

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tinjauan Pustaka**

##### **2.1.1 Bahan Tambahan Pangan (BTP)**

Definisi bahan tambahan pangan atau aditif makanan dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 33 tahun 2012 tentang Bahan tambahan pangan adalah bahan yang ditambah dan dicampurkan sewaktu pengolahan makanan untuk meningkatkan mutu. Bahan tambahan pangan terdiri dari bahan tambahan pangan alami dan buatan. Bahan tambahan pangan buatan diantaranya pewarna, pemanis, pengawet, penyedap, antioksidan, penambah aroma dan pengatur keasaman, sementara yang berasal dari bahan alami diantaranya pewarna dari tumbuhan, pemanis dari gula, pengawet dari garam, penyedap dari garam dan cabe dan pemberi aroma dari daun jeruk (Permenkes, 2012).

##### **a. Pengertian dan Tujuan Penggunaan**

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 33 Tahun 2012 yang dimaksud dengan bahan tambahan pangan adalah bahan yang biasanya tidak digunakan sebagai makanan dan biasanya bukan merupakan komponen khas makanan, mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang dengan sengaja ditambahkan ke dalam makanan untuk maksud teknologi pada pembuatan, pengolahan, penyiapan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, dan penyimpanan. Tujuan penggunaan bahan tambahan pangan yaitu untuk

meningkatkan atau mempertahankan nilai gizi dan mutu daya simpan, mempermudah pemberian bahan pangan, dan mempermudah penyiapan bahan pangan.

Persyaratan yang harus dipenuhi oleh bahan tambahan pangan agar menjamin keamanannya, yaitu bersifat netral atau tidak menimbulkan reaksi terhadap bahan lain pada makanan, tidak menyebabkan gangguan kesehatan pada konsumen, tidak mengeluarkan racun, merangsang atau menghilangkan rasa, dan menghambat kerja enzim.

#### **b. Jenis-Jenis Bahan Tambahan Pangan**

Secara umum bahan tambahan pangan sengaja ditambahkan ke dalam dua kelompok besar yaitu makanan dengan mengetahui komposisi bahan - bahan tersebut dan tujuan dari bahan tambahan tersebut yaitu dapat menjaga kesegaran, rasa dan membantu proses pengolahan sebagai contoh yaitu pengawet, pewarna, dan pengeras. Bahan tambahan pangan yang ditambahkan secara tidak benar, yaitu bahan non - fungsional dalam makanan, secara tidak sengaja ditemukan dalam jumlah kecil atau besar sebagai akibat dari tahapan dalam proses pembuatan, dan pengemasan. Bahan ini juga dapat berupa hasil kontaminasi dari suatu bahan yang ditambahkan dengan sengaja untuk menghasilkan residu yang terbawa masuk ke dalam makanan. Yang termasuk dalam residu kontaminasi ini adalah residu pestisida (termasuk pestisida, herbisida, fungisida, dan hewan pengerat), antibiotik, dan hidrokarbon aromatik polisiklik (Fadilah, 2017).

Menurut sumbernya, bahan tambahan pangan dapat berasal dari sumber

alami seperti lesitin, asam sitrat, dan masih banyak lagi. Bahan ini juga dapat disintesis dari bahan kimia yang memiliki sifat yang mirip dengan bahan alami yang serupa, baik dalam komposisi kimia maupun dalam sifat metabolisme, seperti:  $\beta$ -Karoten dan asam sorbat. Umumnya bahan sintetis memiliki kelebihan yaitu lebih pekat, lebih stabil dan lebih murah, namun juga memiliki kelemahan yaitu sering terjadi kesalahan proses, sehingga mengandung zat berbahaya dan terkadang bersifat karsinogenik yang dapat menyebabkan kanker pada hewan atau manusia (Fadilah, 2017).

Berikut adalah golongan Bahan tambahan pangan yang mendapatkan izin oleh Departemen kesehatan yang tercantum dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 33 Tahun 2012, yaitu:

- 1) Antioksidan
- 2) Antikempal
- 3) Pengatur Keasaman
- 4) Pemanis Buatan
- 5) Pemutih dan Pematang Telur
- 6) Pengemulsi, Pemantap, dan Pengental
- 7) Pengawet
- 8) Pengeras Pewarna
- 9) Penyedap dan Penguat Rasa serta Aroma, Penguat Rasa
- 10) Sekuesteran

Bahan tambahan pangan yang dilarang digunakan dalam makanan menurut Permenkes RI No. 33 Tahun 2012, sebagai berikut:

- 1) Natrium Tetraborat (Boraks)
- 2) Formalin
- 3) Minyak nabati yang dibrominasi
- 4) Kloramfenicol
- 5) Kalium Klorat
- 6) Dietilpirokarbonat
- 7) Nitrofuranzon
- 8) Asam salisilat dan garamnya

### **2.1.2 Zat Pengawet Makanan**

#### **a. Pengertian Zat Pengawet Makanan**

Pengawet adalah suatu bahan yang ditambahkan untuk mencegah atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan bebas dari proses penguraian (busuk). Bahan ini dapat mencegah atau menghambat fermentasi dan pengasaman pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Pengawetan adalah suatu cara atau prosedur yang digunakan manusia untuk mengawetkan makanan sedemikian rupa agar bahannya tahan lama (Berlian dkk., 2017). Secara ideal, bahan pengawet akan menghambat atau membunuh mikroba yang penting kemudian memecah senyawa berbahaya menjadi tidak berbahaya dan toksik. Bahan pengawet akan mempengaruhi dan menyeleksi jenis mikroba yang dapat hidup pada kondisi tersebut. Derajat penghambatan terhadap kerusakan bahan pangan oleh mikroba bervariasi dengan jenis bahan pengawet yang digunakan dan besarnya penghambatan ditentukan oleh konsentrasi bahan pengawet yang digunakan (Fadilah, 2017).

## **b. Tujuan Penambahan Zat Pengawet Makanan**

Secara umum, tujuan dari pemakaian pengawet pada makanan adalah untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen pembusuk dalam makanan dan untuk memperpanjang umur simpan makanan, tanpa mengurangi kualitas kandungan gizi, warna makanan, rasa, serta bau dari makanan tersebut. Penambahan bahan ini tidak boleh digunakan untuk menyembunyikan penggunaan yang salah atau bahan yang tidak sesuai serta tidak boleh digunakan untuk menyembunyikan kerusakan bahan makanan (Nasution dkk., 2018).

Bahan pengawet yang terdapat dalam makanan bekerja aktif dengan cara menghambat atau membunuh mikroba dan kemudian mengubah senyawa berbahaya menjadi tidak berbahaya dan tidak toksik. Bahan pengawet ini juga dapat mempengaruhi dan memilah jenis mikroba yang dapat hidup pada kondisi lingkungan tersebut. Variasi jenis bahan pengawet yang digunakan serta konsentrasi bahan pengawet yang digunakan akan mempengaruhi derajat penghambatan kerusakan bahan pangan oleh mikroba (Fadilah, 2017).

Berikut merupakan manfaat dari penggunaan bahan pengawet pada pangan yaitu:

- 1) Menghambat laju pertumbuhan mikroba pembusuk pada pangan baik yang bersifat patogen maupun yang tidak patogen.
- 2) Memperpanjang umur simpan pangan.
- 3) Mempertahankan kualitas gizi, warna, cita rasa, dan bau bahan pangan yang diawetkan.

- 4) Tidak untuk menyembunyikan keadaan pangan yang berkualitas rendah.
- 5) Penggunaannya tidak untuk menyembunyikan pemakaian bahan yang salah atau yang tidak memenuhi persyaratan.
- 6) Tidak digunakan untuk menyembunyikan kerusakan bahan pangan (Fadilah, 2017).

**c. Jenis Bahan Pengawet**

Menurut pakar gizi dari Rumah Sakit Bintaro Banten, zat pengawet dibedakan menjadi dua, yaitu :

- 1) GRAS (*Generally Recognized as Safe*) yang bersifat alami, aman digunakan dan tidak menyebabkan keracunan contohnya garam, gula dan asam cuka.
- 2) ADI (*Acceptable Daily Intake*) yang ditetapkan batas penggunaan hariannya guna melindungi kesehatan konsumen. Batasan berapa banyak konsumsi Bahan Tambahan Pangan (BTP) yang dapat diterima dan dicerna setiap hari sepanjang hayat tanpa mengalami resiko kesehatan (Susanti dkk, 2016).

Berdasarkan sumbernya, bahan pengawet dapat digolongkan menjadi dua yaitu:

1) Zat Pengawet Anorganik

Contoh dari pengawet ini seperti sulfit, hidrogen peroksida, nitrat dan nitrit. Selain mencegah pertumbuhan *Clostridium Botulinum*, bahan ini juga berefek untuk mempertahankan warna dan

menghambat pertumbuhan mikroba selama proses pengawetan daging.

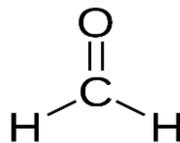
## 2) Zat Pengawet Organik

Pengawet organik lebih sering digunakan daripada pengawet non - organik karena lebih mudah disiapkan. Bahan organik ini digunakan baik sebagai asam maupun sebagai garamnya. Bahan kimia yang sering digunakan sebagai pengawet adalah asam askorbat, asam propionat, asam benzoat, asam asetat, dan epoksida. Pengawet organik umumnya digunakan pada produk olahan sayuran seperti roti, jus buah, minuman ringan, selai dan jeli (Fadilah, 2017).

### 2.1.3 Formalin (*Formaldehid*)

#### a. Pengertian Formalin (*Formaldehid*)

Formalin adalah senyawa kimia berupa gas dengan bau yang sangat menyengat. Formalin sebenarnya adalah bahan pengawet yang digunakan dalam pengobatan, misalnya sebagai pengawet mayat. Bahan ini juga biasa digunakan untuk konservasi hewan untuk tujuan penelitian. Formalin memiliki nama lain yaitu formaldehid, formol, metilen aldehid, paraforin, morbisida, metanal. Formalin memiliki massa molar 30,03 g/mol dengan titik leleh  $-92^{\circ}\text{C}$  dan titik didih  $-21^{\circ}\text{C}$ . Rumus struktur formalin adalah:



Gambar 2.1 Struktur Formalin (Shita, 2016)

Formalin adalah cairan tidak berwarna dan transparan, memiliki bau yang menyengat, dan uapnya dapat mengiritasi selaput lendir hidung dan tenggorokan, serta dapat memberikan sensasi rasa terbakar. Berat per milimeter adalah 1,08 gram. Formalin adalah larutan polar yang dapat larut dengan air dan alkohol, tetapi tidak dengan kloroform dan eter (Turnip, 2018).

**Tabel 2.1 Indeks Kepolaran Formalin (Utari, 2020)**

<b>Pelarut</b>	<b>Indeks Kepolaran</b>	<b>Titik Didih (°C)</b>	<b>Viskositas (cPoise)</b>	<b>Kelarutan dalam air (%w/w)</b>
n-heksana	0,0	69	0,33	0,001
Diklormetana	3,1	41	0,44	1,6
n-butanol	3,9	118	2,98	7,81
Iso-propanol	3,9	82	2,3	100
n-propanol	4,0	92	2,27	100
Kloroform	4,1	61	0,57	0,815
Etil Asetat	4,4	77	0,45	8,7
Aseton	5,1	56	0,32	100
Metanol	5,1	65	0,60	100
Etanol	5,2	78	1,20	100
Air	9,0	100	1,00	100

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan tentang BTP, formalin merupakan bahan berbahaya dan beracun serta tidak dapat digunakan sebagai bahan tambahan dalam makanan (Permenkes, 2012). Selama ini manfaat formalin disalahgunakan untuk pengalengan di industri makanan. Hal ini biasa terjadi karena tidak terdaftarnya dan terpantaunya penggunaan bahan tersebut oleh Kementerian Kesehatan dan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) setempat. Formalin sering disalahgunakan karena sangat murah dan mudah didapatkan. Formalin juga digunakan untuk reaksi kimia yang dapat

membentuk ikatan polimer yang dapat mencerahkan warna produk. Berdasarkan sifat tersebut, formalin banyak dimanfaatkan pada produk rumah tangga seperti piring, gelas dan mangkok yang terbuat dari plastik atau melamin. Jika produk - produk tersebut terkena makanan atau minuman panas, formalin yang terdapat di dalamnya akan ikut larut (Turnip, 2018).

#### **b. Fungsi Formalin**

Formalin dapat bermanfaat dalam kehidupan sehari - hari misalnya sebagai antibakteri atau pembunuh kuman seperti pembersih lantai, kapal, gudang dan pakaian, pengusir lalat dan berbagai serangga lainnya. Formalin dalam dunia fotografi dimanfaatkan untuk pengeras pada lapisan agar - agar dan kertas. Manfaat formalin dalam dunia industri sering digunakan sebagai bahan wewangian, pengawet kosmetik, pengeras kuku, dan bahan insulasi busa. Formalin juga digunakan sebagai perekat untuk produk kayu lapis dan sebagai penghambat korosi sumur minyak. Pada konsentrasi yang sangat rendah (kurang dari 1%), zat ini digunakan sebagai pengawet dalam berbagai produk konsumen seperti pembersih rumah tangga, cairan pencuci piring, pelembut, produk perawatan sepatu, sampo mobil, lilin, dan karpet (Negari dkk., 2006).

Formalin juga digunakan dalam industri perikanan untuk membasmi bakteri yang hidup pada sisik ikan. Formalin efektif digunakan untuk mengobati penyakit ikan yang disebabkan oleh ektoparasit seperti kulit tertusuk dan kulit lengket. Namun, zat ini sangat beracun bagi ikan. Ambang batas keamanannya sangat rendah sehingga ikan yang dirawat terkadang mati

karena formalin daripada karena penyakit. Formalin dalam dunia medis digunakan untuk mengawetkan mayat (Yuliarti, 2007).

### **c. Sifat Formalin**

Formalin mengandung senyawa aktif sebesar 35 - 40% dalam air dan ditambahkan metanol sebanyak 10 - 15 % sebagai penstabil dalam larutan. Formalin termasuk dalam golongan senyawa desinfektan kuat. Biasanya digunakan sebagai pengawet mayat, tetapi juga dapat digunakan sebagai pengawet makanan, tetapi tidak diperbolehkan menggunakan formalin sebagai pengawet dan aditif makanan. Formalin mudah larut dalam air, sangat aktif dalam kondisi basa, dan merupakan zat pereduksi yang kuat. Secara alami, formalin juga dapat ditemukan dalam asap selama pengasapan makanan, yang dicampur dengan fenol, keton dan resin. Saat menguap di udara, formalin adalah gas tidak berwarna dengan bau yang menyengat (Mark, 2009).

Pengawet ini mengandung unsur aldehida yang mudah bereaksi dengan protein, sehingga ketika dengan sengaja ditambahkan ke dalam makanan seperti tahu, formalin dapat mengikat unsur protein dari permukaan tahu hingga terus menembus ke dalam. Karena ikatan ini menyebabkan tahu menjadi lebih kenyal saat ditekan. Ikatan protein ini memiliki kekuatan pertahanan dari serangan bakteri pembusuk yang bisa menghasilkan senyawa asam (Santhi, 2017). Oleh sebab itu, tahu atau makanan berformalin lainnya menjadi lebih memiliki daya simpan lama.

Prinsip kerja dari formalin dalam membunuh bakteri adalah dengan cara membuat sel - sel bakteri mengering serta membentuk lapisan baru di

permukaan. Lapisan baru ini akan melindungi lapisan di bawahnya sehingga akan tahan terhadap serangan bakteri lain. Jika desinfektan lain membunuh bahan yang dilindungi dan menonaktifkan serangan bakteri dengan tidak bereaksi, formalin secara kimia tetap berada di dalam bahan untuk melindungi bahan tersebut dari serangan bakteri lebih lanjut (Santhi, 2017). Sifat formalin tersebut menjadikan formalin sangat berbahaya apabila masuk tubuh lewat makanan sehingga akan menyerang protein penyusun tubuh manusia seperti pada lambung dan menyebabkan bahaya yang besar.

#### **d. Bahaya Formalin Pada Tubuh**

Formalin sangat berbahaya bila terhirup, mengenai kulit dan tertelan. Formalin akan berdampak juga bagi kesehatan manusia bila tidak sengaja dikonsumsi. Dampak formalin pada kesehatan manusia, dapat bersifat :

##### 1). Akut

Memberikan efek pada kesehatan manusia secara langsung seperti iritasi, alergi, kemerahan, mata berair, mual, muntah, rasa terbakar, sakit perut dan pusing.

##### 2). Kronik

Memberikan efek pada kesehatan manusia yang terlihat setelah terkena dalam jangka waktu yang lama dan berulang seperti iritasi kemungkin parah, mata berair, gangguan pada pencernaan, hati, ginjal, pankreas, sistem saraf pusat, serta diduga bersifat karsinogen (menyebabkan kanker). Semua efek samping ini terjadi karena akumulasi formalin dalam tubuh.

Kekebalan tubuh sangat berperan pada berdampak tidaknya formalin jika sampai masuk dalam tubuh. Jika kekebalan tubuh rendah, formalin dengan kadar kecil sekalipun dapat berdampak buruk terhadap kesehatan. Secara mekanik, integritas mukosa usus dan gerakan usus merupakan pelindung masuknya zat asing ke dalam tubuh. Secara kimiawi asam lambung dan enzim pencernaan menyebabkan denaturasi zat berbahaya tersebut. Anak-anak, khususnya bayi dan balita, adalah salah satu kelompok usia yang rentan mengalami gangguan ini. Pada usia ini, sistem pertahanan tubuh tersebut masih lemah dan gagal berfungsi sehingga apabila formalin masuk ke dalam tubuh akan sulit untuk dikeluarkan. Hal yang sama juga terjadi pada penderita gangguan saluran cerna yang kronis seperti pada penderita autisme, penderita alergi dan sebagainya (Dewi, 2019).

#### **2.1.4 Tahu**

##### **a. Pengertian Tahu**

Tahu merupakan produk hasil koagulasi dari protein kedelai yang diendapkan dengan kalsium sulfat ( $\text{CaSO}_4$ ) atau asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). Kandungan jumlah protein pada tahu ditentukan oleh kandungan protein pada kedelai yang digunakan. Kedelai yang biasa digunakan untuk membuat tahu adalah kacang kedelai atau kacang hitam. Umumnya kedelai mengandung protein 35%, namun pada varietas kedelai yang baik kandungan proteinnya bisa mencapai 40 - 43%. Dibandingkan dengan beras, jagung, tepung tapioka, kacang hijau, daging, ikan segar dan telur, kandungan protein kedelai lebih tinggi, hampir sama dengan susu skim. Tahu diproduksi dengan memanfaatkan

sifat protein, yaitu akan menggumpal bila bereaksi dengan asam. Penggumpalan protein oleh asam akan berlangsung secara cepat dan serentak di seluruh bagian cairan sari kedelai, sehingga sebagian besar air yang semula tercampur dalam sari kedelai akan terperangkap di dalamnya. Pengeluaran air yang terperangkap tersebut dapat dilakukan dengan memberikan tekanan. Semakin besar tekanan yang diberikan, semakin banyak air dapat dikeluarkan dari gumpalan protein. Gumpalan protein itulah yang kemudian disebut sebagai tahu (Winarno, 1994). Terdapat dua jenis tahu yang biasa diproduksi yaitu tahu biasa dan tahu cina. Perbedaan dari kedua jenis tahu tersebut terletak pada bentuk dan cara pembuatannya (Rahmawati, 2013).

#### **b. Ciri- Ciri Tahu yang Mengandung Formalin**

Tahu yang berformalin mempunyai ciri-ciri antara lain tekstur kenyal, tidak padat tetapi tidak mudah hancur, awet sampai 3 hari pada suhu kamar, tahan sampai 15 hari dalam lemari es, dan aroma menyengat bau formalin (kadar 0,5 - 1,0 ppm). Semakin tinggi kandungan formalin, maka tercium bau obat yang semakin menyengat, sedangkan tahu tidak berformalin akan tercium bau protein kedelai yang khas. Tahu yang berformalin mempunyai sifat membal (jika ditekan terasa sangat kenyal), sedangkan tahu tak berformalin jika ditekan akan hancur. Tahu berformalin akan tahan lama, sedangkan yang tak berformalin hanya bertahan selama satu sampai dua hari (Rizqi & Razak, 2018).

### c. Mutu Tahu

Menurut Badan Standarisasi Nasional Indonesia, mutu tahu yang beredar harus memenuhi syarat yang dituangkan dalam SNI 01-3142-1998 yang disajikan dalam tabel dibawah ini.

**Tabel 2.2 Syarat Mutu Tahu**

No	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan :		
1.1	Bau		Normal
1.2	Rasa		Normal
1.3	Warna		putih normal atau kuning normal
1.4	Penampakan		normal tidak berlendir dan tidak berjamur
2	Abu	% (b/b)	maks. 1,0
3	Protein (N x 6,25)	% (b/b)	min. 9,0
4	Lemak	% (b/b)	min. 0,5
5	Serat kasar	% (b/b)	maks. 0,1
6	Bahan tambahan makanan	% (b/b)	Sesuai SNI 01-0222-1995 dan - Peraturan Men.Kes No 722/ Men.Kes/Per/IX/1988
7	Cemaran logam :		
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 2,0
7.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	maks. 30,0
7.3	Sang (Zn)	mg/kg	maks. 40,0
7.4	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40,0 / 250,0
7.5	Raksa (Hg)	mg/kg	maks. 0,03
8	Cemaran Arsen (As)	mg/kg	maks. 1,0
9	Cemaran mikroba :		
9.1	Escherichia Coll	APM/g	maks. 10
9.2	Salmonella	/25 g	Negatif

\*) Dikemas dalam kaleng

### 2.1.5 Spektrofotometri UV-Vis

#### a. Pengertian Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan perangkat yang digunakan untuk mengukur energi relatif ketika energi ditransmisikan atau dipantulkan sebagai fungsi spektrum panjang gelombang tertentu, dan fotometri adalah perangkat untuk

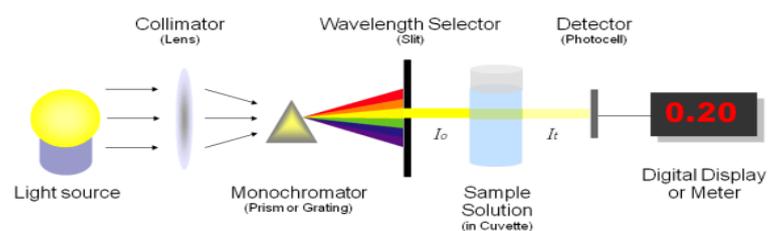
mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diserap (Irawan, 2019).

Sinar *ultraviolet (UV)* mempunyai panjang gelombang antara 200 - 400 nm, dan sinar tampak (*visible*) mempunyai panjang gelombang 400 - 750 nm. Spektrofotometer *UV-Vis* lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum *Lambert-Beer* (Turnip, 2018).

Keuntungan dari spektrofotometer untuk keperluan analisis kuantitatif adalah dapat digunakan secara luas, memiliki kepekaan yang tinggi, selektifannya cukup baik, dan tingkat ketelitian tinggi (Darwindra, 2010).

### b. Prinsip Spektrofotometer

Apabila ada cahaya (monokromatik maupun campuran) jatuh pada suatu medium homogen, sebagian dari sinar yang masuk akan dipantulkan dan sebagian akan diserap dalam medium itu sedangkan sisanya akan diteruskan (Khopkar, SM., 1990). Nilai yang keluar dari cahaya yang diteruskan dinyatakan dalam nilai absorbansi karena memiliki hubungan dengan konsentrasi sampel. Prinsip kerja dari spektrofotometer dapat di gambarkan sebagai berikut:



**Gambar 2.2 Pembacaan Spektrofotometer (Suhartati, 2017)**

Fungsi dari masing-masing bagian dalam perangkat spektrofotometer adalah sebagai berikut :

- 1). Sumber cahaya pada spektrofotometer harus memiliki pancaran radiasi yang stabil dan intensitasnya tinggi. Sumber cahaya pada spektrofotometer *UV-Vis* ada dua macam yaitu :

- a) Lampu Tungsten (*Wolfram*)

Lampu ini digunakan untuk mengukur sampel pada daerah tampak. Bentuk lampu ini mirip dengan bola lampu pijar biasa. Memiliki panjang gelombang antara 350 - 2200 nm. Spektrum radiasinya berupa garis lengkung dan umumnya memiliki waktu 1000 jam pemakaian.

- b) Lampu *Deuterium*

Lampu ini dipakai pada panjang gelombang 190 - 380 nm. Spektrum energi radiasinya lurus, dan digunakan untuk mengukur sampel yang terletak pada daerah *ultraviolet* dan memiliki waktu 500 jam pemakaian.

- 2). Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis.
- 3). Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel. Spektrofotometer menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik.

- 4). Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Macam-macam detektor yaitu detektor foto (*Photo detector*), *Photocell*, dan detektor panas
- 5). *Read out* merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor.

Pada spektrofotometri perlu diperhatikan beberapa hal penting, diantaranya sebagai berikut:

- 1) Pada saat pengenceran alat-alat yang digunakan harus benar- benar bersih tanpa adanya zat pengotor
- 2) Digunakan alat-alat yang steril.
- 3) Jumlah zat yang dipakai harus sesuai dengan yang telah ditentukan.
- 4) Dalam penggunaan spektrofotometri *UV-Vis* sampel harus jernih dan tidak keruh.
- 5) Dalam penggunaan spektrofotometri *UV-Vis*, sampel harus berwarna.

Suatu sampel dapat dianalisa menggunakan Spektrofotometri *UV - Vis*

jika memenuhi syarat sebagai berikut :

- 1) Bahan mempunyai gugus kromofor.
- 2) Bahan yang tidak mempunyai gugus kromofor harus berwarna.
- 3) Bahan tidak mempunyai gugus kromofor dan tidak berwarna, maka ditambahkan pereaksi warna.
- 4) Bahan tidak mempunyai gugus kromofor dibuat turunannya yang mempunyai gugus kromofor (Harmita, 2006).

Sampel pada spektrofotometri merupakan senyawa organik yang memiliki gugus kromofor dan auksokrom. Gugus kromofor adalah gugus fungsional tidak jenuh yang memberikan serapan pada daerah *ultraviolet* atau cahaya tampak. Hampir semua kromofor mempunyai ikatan rangkap seperti alkena (C=C), C=O, -NO<sub>2</sub>, benzena, dan lain-lain. Sedangkan auksokrom adalah gugus fungsional seperti -OH, -NH<sub>2</sub>, -X, yaitu gugus yang mempunyai elektron *nonbonding* dan tidak mengabsorpsi radiasi pada  $\lambda$  diatas 200 nm, akan tetapi mengabsorpsi radiasi *UV* jauh (Harmita, 2006).

Ruang lingkup spektroskopi serapan dapat diperluas dengan menggunakan reaksi warna, yang seringkali diiringi dengan peningkatan sensitivitas atau selektivitas. Reaksi warna digunakan untuk memodifikasi spektrum dari molekul pengabsorpsi sehingga dapat dideteksi pada daerah *visible*, dan terpisah dari senyawa pengganggu lain yang memiliki serapan di daerah *ultraviolet*. Selain itu, modifikasi kimia ini dapat digunakan untuk mengubah molekul yang tidak mengabsorpsi menjadi senyawa turunan yang stabil yang memiliki serapan yang bermakna (Khopkar, SM., 1990).

Panjang gelombang dimana absorpsi spektrum maksimum disebut panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks). Pengukuran ditunjukkan untuk menghitung jumlah senyawa dalam sampel. Jika konsentrasi senyawa semakin tinggi maka lebih banyak cahaya yang diabsorpsi oleh sampel. Panjang gelombang maksimum pada spektrofotometri digunakan dengan berbagai alasan yaitu sebagai berikut :

- 1) Panjang gelombang maksimum memiliki kepekaannya yang juga maksimum, perubahan absorbansi untuk setiap satuan adalah yang terbesar.
- 2) Panjang gelombang maksimum terbentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum *Lambert-Beer* akan terpenuhi.
- 3) Jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali (Sastrohamidjojo, 2007).

### c. Hukum *Lambert Beer*

Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang hamburkan diukur sebagai transmitansi (T), dinyatakan dengan hukum *Lambert-Beer* atau Hukum *Beer*, berbunyi: “Jumlah radiasi cahaya tampak (*ultraviolet*, inframerah dan sebagainya) yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan” (Irawan, 2019)

Berdasarkan hukum *Lambert-Beer*, rumus yang digunakan untuk menghitung banyaknya cahaya yang hamburkan:

$$T = \frac{I_t}{I_0} \text{ atau } \%T = \frac{I_t}{I_0} \times 100 \%$$

dan absorbansi dinyatakan dengan rumus:

$$A = -\log T = -\log \frac{I_t}{I_0}$$

dimana  $I_0$  merupakan intensitas cahaya datang dan  $I_t$  atau  $I_1$  adalah intensitas cahaya setelah melewati sampel. Rumus yang diturunkan dari Hukum *Beer* dapat ditulis sebagai:

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ atau } A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

dimana:

A = absorbansi

b / l = tebal larutan (tebal kuvet diperhitungkan juga umumnya 1 cm

c = konsentrasi larutan yang diukur

$\epsilon$  = tetapan absorbansi molar (jika konsentrasi larutan yang diukur dalam molar)

a = tetapan absorbansi (jika konsentrasi larutan yang diukur dalam ppm).

Bila Absorbansi (A) dihubungkan dengan Transmittan (T) = I/I<sub>0</sub> maka dapat diperoleh  $A = \log 1/T$ . *Absorptivitas* (a) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Tetapi tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi (Turnip, 2018).

#### **d. Warna komplementer**

Ketika radiasi atau cahaya putih dilewatkan melalui larutan pewarna, radiasi dengan panjang gelombang tertentu diserap secara selektif dan sinar lain ditransmisikan. Absorbansi maksimum larutan berwarna terjadi pada daerah warna yang berlawanan dengan warna yang diamati seperti misalnya pada larutan merah menyerap radiasi paling banyak di area hijau. Warna yang diserap adalah warna komplementer dari warna yang diamati (Gandjar & Rohman, 2007).

**Tabel 2.3 Spektrum Cahaya Tampak dan Warna-warna Komplementer (Shita, 2016)**

Panjang Gelombang (nm)	Warna	Warna Komplementer
400-435	Violet	Kuning-Hijau
435-480	Biru	Kuning
480-490	Hijau-Biru	Oranye
490-500	Biru-Hijau	Merah
500-560	Hijau	Ungu
560-580	Kuning-Hijau	Violet
580-595	Kuning	Biru
595-610	Oranye	Hijau-Biru
610-750	Merah	Biru-Hijau

#### e. Jenis - Jenis Spektrofotometer

Terdapat 2 tipe spektrofotometer yaitu spektrofotometer sinar tunggal (*single beam*) dan spektrofotometer sinar ganda (*double beam*). Spektrofotometer sinar tunggal dipakai untuk spektrum ultra ungu dan cahaya yang terlihat. Spektrofotometer sinar ganda dipergunakan baik dalam spektrum ultra ungu dan cahaya yang terlihat maupun dalam kawasan inframerah (Gandjar & Rohman, 2007).

##### 1). *Single Beam*

Spektrofotometri *Single-Beam* digunakan untuk analisis kuantitatif dengan cara mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Pengukuran sampel dan larutan standar harus dilakukan secara bergantian dengan sel yang sama (Suhartati T, 2013).

##### 2). *Double Beam*

Spektrofotometer *Double-Beam* mempunyai berkas sinar ganda, sehingga dalam pengukuran absorbansi tidak perlu bergantian antara sampel dan larutan blanko. Spektrofotometer *double beam* memakai

absorbansi (A) otomatis sebagai fungsi panjang gelombang (Suhartati T, 2013).

### 2.1.6 Verifikasi metode

Verifikasi metode analisis adalah suatu cara yang dapat menilai apakah metode analisis yang digunakan dalam percobaan di laboratorium tersebut memenuhi persyaratan untuk digunakan (Umbingo dkk, 2015). Tujuan verifikasi metode analisis adalah sebagai pembuktian bahwa berbagai metode analisis yang digunakan dalam pengujian dapat mencapai hasil yang diinginkan secara konsisten. Parameter verifikasi metode analisis meliputi akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi (*Limit Of Detection* dan *Limit Of Quantification*) serta selektivitas.

#### a. Uji Presisi

Presisi adalah ukuran tingkat keterulangan metode analisa yang ditampilkan sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Presisi dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*). Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi 2% atau kurang. Uji presisi digunakan untuk melihat ketelitian alat. Menurut Abdul Rohman (2014), semakin kecil nilai simpangan baku relatif dari serangkaian pengukuran, metode yang digunakan semakin presisi. Keseksamaan dapat dihitung dengan cara sebagai berikut :

1). Hasil analisis adalah

$$X_1, X_2, X_3, X_4, \dots, X_n$$

maka simpangan bakunya adalah :

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

2). Simpangan baku relatif atau koefisien variasi (KV) adalah

$$KV = SD/UPK \times 100 \%$$

(Harmita,2006).

#### **b. Uji Akurasi**

Uji akurasi dilakukan berdasarkan dari perbandingan data minimal 2 sampel yang mendapat perlakuan replikasi sebanyak 3 kali replikasi. Suatu metode analisis mempunyai akurasi yang baik apabila nilai persen perolehan kembali diantara 96 - 102%. Pendapat lain mengatakan akurasi yang baik antara 95 - 105 %, dan beberapa pendapat lainnya antara 80 - 120 %. Semakin kompleks penyiapan sampel dan semakin sulit metode analisis yang digunakan, maka hasil perolehan kembali yang diperbolehkan semakin rendah atau kisarannya semakin lebar (Umbingo dkk., 2015).

#### **c. Uji Linearitas**

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang 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. Penentuan linearitas dalam praktek, digunakan satu seri larutan yang berbeda konsentrasinya antara 50 - 150% kadar analit dalam sampel. Di dalam pustaka, sering ditemukan rentang konsentrasi yang digunakan antara 0 - 200%.

Jumlah sampel yang dianalisis sekurang - kurangnya delapan buah sampel blanko. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi  $r$  pada analisis regresi linier  $y = a + bx$ . Untuk memperoleh nilai  $a$  dan  $b$  digunakan metode kuadrat terkecil ( Umbingo dkk.,2015).

**d. Uji Batas Deteksi ( *Limit Of Detection, LOD* dan ( *Limit Of Quantification, LOQ* )**

Uji batas deteksi bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah formalin yang masih dapat dideteksi. Pada analisis, batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blanko dan formula di bawah ini dapat digunakan untuk perhitungan (Umbingo dkk.,2015).

**2.1.7 Pereaksi Nash**

Pereaksi Nash terdiri dari 2 mL asetil aseton, 3 mL asam asetat glasial, dan 150 gram amonium asetat yang diencerkan dengan aquadest hingga 1000 mL. Pereaksi *nash* merupakan pereaksi spesifik untuk *formaldehida* dan dapat digunakan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif (Aswad dkk., 2011).

*Formaldehid* merupakan senyawa yang tidak memiliki gugus kromofor. Syarat senyawa yang dapat diukur serapannya dengan alat spektrofometer *UV-Vis* adalah senyawa organik yang dapat memberikan serapan yaitu senyawa yang memiliki gugus kromofor. Gugus kromofor adalah gugus fungsional tidak jenuh yang memberikan serapan pada daerah *ultraviolet* atau cahaya tampak. Oleh karena itu, pada proses pengukuran sampel direaksikan dengan pereaksi yang dapat memberikan spektrum serapan

bewarna dengan *formaldehid* yaitu pereaksi *nash*. Campurannya dengan formalin dapat memberikan warna kuning terang akibat terhidrolisis ke bentuk enol (Umbingo dkk., 2015).

Formalin dengan penambahan pereaksi *nash* di sertai pemanasan 30 menit akan menghasilkan warna kuning yang menetap sehingga dapat diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 400 - 800 nm (Sari & Dira, 2017). Warna yang terbentuk akan semakin intens sejajar dengan semakin tingginya konsentrasi karena jumlah analit yang semakin banyak dalam larutan (Umbingo dkk., 2015). Semakin kuning warna larutan yang didapat maka konsentrasi formalin yang didapat dalam sampel juga semakin besar (Denia dkk, 2019).

## **2.2 Landasan Teori**

Formalin adalah salah satu bahan pengawet yang dilarang penggunaannya untuk bahan pangan atau makanan. Meskipun demikian, formalin masih sangat umum digunakan oleh pedagang sebagai bahan pengawet makanan yang ditambahkan dengan tujuan untuk memperpanjang daya simpannya (Lubis, 2016). Formalin sangat banyak dipakai karena sifatnya yang memiliki kemampuan cukup baik dalam mengawetkan makanan, memiliki harga murah dan mudah didapatkan. Pedagang sering menambahkan formalin dalam makanan serta olahannya yang tidak tahan lama untuk mengurangi kerugian jika barang dagangan tidak habis terjual (Lubis, 2016).

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 33

Tahun 2012, formalin merupakan salah satu bahan tambahan makanan yang dilarang digunakan dalam makanan, sehingga serendah atau sekecil apapun konsentrasi formalin dalam bahan pangan tidak diperbolehkan (Sari & Dira, 2017).

Formalin dapat menyebabkan keracunan dengan gejala sakit perut akut, muntah - muntah, diare, perubahan sel dan jaringan tubuh serta bersifat karsinogen. Paparan formalin dapat menyebabkan turunnya kadar antioksidan dalam tubuh seperti *superoksid dismutase* dan *glutathione* tereduksi, dan meningkatkan produksi senyawa *reactive oxygen species (ROS)* yang dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan kerusakan lipid, protein bahkan DNA yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan pada hati (Zakaria dkk., 2014).

Sidak yang dilakukan oleh Satuan Reserse dan Kriminal Ponorogo yang bekerja sama dengan Laboratorium Analis Kimia, Farmasi dan Makanan melaksanakan pengecekan pada sebuah pabrik tahu yang beroperasi di Ponorogo Jawa Timur dan menemukan bahwa semua tahu yang diproduksi oleh pabrik ini positif mengandung formalin. Pabrik yang beroperasi sejak tahun 2004 itu setiap harinya memproduksi sebanyak 1,5 ton tahu (DetikNews, 2018). Temuan serupa juga dilakukan oleh Rizqi & Rahmi (2018) di Pasar Tradisional dan Swalayan Kota Sidoharjo Jawa Timur menemukan bahwa terdapat 10 dari 16 sampel tahu positif mengandung formalin. Tahu putih yang positif mengandung formalin rata-rata memiliki warna putih pucat sampai kekuningan dan mengkilap, tekstur yang padat, kenyal hingga keras, dan aroma yang sedikit khas tahu.

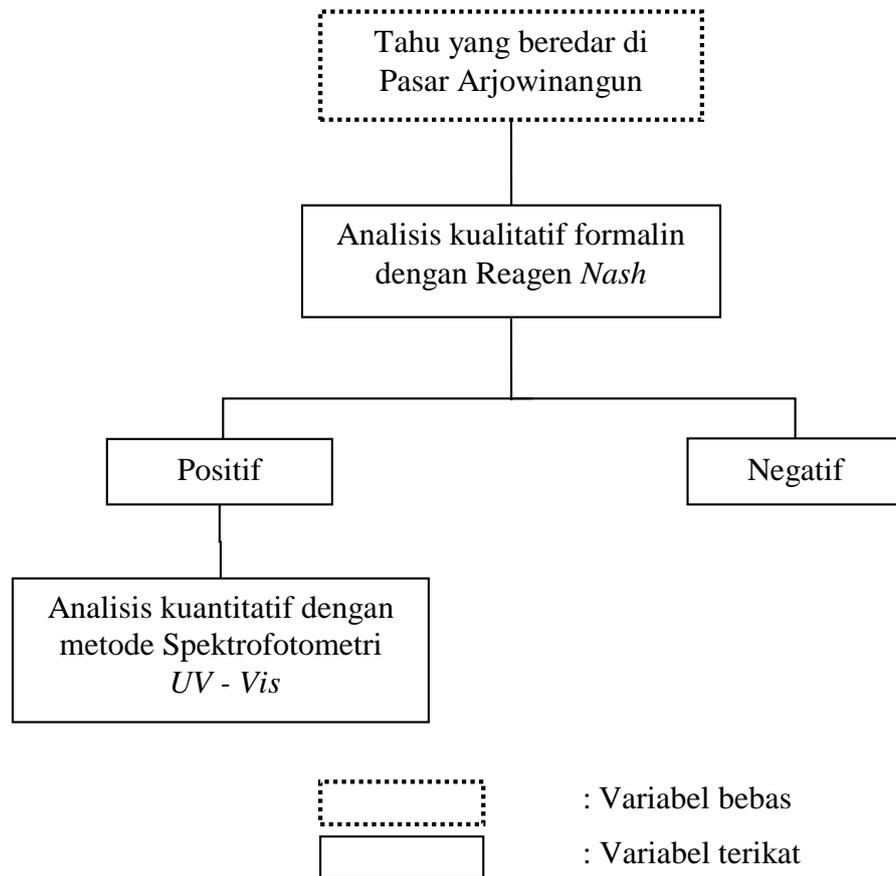
Formalin dapat dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis*. Spektrofotometer *UV-Vis* digunakan untuk analisis spektroskopi yang memakai

sumber radiasi elektromagnetik *ultraviolet* dekat (200 - 350 nm) dan sinar tampak (350 - 800nm) (Wulandari dkk., 2019). Spektrofotometri *UV-Vis* digunakan untuk menentukan jenis kromofor dan auksokrom pada suatu sampel senyawa organik, memberikan informasi struktur senyawa berdasarkan panjang gelombang maksimum, menganalisis suatu senyawa organik secara kuantitatif dengan Hukum *Lambert-Beer* (Dachriyanus, 2017).

Pada proses pengukuran dengan spektrofotometri *UV- Vis*, larutan formalin yang merupakan larutan tidak berwarna dilakukan penambahan pereaksi *Nash* dan didapat larutan warna kuning dengan gugus kromofor yang memberikan serapan pada daerah *ultraviolet* serta warna yang terbentuk akan semakin intens sejajar dengan semakin tingginya konsentrasi karena jumlah analit yang semakin banyak dalam larutan (Umbingo dkk., 2015).

Berdasarkan literatur panjang gelombang teoritis untuk formalin dengan reagen *nash* yaitu 412 – 415 nm (Umbingo dkk., 2015). Pengukuran panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mendapatkan serapan optimum formalin di dalam sampel serta pengukuran pada panjang gelombang maksimum memiliki kepekaan yang maksimal (Gandjar & Rohman, 2007).

### 2.3 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Kerangka konsep

### 2.4 Hipotesis

$H_0$  : Terdapat kandungan formalin pada tahu yang beredar di Pasar Arjowinangun Kabupaten Pacitan.

$H_1$  : Tidak terdapat kandungan formalin pada tahu yang beredar di Pasar Arjowinangun Kabupaten Pacitan.