

Kimia

**VALIDASI METODE SPEKTROFOTOMETRI UV/VIS UNTUK
ANALISIS FORMALIN PADA SAMPEL IKAN**

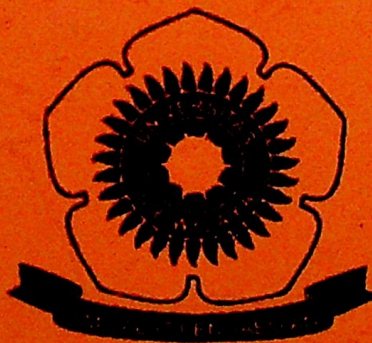
SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains di bidang Studi Kimia pada Fakultas MIPA**

Oleh :

Kennedy M Lumbangaol

08061003034



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2013

S
573.085 807
Lum
✓
2013

A. 25067/23622

**VALIDASI METODE SPEKTROFOTOMETRI UV/VIS UNTUK
ANALISIS FORMALIN PADA SAMPEL IKAN**



SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains di bidang Studi Kimia pada Fakultas MIPA**

Oleh :

Kennedy M Lumbangaol

08061003034



JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2013

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul Proposal Skripsi : Validasi Metode Spektrofotometri UV/VIS
Untuk Analisis Formalin Pada Sampel Ikan

Nama Mahasiswa : Kennedy M Lumbangaol

NIM : 08061003034

Jurusan : Kimia

Telah disetujui untuk disidangkan pada tanggal 29 Juli 2013

Indralaya, Juli 2013

Pembimbing :

1. Dr. Suheryanto, M.Si
NIP. 196006251989031006



.....

2. Widia Purwaningrum
NIP. 197304031999032001



.....

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Proposal Skripsi : Validasi Metode Spektrofotometri UV/VIS
Untuk Analisis Formalin Pada Sampel Ikan
Nama Mahasiswa : Kennedy M Lumbangaol
NIM : 08061003034
Jurusan : Kimia

Telah dipertahankan dihadapan pembimbing dan pembahas seminar hasil Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 18 Juli 2013 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukan yang diberikan.

Indralaya, Agustus 2013

Ketua :

1. Dr. Suheryanto, M.Si.
NIP. 196006251989031006



.....

Anggota :

2. Widia Purwaningrum, M.Si.
NIP. 197304031999032001


.....

3. Dra. Fatma, M.S.
NIP. 196207131991022001


.....

4. Zainal Fanani, M.Si.
NIP. 196708211995121001

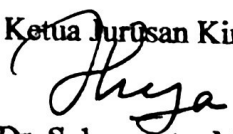

.....

5. Dr. Ferlina Hayati, M.Si.
NIP. 197402052000032001


.....

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kimia


Dr. Suheryanto, M.Si.

NIP.196006251989031006

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Kennedy M Lumbangaol
NIM : 08061003034
Fakultas/Jurusan : MIPA/Kimia

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 19 Juli 2013
Penulis

Kennedy M Lumbangaol
08061003034

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Kennedy M Lumbangaol
NIM : 08061003034
Fakultas/Jurusan : MIPA/Kimia
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-eksklusif (non-exclusively royalty-free right) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

“Validasi Metode Spektrofotometri UV/VIS Untuk Analisis Formalin Pada Sampel Ikan”

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalihmedia/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir dan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 19 Juli 2013
Yang menyatakan,

Kennedy M Lumbangaol
08061003034

HALAMAN PERSEMBAHAN

Kupersembahkan skripsi ini untuk :

***Keluargaku yang tercinta yang terus memberikan semangat bagiku untuk terus
berjuang***

Mama dan Bapak

Abang Andrew, Kak Betti dan Adik-adikku Daniel dan Kristian

KATA PENGANTAR

Terima Kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan penyertaannya lah penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa selama pengerjaan skripsi ini, mulai dari penelitian dan penulisan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bantuan baik moral maupun materi. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Suheryanto, M.Si selaku dosen pembimbing utama dan juga selaku ketua jurusan kimia yang telah bermurah hati menolong penulis.
2. Ibu Widia Purwaningrum, selaku dosen pembimbing pendamping yang sangat pengertian kepada penulis.
3. Bapak Zainal Fanani, M.Si selaku dosen pembimbing akademik.
4. Bapak Djati Gunawan yang secara ajaib ada dihadapan penulis untuk membantu penulis.
5. Bapak Murdiansyah Ichlas yang dengan sabar mendengarkan penulis yang terkadang bermalas-malasan dan memberikan pemikirannya.
6. Seluruh Bapak/Ibu dosen pengajar jurusan Kimia FMIPA Unsri.
7. Teman-teman yang membantu selama pengerjaan penelitian penulis.
8. Teman-teman di Gg. Lampung terkhusus angkatan 2006.
9. Teman-teman di kost Fernando Silaban, Hendra Zefri Pangaribuan, Dinner Hutapea, Hotmian Sitinjak, Dapot Sihombing, dan Andre

Sihombing yang bersedia memberikan tumpangan untuk tempat tinggal bagi penulis.

10. Keluarga saya yang selalu memberikan dukungan.

Demikianlah skripsi ini penulis persembahkan, sebagai sebuah karya fikir yang diharapkan dapat bermanfaat bagi kita semua. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyajian skripsi ini, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik demi kebaikan skripsi ini.

Penyusun

VALIDATION OF VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY METHOD TO ANALYZE FORMALIN IN FISH

By :

Kennedy M Lumbangaol

08061003034

ABSTRACT

The research about validation of visible spectrophotometry method to analyze formalin in fish had been done. The aim of this research was to determine several validation parameters such as precision, linearity, accuracy, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ). Formalin was added Nash reagent then detected using spectrophotometer at wave length 412 nm. The results of the research showed that validation parameters values for accuracy was 80.966%; standard deviation value for formalin was 1.228%; linearity value for formalin was 0.999 ; LOD was 0.0976 $\mu\text{g/mL}$ and LOQ was 0.32533 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Due to the result of the research, visible spectrophotometry method to analyze formalin in fish was valid.

Key words : Validation, spectrophotometry, LOQ, LOD

VALIDASI METODE SPEKTROFOTOMETRI UNTUK ANALISIS FORMALIN PADA SAMPEL IKAN

Oleh :

Kennedy M Lumbangaol

08061003034

ABSTRAK

Penelitian mengenai validasi metode spektrofotometri UV/VIS untuk menganalisa formalin pada ikan telah dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan beberapa parameter validasi seperti presisi, linearitas, akurasi, limit deteksi (LOD) dan limit kuantitasi (LOQ). Formalin ditambahkan reagen Nash kemudian dideteksi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 412 nm. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa nilai parameter validasi untuk akurasi adalah 80,966% ; presisi 1,228% ; linearitas (koefisien determinasi) R^2 kurva standar 0,999 ; LOD 0,0976 $\mu\text{g/mL}$; LOQ 0,32533 $\mu\text{g/mL}$ secara berturut-turut. Dari hasil penelitian , metode spektrofotometer UV/VIS untuk menganalisa formalin pada ikan adalah valid.

Kata kunci : Validasi, Spektrofotometer, LOQ, LOD

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
LEMBAR PERSEMBAHAN DAN MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRACT	ix
ABSTRAK	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Validasi Metode Analisis	5
2.2 Spektrofotometer	18
2.3 Formalin (Formaldehida)	24
2.4 Ikan Nila	27
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	33
3.2 Alat dan Bahan	33
3.3 Metode Penelitian	33
3.3.1 Pembuatan Pereaksi Nash	33
3.3.2 Pembuatan Larutan Asam Trikloro Asetat 5%	34
3.3.3 Pembuatan Larutan Standar	34
3.3.4 Prosedur Validasi Metode Analisis Formalin	34
3.3.4.1 Uji Presisi	34
3.3.4.2 Uji Linearitas	35
3.3.4.3 Uji Akurasi/Persen Perolehan Kembali	35
3.3.4.4 Uji Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Presisi	38
4.2 Linearitas	39
4.3 Akurasi	41
4.4 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)	43

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks	12
Tabel 2. Nilai Penetapan Faktor Eksperimental.....	17
Tabel 3. Absorbansi/serapan larutan standar formalin 1 ppm.....	38
Tabel 4. Absorbansi/serapan larutan standar formalin	40

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Spektra UV/VIS.....	19
Gambar 2. Skema Rangkaian Alat Spektrofotometer	21
Gambar 3. Proses Pendispersian Cahaya.....	22
Gambar 4. Struktur Molekul Formalin	24
Gambar 5. Ikan Nila	28
Gambar 6. Budidaya Ikan Nila	31
Gambar 7. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Formalin	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Linearitas	47
Lampiran 2. Perhitungan Persen Perolehan Kembali (Recovery).....	49
Lampiran 3. Perhitungan LOD dan LOQ	52
Lampiran 4. Perhitungan Presisi	54

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Formaldehida larut dalam air, tidak berwarna, berbau menyengat, menyebabkan iritasi dan gas yang reaktif. Larutan 40% formaldehida dalam air dikenal sebagai formalin. Dalam pengobatan, formalin digunakan sebagai pengawet spesimen bedah, untuk menangani pendarahan intravesical yang tidak terkendali dan mencegah penyebaran kista hidatidosa (Pandey *et al.*, 2000).

Asupan yang tinggi dari karbohidrat atau makanan kaya protein dipercaya meningkatkan pengeluaran formalin melalui urine. Asam formiat terbentuk secara alami pada hewan dan tumbuhan. Sebagai tambahan, beberapa bahan makanan dan minuman dilaporkan mengandung sebagian kecil asam formiat. Asam formiat secara sengaja ditambahkan pada beberapa bahan makanan sebagai penambah rasa. Keberadaan formaldehida juga telah dilaporkan pada minuman soft drink terkenal seperti beer pada konsentrasi kira-kira 8 mg/kg. Karena formalin dapat dijumpai pada berbagai sumber, selalu terdapat sejumlah formalin dalam darah. Keberadaan formalin dalam darah berkisar antara 0,07-0,4 mmol/l. Studi terhadap hewan menunjukkan kekurangan nutrisi seperti asam folat dan vitamin B₁₂ sebagai hasil akumulasi asam formiat dalam darah dan meningkatnya ekskresi formalin dalam urine. Asam formiat adalah inhibitor enzim seperti hexokinase dan kolinestrase. Asam formiat juga menghambat oksidasi suksinat dan glikolisis anaerob dan hal ini mempengaruhi fungsi fisiologis hati.



Pada konsentrasi kecil, formaldehida tidak beracun bagi manusia, tetapi bila terdapat dalam konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan keracunan parah. Formaldehida teroksidasi menjadi asam formiat oleh enzim FDH pada hati dan eritrosit. Batas normal asam formiat dalam darah pada manusia berkisar antara 0-12 mg/l, pada urine berkisar antara 0-27 mg/l, meskipun batas absolut toksiknya tidak diketahui. Studi terhadap hewan menunjukkan bahwa formaldehida merupakan mutagenik dan karsinogenik pada beberapa sistem eksperimental, menimbulkan kekhawtiran terhadap batasan normal untuk manusia (Pandey *et al.*, 2000). Walaupun studi epidemiologi telah dilangsungkan, tidak ada pernyataan secara definitif resikonya pada manusia.

Telah dilakukan banyak investigasi terhadap efek gas formaldehida. Berikut beberapa gejala jika terhirup gas formaldehida pada konsentrasi rendah seperti iritasi ringan pada sistem pernafasan dan membran mukosa, pada konsentrasi yang lebih tinggi dapat menyebabkan asma atau pnemounia. Reaksi formaldehida dengan molekul kecil seperti asam amino dan nukleotida menghasilkan konjugat yang tak stabil dan dapat menyebabkan perubahan terhadap fungsi hati, ginjal dan jaringan hemopotik.

Mengingat bahaya yang disebabkan oleh formalin dan adanya laporan penggunaan formalin pada makanan dan minuman perlu dikembangkan suatu metode uji yang mampu menganalisa kandungan formalin yang terdapat pada makanan dan minuman yang diduga ditambahkan formalin. Banyak metode analisa formalin yang telah dikembangkan seperti metode spektrofotometri UV/VIS, metode HPLC, metode spektrofotometri kinetik, enzimatik metode dan

lain-lain (Indang *et al.*, 2009). Metode-metode analisa yang dikembangkan atau hendak digunakan dalam analisa pada laboratorium harus dilakukan validasi maupun verifikasi yang bertujuan untuk menilai kelayakan penggunaannya. Validasi metode analisis dilakukan dengan menguji nilai-nilai parameter ujinya, seperti presisi, akurasi, kekuatan, linearitas, LOD, LOQ dan parameter-parameter tersebut harus memenuhi kriteria penerimaan (Inclendon *et al.*, 2004). Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004).

Pada penelitian ini akan dilakukan analisis formalin secara spektrofotometri UV/VIS dengan menggunakan reagent Nash untuk uji positif formalin serta melakukan validasi terhadap metode ini. Sampel yang dipakai adalah ikan nila yang dibeli dari pasar Indralaya. Pemilihan ikan nila sebagai sampel adalah karena ikan nila yang dijual masih dalam keadaan hidup sehingga dapat dipastikan belum terkontaminasi oleh formalin sehingga baik digunakan dalam penentuan persen recovery sampel dan harganya murah. Uji positif formalin yang ditambahkan reagent Nash adalah sampel yang diberi formalin akan berubah warnanya menjadi kuning.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana melaksanakan prosedur validasi metode analisis spektrofotometri UV/VIS dan menentukan nilai parameter validasi yang memenuhi kriteria penerimaan.

1.3 Tujuan Penelitian

Menentukan nilai presisi, akurasi, linearitas, LOD, LOQ metode analisis formalin secara spektrofotometri UV/VIS.

1.4 Manfaat Penelitian

Metode analisis formalin secara spektrofotometri yang telah divalidasi dapat digunakan untuk menganalisa kandungan formalin pada suatu sampel dengan hasil yang akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (2013). *Ikan Nila*. http://id.wikipedia.org/wiki/Ikan_nila. Diakses pada tanggal 14 juli 2013.
- Aswad, M., Aisyah F., Nursamsiar., dan Rahmawanti. (2011). *Validasi Metode Spektrofotometri Sinar Tampak Untuk Analisis Formalin Dalam Tahu*. Majalah Farmasi dan Farmakologi Vol 15, No.1, Hal 26 – 29
- Cahyadi, Wisnu. (2008). *Analisis Dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*, Edisi 2. Jakarta : Bumi Aksara.
- Ermer, J., and J.H. McB. Miller. (2005). *Method Validation in Pharmaceutical Analysis*. Weinhem : WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Grasas., and Aceites. (2002). *Validation of Analytical Methods*. Vol. 53. Fasc. 1, 128 – 143
- Hamdani, S., Siti U. H., Windari S., dan Romauli S. (2012). *Panduan Praktikum Kimia Analisis*. Bandung : Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
- Harmita, (2004). *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian Vol.1, No. 3, Hal. 117 – 135
- Huber, Ludwig. (2010). *Validation of Analytical Methods*. Germany : Agilent Technologies.
- Inclendon, Chantal., and Herman Lam. (2004). *Development and Validation Of Automated Methods*. Canada : GlaxoSmithKline Canada, Inc.
- Indang, M. Nur., A.S. Abdulamir., A. Abubakar., A.B. Salleh., Y.H. Lee., and Y. Nor Azah. (2009). *A Review : Methods of Determination of Health-Endangering Formaldehyde in Diet*. Research Journal of Pharmacology 3 (2), Hal 31-47
- Lindhoml, Johan. (2004). *Development and Validation of HPLC Methods for Analytical and Preparative Purposes*. Dissertation From the Faculty of Science and Technology Acta Universitatis Upsaliensis, Uppsala.
- Pandey, CK., A Agarwal., A Baronia., and N Singh. (2000). *Toxicity of Ingested Formalin and Its Management*. Department of Anaesthesiology and

Critical Care Medicine, Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences, Lucknow 226014, India.

Riyadi, Wahyu. (2009). *Validasi Metode Analisis*. http://www.chemistry.org/artikel_kimia/kimia_analisis/validasi-metode-analisis/. Diakses pada tanggal 5 Februari 2013.

Seran, Emel. (2011). *Pengertian Dasar Spektrofotometer Vis, UV, UV-Vis*. <https://wanibesak.wordpress.com/tag/spektrofotometer-uv-vis/>. Diakses pada tanggal 12 april 2012.

U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine. (2011). *Studies to Evaluate the Metabolism and Residue Kinetics of Veterinary Drugs in Food-Producing Animals : Validation of Analytical Method used in Residue Depletion Studies*.

Wulandari, Niken. (2007). *Validasi Metode Spektrofotometri Derivatif Ultraviolet Untuk Penentuan Reserpin Dalam Tablet Obat*. Skripsi Departemen Kimia FMIPA Institut Pertanian Bogor, Bogor.