dalam tubuh manusia diantaranya yaitu akan menekan fungsi sel, menyebabkan kematian sel, dan menyebabkan keracunan (Khomsan dan Anwar, 2008).

Validasi metode analisis adalah suatu proses penilaian terhadap metode analisis tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa metode tersebut memenuhi persyaratan untuk digunakan (Harmita, 2004).

Oleh karena tingginya peminat paha daging ayam serta penggunaan formalin sebagai pengawet sangat berbahaya maka dirasa perlu dilakukannya validasi dan penentuan ada tidaknya kandungan formalin dan penulis tertarik untuk menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis karena metode lainnya seperti titrasi volumetri memiliki

selektivitas dan sesitivitas yang kurang optimal sedangkan untuk metode KCKT dan KG menggunakan instrumen dan derivat yang mahal sehingga tidak cocok dijadikan analisis rutin selanjutnya penggunaan pereaksi Nash dapat memberikan konsistensi warna sehingga menunjang metode spektrofotometri UV-Vis yang memerlukan suatu derivatisasi untuk membentuk gugus kromofor.

BAHAN DAN CARA KERJA

Alat

Alat- alat yang digunakan adalah Destilator, Oven (Ecocell) , Blender (Waring), Mikropipet (Ecopippet), Neraca analitik, Alumunium foil, Blue tip, Yellow tip, Sarung tangan disposable, Masker, Alat-alat gelas, Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu).

Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah Formalin 37% (MERCK), Ammonium asetat, Asam Asetat glacial (Emsure), Asetil aseton, Asam Fosfat 10% (MERCK) , Aquadest, Daging paha ayam.

Prosedur Penelitian

Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Sampel diambil dari beberapa pasar tradisional terbagi atas Pasar A, Pasar B, Pasar C dan Supermarket A, B dan C yang tersebar di Kota Manado dimana tiap pasar dan supermarket diambil satu bagian paha ayam dan selanjutnya sampel dianalisis di Laboratorium Analisis Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado.

Penentuan Metode Analisis

Berdasarkan metode Susanti (2010) :

a. Penyiapan Larutan Uji dan Pereaksi Pembuatan Larutan Nash

Ditimbang 150 gram ammonium asetat dilarutkan dalam 700 mL air. Ditambahkan 3 mL asam asetat glacial dan 2 mL asetil aseton. Ditambahkan aquadest hingga volume tepat 1000 mL.

Pembuatan Larutan Baku Induk Formalin 6 mg/mL

Dipipet formalin (mengandung 37% formalin dalam air) sebanyak 1,1 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 200 mL kemudian dicukupkan dengan aquadest hingga garis tanda.

Pembuatan Larutan Baku Formalin konsentrasi 100 – 300 ppm

Dari larutan baku induk formalin dibuat menjadi 100, 150, 200, 2500 dan 300 ppm dan digunakan labu ukur 100 mL untuk pembuatannya.

Pembuatan Larutan Asam Fosfat 10%

Diukur asam fosfat (85%) 11,8 mL dilarutkan dengan aquades sampai larut dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan aquadest sampai garis tanda.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dipipet 1 mL larutan formalin konsentrasi 150 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup. Ditambahkan air hingga volumenya 10 mL dan 5 mL pereaksi Nash lalu dipanaskan dalam penangas air pada suhu 37 ° C selama 30 menit. Setelah dingin dipindahkan ke dalam labu ukur 25 mL secara kuantitatif dan ditepatkan volumenya menggunakan air, dikocok hingga homogen. Diamati serapannya pada panjang gelombang 400-500 nm dengan alat spektrofotometri UV-Vis hingga didapat panjang gelombang maksimum.

c. Validasi Metode

Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Penentuan Linearitas

Dipipet 1 mL larutan formalin konsentrasi 100 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup. Ditambahkan air hingga divisumennya 10 mL dan 5 mL

pereaksi Nash lalu dipanaskan air pada suhu 37 ° C selama 30 menit. Dipindahkan ke dalam labu ukur secara kuantitatif setelah dingin dan ditepatkan volumenya menggunakan air, dikocok hingga homogen. Diamati serapannya pada panjang gelombang 400-500 nm dengan alat spektrofotometri uv-vis. Dilakukan cara yang sama untuk konsentrasi 150, 200, 250, 300 ppm kemudian dibuat kurva kalibrasi hingga didapat persamaan linier $y=a+bx$. Linieritas dari kurva kalibrasi dilihat dengan menghitung koefisien korelasi (r) dari persamaan garis linier.

Penentuan Batas Deteksi/ Limit Of Detection (LOD) dan Batas Kuantitasi/ Limit Of Quantitation (LOQ)

LOD dan LOQ dihitung melalui persamaan garis linier dari kurva kalibrasi, dengan rumus :

$$Q = \frac{k \times Sb}{S1}$$

Akurasi (Ketepatan)

Penyiapan Sampel Uji Simulasi

Ditimbang sampel sebanyak 10 gram, dihancurkan dalam lumpang kemudian ditambahkan formalin konsentrasi 125 ppm dan dimasukkan ke dalam labu destilasi. Ditambahkan 100 mL air dan 10 mL asam fosfat 10% kemudian dilakukan destilasi uap menggunakan alat destilasi uap. Destilat ditampung ke dalam erlenmeyer 100 mL yang telah berisi air (ujung pendingin/pipa destilat dicelup ke dalam uap) dan dilakukan destilasi hingga diperoleh destilat sampai tanda batas, ditutup dengan aluminium foil dan kocok sampai homogen. Dilakukan cara yang sama pada sampel yang dicampur formalin dengan kadar 175 ppm dan 225 ppm kemudian dihitung nilai konsentrasi sehingga diperoleh 9 destilat dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Perhitungan Nilai UPK

Nilai perolehan kembali dihitung dengan cara membandingkan konsentrasi yang diperoleh dari hasil formalin ekstraksi yang ditambahkan pada daging paha ayam simulasi dan dikalikan 100%.

Presisi (Ketepatan)

Selisih dari nilai UPK rata – rata ketiga konsentrasi formalin sampel simulasi dikurangi nilai UPK rata – rata perkonsentrasi. Kemudian dihitung nilai simpangan baku (SD) dan nilai simpangan baku relatif atau Koefisien Variasi (KV) masing – masing konsentrasi.

Standar deviasi dan koefisien variasi dapat dihitung dengan mengikuti persamaan ekuivalen :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(Xi - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$\%KV = \frac{sd}{\bar{x}} \times 100\%$$

Analisa Sampel secara Kuantitatif

Ekstraksi dan Pengukuran Sampel

Ditimbang sampel sebanyak 10 gram dan dimasukkan ke dalam labu destilasi. Ditambahkan 100 mL air dan 10 mL asam fosfat 10% kemudian dilakukan kedalam labu ukur 100 mL yang telah berisi air (ujung pendingin dicelup) dan dilakukan destilasi hingga destilat sampai tanda batas, kocok sampai homogen. Dipipet 1 mL destilat dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup. Ditambahkan air hingga volumenya 10 mL dan 5 mL pereaksi Nash lalu dipanaskan dalam penangas air pada suhu 37° C selama 30 menit. Dipindahkan kedalam labu ukur 25 mL secara kuantitatif setelah dingin dan ditepatkan volumenya menggunakan air. Diukur serapannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Pada penelitian ini digunakan daging paha ayam sebagai sampel. Proses pengambilan sampel digunakan metode *judgemental sampling/ purposive sampling* yakni pengambilan sampel berdasarkan pertimbangan atau tujuan tertentu seperti pengalaman berbagai pihak (Saryono, 2013). Pengalaman yang dimaksudkan adalah sampel dengan pembeli terbanyak sehingga adanya tingkat kepercayaan masyarakat pada penjual tersebut.

Penyiapan Larutan Uji dan Pereaksi

Pembuatan larutan uji dan pereaksi dilakukan secara seksama dan teliti, hal ini dilakukan untuk menghindari kesalahan yang fatal akibat pembuatan larutan pada tahap awal. Pembuatan larutan Nash akan memberikan spektrum serapan warna pada formalin ketika dianalisis dengan Spektrofotometri Uv-Vis.

Selanjutnya pembuatan larutan baku induk formalin 6 mg/mL kemudian dari larutan baku induk tersebut dibuat kembali larutan baku formalin dengan seri konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm yang akan digunakan untuk penentuan panjang gelombang maksimum. Pada saat pengukuran, absorbansi yang didapatkan terlalu tinggi. Hal ini akibat semakin tinggi konsentrasi yang berpengaruh pada tingginya absorbansi pada larutan yang diukur sehingga dibuat larutan baku formalin kembali dengan seri konsentrasi kembali yakni 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 125 ppm.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang Gelombang Maksimum dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri ultraviolet-visibel dengan seri konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm diperoleh serapan maksimum formalin pada panjang gelombang 412,50

nm dan konsentrasi yang optimum yaitu pada konsentrasi 100 ppm. Konsentrasi ini dipilih karena *peak* pada konsentrasi ini menunjukkan hasil yang baik dan sesuai dengan literatur.

Konsentrasi (ppm)	Panjang Gelombang (nm)
100	412,50
150	412,25
200	412,25
250	412,00
300	412,00

Tabel 1. Panjang Gelombang Maksimum

Tujuan penentuan panjang gelombang maksimum agar mengetahui daerah serapan yang dapat dihasilkan berupa nilai absorbansi dari larutan formalin yang dilarutkan dengan aquades dan pereaksi Nash yang kemudian diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400-500 nm. Setelah dilakukan pengukuran, panjang gelombang maksimum berada pada 412,50 nm dan hasil yang diperoleh terjadi pergeseran panjang gelombang dari literatur Susanti (2010) yakni 412,75 nm namun masih dalam kisaran daerah serapan optimum formalin pada 412-415 nm sehingga dapat dikatakan hasil pengukuran yang dilakukan memenuhi syarat penggunaanya untuk analisis.

Optimasi Waktu Kestabilan (Operating Time)

Pada optimasi waktu kestabilan dengan menggunakan panjang gelombang terpilih yaitu 412,50 nm dengan konsentrasi 100 ppm dengan waktu 0 – 10 menit menunjukkan absorbansi yang stabil yaitu 1,570 dan pada tabel dapat dilihat bahwa setelah dilakukannya optimasi waktu maka dalam 10 menit sejak detik

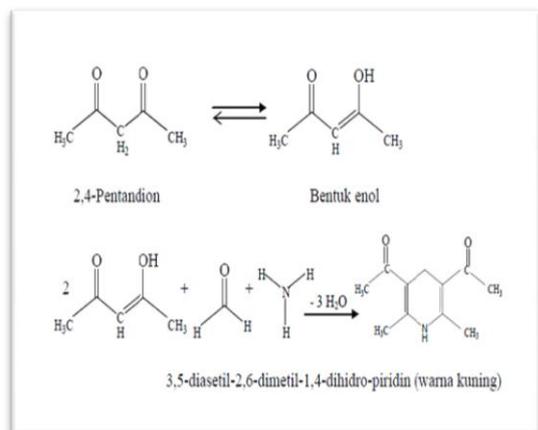
pertama dilakukan pengukuran masih merupakan waktu optimal.

Validasi Metode

Kurva Kalibrasi dan Uji Linearitas

Validasi metode diawali dengan pembuatan kurva kalibrasi dan linearitas. Kurva Kalibrasi didapati dengan cara membuat seri konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm dari larutan formalin, aquades dan pereaksi Nash. Penambahan pereaksi Nash akan mengubah larutan menjadi berwarna kuning akibat terhidrolisis ke bentuk enol setelah pemanasan dan untuk memenuhi syarat agar dapat diukur serapannya dengan alat spektrofotometri UV-Vis maka pada proses pengukuran larutan formalin yang merupakan larutan tidak berwarna dilakukan penambahan pereaksi Nash sehingga memberikan spektrum serapan berwarna pada formalin sehingga membentuk gugus kromofor yakni gugus fungsional yang tidak jenuh yang memberikan serapan pada daerah ultraviolet atau cahaya tampak serta warna yang terbentuk akan semakin intens sejajar dengan semakin tingginya konsentrasi karena jumlah analit yang semakin banyak dalam larutan.

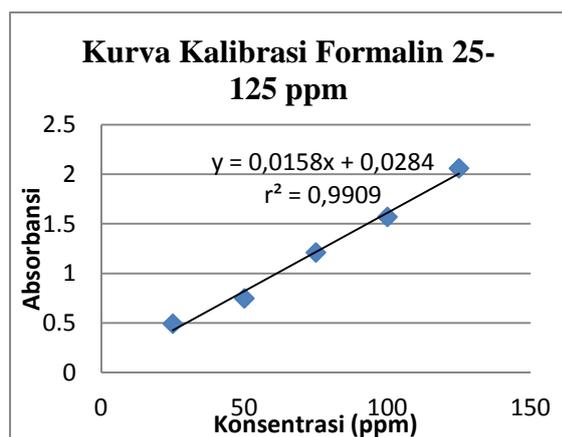
Persamaan kurva kalibrasi yang merupakan hubungan antara sumbu x dan y. Konsentrasi yang diperoleh dari hasil pengukuran dinyatakan sebagai sumbu x sedangkan serapan yang diperoleh dari hasil pengukuran dinyatakan sebagai sumbu y dan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi yang diperoleh adalah $y = 0,0158x + 0,0284$ dengan koefisien korelasi $r = 0,995$. Harga koefisien korelasi (r) yang mendekati 1 menyatakan hubungan yang linier antara konsentrasi dengan serapan yang dihasilkan dengan arti peningkatan nilai absorbansi analit berbanding lurus dan signifikan dengan peningkatan konsentrasinya sesuai dengan syarat nilai koefisien korelasi (r) yang baik adalah $\geq 0,990$.



Gambar 1. Reaksi perubahan warna setelah penambahan pereaksi Nash

Tabel 3. Penentuan linieritas dari beberapa konsentrasi

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
25	0,492
50	0,748
75	1,211
100	1,570
125	2,061



Batas Uji dan Batas Deteksi

Setelah mendapatkan kurva kalibrasi yang memenuhi persyaratan analisis, selanjutnya data yang diperoleh dari konsentrasi tiap analit yang memberikan absorbansi berbeda untuk diolah untuk

menentukan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitas (LOQ). Batas deteksi merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi (Harmita, 2006) dan batas deteksi yang diperoleh adalah 11,514 ppm sedangkan batas kuantitas merupakan kuantitas terkecil dalam analit yang masih dapat ditentukan dengan metode yang digunakan dan batas kuantitas yang diperoleh adalah 38,380 ppm.

Tabel 4. Nilai LOD dan LOQ

$\sum(y-y')^2$	0,038
$S(y-y')^2$	0,012
$S(y/x)$	0,113
LOD(ppm)	11,514
LOQ (ppm)	38,380

Akurasi dan Perolehan Kembali (Recovery)

Pada parameter selanjutnya yakni akurasi yang dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. akurasi hasil analisis sangat tergantung kepada sebaran galat sistematis didalam keseluruhan analisis. Akurasi ditentukan dengan dua cara yaitu metode penambahan baku (*standart addition method*) atau metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) seperti yang digunakan pada penelitian ini. Dalam metode simulasi, sejumlah analit ditambahkan kedalam campuran pembawa lalu dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar yang sebenarnya). Penambahan pereaksi Nash digunakan untuk mengikat formalin agar terlepas dari sampel sedangkan asam fosfat untuk mempercepat proses pelepasan formalin dari sampel (Hastuti, 2010) dan setelah perhitungan maka nilai uji perolehan kembali (UPK) yang diperoleh dengan nilai rata-rata UPK seluruh konsentrasi sebesar 100,247%. Adapun syarat nilai UPK yang baik adalah

98%-102% (Gandjar dan Abdul, 2007) sehingga hasil yang diperoleh telah memenuhi syarat uji akurasi.

Tabel 5. Hasil uji perolehan kembali formalin pada sampel simulasi

Konsentrasi (ppm)	Rata – rata UPK (%)
125	100,467
175	100,071
225	100,204
	\bar{X} 100,247

Presisi

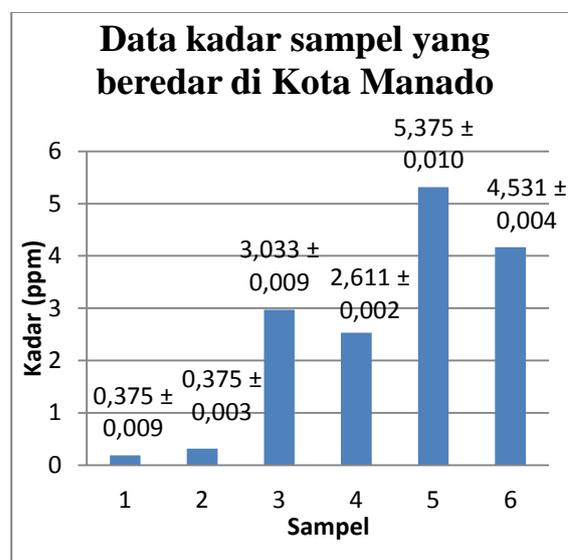
Selanjutnya untuk parameter presisi yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji yang diukur melalui penyebaran hasil dari rata – rata secara berulang. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi) berdasarkan penelitian yang dilakukan terhadap replikasi sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004). Adapun hasil perhitungan simpangan baku (SD) dari data yang diperoleh dari tiga kali replikasi dengan tiga konsentrasi berbeda dimana nilai yang diperoleh sesuai dengan syarat uji presisi dengan nilai yang disyaratkan $\leq 2\%$ (Gandjar dan Abdul, 2007).

Tabel 6. Hasil uji presisi pada sampel simulasi

C (ppm)	Absorbansi (A)	SD	RSD (%)
125	0,775 0,779 0,779	0,576	0,400
175	1,147 1,168 1,189	1,865	1,000
225	1,553 1,579 1,596	2,563	1,100

Analisa Sampel

Setelah dianalisis dengan metode yang telah divalidasi dan memplotkan nilai absorbansi pada kurva baku $y = 0,0158x + 0,0284$ maka diperoleh hasil yang bervariasi yaitu kadar formalin tertinggi terdapat pada sampel 5 sebesar 5,375 ppm dan yang terendah terdapat pada sampel 1 sebesar 0,375 ppm sehingga kadar yang diperoleh diklasifikasikan tidak terdeteksi formalin karena konsentrasi yang diperoleh lebih kecil dari LOD yaitu 11,514 ppm.



Gambar 7. Diagram hasil analisis daging paha ayam

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Metode yang digunakan sesuai dengan parameter validasi yang telah ditetapkan sehingga memiliki nilai validitas yang dapat diterima.
2. Tidak terdapat kandungan formalin pada sampel daging paha ayam yang beredar di Kota Manado.

DAFTAR PUSTAKA

Dir.Jend.POM. 2003. Formalin. Departemen Kesehatan RI. Hal : 3-20, Jakarta.

- Gandjar, Ibnu Gholib dan Abdul Rohman. 2009. *Kimia Farmasi Analisis* Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gandjar, G.I., Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta
- Harmita, 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi metode dan Cara Perhitungannya. Departemen Farmasi FMIPA-UI. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. I, No. 3:117-135.
- Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fitokimia*. Depok : Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia ; 144-162.
- Hastuti, S. 2010. Analisis Kualitatif Formaldehid pada Ikan Asin di Madura. Madura : Fakultas Pertanian, Universitas Trunojoyo.
- Khomsan, A., dan Faisal Anwar. 2008. *Sehat Itu Mudah*. Mizan Publika, Jakarta.
- Susanti, S. 2010. Penetapan Kadar Formaldehid pada Tahu yang Dijual di Pasar Ciputat dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis disertai Kolorimetri Menggunakan Pereaksi Nash. [Skripsi]. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.