

# Pengembangan Strip Tes Berbasis Pararosanilina untuk Deteksi Formalin pada Sampel Tahu (Development of Strip Test Based on Pararosaniline for Detection of Formaldehyde in Tofu)

Alni Riskyna, Bambang Kuswandi, Indah Purnama Sary  
Fakultas Farmasi, Universitas Jember  
Jln. Kalimantan no 37, Jember 68121  
e-mail korespondensi: b.kuswandi@gmail.com

## Abstract

Test strip based on pararosaniline has been developed for formaldehyde detection in tofu samples. The test strip as a formaldehyde sensors has been fabricated by immobilizing pararosaniline on whatman filter paper. The test strip was characterized for linearity, detection limit, quantitation limit, selectivity, accuracy and precision. It has response time at 4 minutes and good linearity was achieved in the concentration range of 2-80 ppm with correlation coefficient of ( $r$ ) 0.999. The detection limit and quantitation limit were 0.048 ppm and 0.161 ppm, respectively. The RSD of reproducibility was found 8.04%, where recovery was 80-110%. The life time of the test strip was 14 days when it was stored at 4°C. The test strip has been successfully applied to detect formaldehyde in tofu samples. The result also shown in agreement with spectrophotometry uv-vis method.

**Keywords:** formalin, pararosaniline, tofu, immobilization, strip test

## Abstrak

Strip tes berbasis pararosanilina dikembangkan untuk deteksi formalin pada sampel tahu. Strip tes sebagai sensor formalin dibuat dengan mengimobilisasi pararosanilina pada kertas saring *whatmann*. Karakterisasi yang dilakukan pada strip tes meliputi linieritas, limit deteksi, limit kuantitasi, selektivitas, akurasi, dan presisi. Strip tes memiliki waktu respon 4 menit dan memiliki linieritas yang baik pada rentang konsentrasi 2-80 ppm dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) 0,999. Batas deteksi dan batas kuantitasi strip tes adalah sebesar 0,048 ppm and 0,161 ppm. Nilai RSD dari pengujian reproduktibilitas strip tes adalah 8.04% dan nilai rata-rata dari *recovery* berada pada rentang 80-110 %. Waktu pakai dari strip tes yaitu 14 hari dengan kondisi penyimpanan pada suhu 4°C. Strip tes telah berhasil diterapkan untuk deteksi formalin pada sampel tahu. Hasilnya juga berkesesuaian dengan metode spektrofotometri Uv-vis.

**Kata kunci:** formalin, pararosanilina, tahu, imobilisasi, strip tes

## Pendahuluan

Pengolahan makanan membutuhkan cara pengawetan yang dapat mengawetkan makanan sampai beberapa waktu kemudian tanpa mengalami kerusakan atau perubahan penampilan. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengawetkan makanan adalah menggunakan bahan kimia sebagai pengawet. Salah satu bahan kimia yang banyak digunakan adalah formalin. Badan POM telah melakukan pengujian pada beberapa sampel makanan dan

ditemukan formalin banyak ditemukan dalam sampel tahu [1]. Formalin adalah larutan *aqueous* dari formaldehida, yang biasanya mengandung sekitar 37-40 % formaldehida. Pemejatan formalin ke dalam tubuh manusia dapat terjadi melalui pernapasan, mulut, dan kontak kulit [2]. Efek yang ditimbulkan dapat berupa luka bakar pada kulit, iritasi pada saluran pernafasan, reaksi alergi dan bahaya kanker pada manusia. Konsentrasi formalin yang tinggi dalam tubuh dapat menimbulkan reaksi kimia

dengan hampir semua zat di dalam sel, sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan kerusakan organ tubuh. Kerusakan di dalam sel terjadi karena formalin mengkoagulasi protein yang terdapat pada protoplasma dan nukleus [3].

Formalin merupakan salah satu bahan tambahan yang dilarang penggunaannya dalam makanan. Formalin juga digolongkan sebagai karsinogenik pada manusia oleh *International Agency for Research on Cancer* (IARC) [4]. Oleh karena itu, pada penelitian ini dikembangkan metode alternatif untuk deteksi formalin dalam sampel tahu yaitu sensor kimia berupa strip tes yang diimobilisasi dengan reagen pararosanilina. Imobilisasi merupakan suatu proses pengikatan molekul reagen pada bahan pendukung, sehingga molekul reagen dapat tersebar di dalam fasa pendukung tersebut secara merata dan homogen [5]. Strip tes akan memberikan kesimpulan yang cepat pada pengguna mengenai ada atau tidaknya formalin dalam sampel dan sebagai alat pra-seleksi yang membuat analisis hemat biaya dan waktu.

## Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium yang dilakukan di Laboratorium *Chemo and Biosensor* dan Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi Universitas Jember. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah reagen pararosanilina hidroklorida (sigma-aldrich), HCl 4N, formalin, akuades, kertas *whatman* (No 1001 150), tahu dari Kota Jember.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *scanner* (*Scanoscan\_cannon*), neraca analitik, *ultrasonic cleaner* (*Elmasonic*), program *imageJ*, spektrofotometer Uv-Vis (Hitachi U-1800), program *validation method of analysis*, *sentrifuge* (Hermle Z206A).

## Fabrikasi strip tes

Fabrikasi strip tes dilakukan dengan menentukan desain strip tes yang sesuai. Teknik imobilisasi adsorpsi dipilih untuk mengimobilisasi reagen ke dalam area deteksi strip tes.

## Optimasi strip tes

Optimasi dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum yang akan diimobilisasi ke dalam strip tes.

### a. Optimasi volume reagen

Optimasi volume reagen dilakukan dengan mengimobilisasi reagen ke dalam strip tes dengan volume 2  $\mu\text{L}$ , 4  $\mu\text{L}$  dan 6  $\mu\text{L}$ . Volume reagen yang optimal ditentukan dengan volume reagen yang dapat memenuhi area deteksi dari strip tes.

### b. Optimasi konsentrasi reagen

Optimasi konsentrasi reagen dilakukan dengan membuat konsentrasi reagen 1.000 ppm, 2.000 ppm, 3.000 ppm, 4.000 ppm, 5.000 ppm. Konsentrasi reagen optimal ditentukan dengan konsentrasi yang memberikan perubahan warna yang signifikan dan mempunyai nilai  $\Delta$  *mean* RGB yang paling besar.

## Karakterisasi strip tes

Karakteristik strip tes berbasis reagen pararosanilina untuk deteksi formalin dalam sampel tahu dalam penelitian ini meliputi waktu respon, waktu pakai, linieritas, batas deteksi dan kuantitasi, selektivitas, presisi dan akurasi.

### a. Waktu respon

Waktu respon strip tes dilakukan dengan mencelupkan strip tes yang telah diimobilisasi reagen ke dalam standar formalin 10 ppm kemudian dihitung nilai  $\Delta$  *mean* RGB tiap menit. Waktu respon yang baik ditunjukkan dengan waktu yang menunjukkan nilai  $\Delta$  *mean* RGB yang stabil.

### b. Waktu pakai

Waktu pakai strip tes dilakukan dengan menyimpan strip tes yang dibungkus dengan aluminium foil pada suhu ruang dan suhu lemari es. Kemudian setiap hari diaplikasikan pada standar formalin 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dan dihitung nilai  $\Delta$  *mean* RGB. Waktu pakai ditandai dengan penurunan nilai  $\Delta$  *mean* RGB yang kurang dari 15%.

### c. Linieritas

Linieritas dilakukan dengan membuat formalin dengan konsentrasi 2, 4, 8, 10, 20, 30, 50 dan 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Kemudian strip tes yang telah diimobilisasi diaplikasikan pada seri konsentrasi tersebut kemudian dibuat kurva linieritas. Dikatakan linier jika nilai koefisien korelasi (*r*) mendekati 1.

d. *Limited of Detection & Limited of Quantitation* (LOD & LOQ)

LOD & LOQ dilakukan dengan membuat formalin dengan konsentrasi 1; 0,5; 0,3; 0,1 dan 0,05  $\mu\text{g/mL}$ . Kemudian strip tes yang telah diimmobilisasi reagen diaplikasikan pada beberapa konsentrasi tersebut. Setelah didapat nilai  $X_p$  kemudian dihitung nilai LOD.

e. Selektivitas

Selektivitas dilakukan dengan membuat standar formalin 10  $\mu\text{g/mL}$  diukur  $\Delta$  *mean* RGBnya, kemudian standar formalin 10  $\mu\text{g/mL}$  ditambah cuka dengan perbandingan konsentrasi 1:1, 1:10, 1:100, setelah itu perubahan warna yang terjadi dihitung nilai  $\Delta$  *mean* RGB antara standar tanpa komponen pengganggu dan standar dengan komponen pengganggu. Setelah didapatkan  $\Delta$  *mean* RGB, dihitung nilai interferens.

f. Presisi

Penentuan presisi dapat ditentukan dengan menghitung standar deviasi relatif (RSD) dari 6 kali pengukuran. Pada setiap pengukuran digunakan strip tes yang berbeda. Penentuan presisi dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 100 gram sampel tahu yang dicampurkan dengan formalin 100 ppm. Kemudian menimbang 5 g tahu disentrifus selama 20 menit. Kemudian ambil 1 ml filtrat ad 10 ml. Data diukur menggunakan program *ImageJ*. Sehingga akan didapat nilai  $\Delta$  *mean* RGB.

g. Akurasi

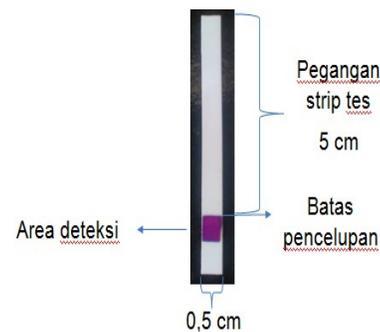
Penentuan akurasi dilakukan dengan penambahan standar adisi yaitu dengan menghitung *recovery* dari tiap pengulangan pengukuran terhadap sampel yang telah diberi penambahan larutan standar sebesar 30, 45, dan 60 % dari konsentrasi uji. Penentuan akurasi dilakukan dengan menimbang 5 g sampel kemudian disentrifugasi selama 20 menit. Ambil 1 ml filtrat hingga 10 ml akuades. Kemudian celupkan strip tes kedalam larutan tersebut dan hitung nilai  $\Delta$  *mean* RGB nya. Kemudian nilai  $\Delta$  *mean* RGB hasil pengukuran dimasukkan ke dalam persamaan regresi sehingga diperoleh konsentrasi formalin dalam sampel. Konsentrasi formalin yang diperoleh akan dapat ditentukan massa formalin yang terdapat dalam sampel. Masa formalin hasil pengukuran tersebut dibandingkan dengan massa formalin secara teoritis, sehingga dapat ditentukan harga *recovery*.

h. Aplikasi Metode Strip Tes pada Sampel Tahu dibandingkan Metode Spektrofotometri Uv-Vis.

Sampel tahu digerus sampai halus, kemudian ditimbang sebanyak 5 g lalu dilarutkan dengan 10 ml aquades dan diultrasonik selama 15 menit. Larutan tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan endapan dan filtrat. Filtrat yang diperoleh disaring dengan kertas *whatman* dan siap untuk dianalisa dengan strip tes. Pada pengujian menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis dilakukan dengan mengukur absorbansi dari sampel pada panjang gelombang maksimum. Nilai absorbansi yang diperoleh dapat ditentukan konsentrasi formalin dalam sampel. Hasil pengukuran dari beberapa metode tersebut selanjutnya dibandingkan dengan *one way anova*.

### Hasil Penelitian

Hasil fabrikasi strip tes berbasis pararosanilina ditunjukkan pada Gambar 1.



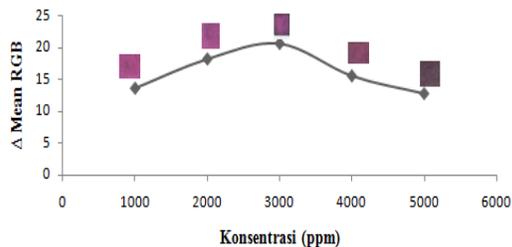
Gambar 1. Fabrikasi strip tes berbasis pararosanilina

Hasil optimasi konsentrasi reagen ditunjukkan pada Gambar 2.



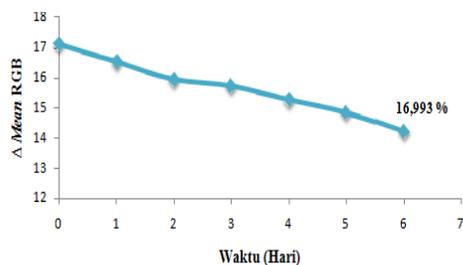
Gambar 2. Optimasi volume reagen optimal

Konsentrasi 3.000 ppm merupakan konsentrasi reagen yang optimum, ditandai dengan nilai  $\Delta$  *mean* RGB yang paling besar dari konsentrasi yang lainnya seperti yang dapat dilihat pada Gambar 3.

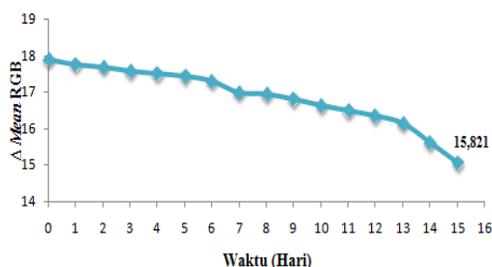


Gambar 3. Optimasi konsentrasi optimal

Waktu pakai strip tes disimpan dalam suhu ruang dan suhu lemari es. Hasil yang didapat ditunjukkan pada Gambar 4 dan Gambar 5.



Gambar 4. Hasil pengukuran waktu respon strip tes pada suhu ruang



Gambar 5. Hasil pengukuran waktu respon strip tes pada lemari es

## Pembahasan

Hasil pengembangan strip tes berbasis pararosanilina hidroklorida menunjukkan bahwa Sensor formalin difabrikasikan berupa strip tes. Strip tes dapat diartikan sebagai bentuk miniatur fisik dari suatu sistem sensor sebagai piranti analisis. Strip tes tersebut terbuat dari dua bagian yaitu area deteksi berukuran 0,5 cm x 0,5 cm dan pegangan. Area deteksi strip tes berbahan kertas *whatman* dengan ukuran pori-pori < 10 μm, yang berasal dari bahan selulosa. Selulosa memiliki sifat sebagai adsorben

sehingga mampu mengadsorbsi suatu reagen dan dapat diimobilisasi dengan mudah.

Volume reagen optimal dipilih 4 μl. Karena volume 4 μl dapat memenuhi area deteksi dibandingkan dengan 2 μl. Sedangkan dengan volume 6 μl area deteksi terlalu basah. konsentrasi reagen optimal dipilih 3.000 ppm. Karena mempunyai nilai  $\Delta$  mean RGB paling besar dan memberikan perubahan warna yang signifikan.

Waktu respon strip menunjukkan pada menit pertama hingga ketiga  $\Delta$  mean RGB belum stabil. Sedangkan pada menit keempat nilai  $\Delta$  mean RGB sudah stabil. Sehingga waktu respon strip tes adalah empat menit.

Waktu pakai strip tes pada suhu ruang adalah lima hari. Karena pada hari keenam strip tes mengalami penurunan respon lebih dari 15 %, yaitu sebesar 16,993 %. sedangkan pada suhu lemari es, waktu wakai strip tes 14 hari. Pada hari kelima belas strip tes telah mengalami penurunan sebesar 15,821 %

Pengukuran linieritas dengan program *ImageJ* yang diperoleh dari kurva kalibrasi adalah  $y = 14,777 + 0,199x$  dengan nilai  $r = 0,999$ . Sedangkan pada pengukuran linieritas dengan metode spektrofotometri Uv-Vis diperoleh nilai  $y = 0,351 + 0,008x$  dengan  $r = 0,999$ . Harga  $r$  yang mendekati  $\pm 1$  membuktikan adanya hubungan linier antara konsentrasi analit terhadap respon sensor [1]. Pada pengukuran menggunakan program *ImageJ* diperoleh nilai  $V_{xo} = 1,660$  % dan nilai  $X_p = 1,832$ . Sedangkan dengan spektrofotometri Uv-Vis diperoleh nilai  $V_{xo} = 1,751$  % dan nilai  $X_p = 1,933$ . Nilai  $V_{xo}$  dan  $X_p$  yang dihasilkan memenuhi kriteria yang diperbolehkan, yaitu untuk nilai  $V_{xo}$  yang diterima tidak boleh lebih dari 5% dan nilai  $X_p$  yang diterima harus kurang dari konsentrasi minimum pada kurva yaitu 2 μg/mL [6].

LOD dan LOQ dengan menggunakan program *ImageJ* dan Spektrofotometri Uv-Vis sama yaitu berturut-turut 0,048 dan 0,161 μg/mL. Berdasarkan hasil pengukuran  $\Delta$  mean RGB selektivitas, diketahui bahwa air cuka tidak mengganggu pengukuran respon sensor pada berbagai perbandingan. Hal ini diketahui dari secara visual dan dari nilai  $\Delta$  mean RGB yang tidak berbeda signifikan dengan standar formalin 10 μg/mL. Selain itu, jika dilihat dari interferensi yang dihasilkan, air cuka masih memenuhi syarat yang ditetapkan yaitu < 5%. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa sensor formalin bekerja dengan baik pada sampel tahu.

Berdasarkan data yang diperoleh, diketahui bahwa nilai RSD dengan

menggunakan program *ImageJ* dan Spektrofotometri Uv-Vis berturut-turut sebesar 7,184 % dan 6,99 %. Nilai RSD yang dipersyaratkan untuk konsentrasi analit sebesar 0,001% adalah < 7,3 % [6]. Dari hasil uji presisi yang telah dilakukan disimpulkan bahwa metode strip tes menggunakan preparasi sampel standar dapat memenuhi parameter presisi.

Berdasarkan data hasil pengujian akurasi dapat disimpulkan bahwa metode strip tes untuk deteksi formalin pada sampel tahu telah memenuhi isyarat akurasi yaitu dengan melihat *recovery* rata-rata sebesar 101,305 % dengan program *ImageJ* dan 100,355 % dengan menggunakan spektrofotometri Uv-Vis. Nilai *recovery* untuk konsentrasi analit sebesar 0,001 % adalah 80-110 % [6], sehingga dapat dikatakan metode strip tes untuk deteksi formalin pada sampel tahu akurat.

Berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan uji *one way anova* dapat diketahui bahwa kedua metode yang digunakan tidak berbeda secara signifikan. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai signifikansi yang diperoleh dari uji sebesar 1. Ketiga metode dapat dikatakan tidak berbeda secara signifikan apabila nilai signifikansi dari uji > 0,05. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa metode strip tes sebagai sensor formalin dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk mengukur kandungan formalin pada produk tahu yang beredar di pasaran. Hasil pengujian lima sampel dengan *one way anova* dengan tingkat kepercayaan 95 % dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel. 1 Hasil pengujian lima sampel dengan uji *one way anova*

Sampel	Metode		
	Strip tes celup (ppm)	Strip tes tusuk (ppm)	Spektrofotometri Uv-vis
A	63,1 <sup>a</sup>	63,07 <sup>a</sup>	63,54 <sup>a</sup>
B	80,32 <sup>b</sup>	80,28 <sup>b</sup>	79,88 <sup>b</sup>
C	43,9 <sup>c</sup>	43,9 <sup>c</sup>	43,63 <sup>c</sup>
D	79,41 <sup>d</sup>	79,42 <sup>d</sup>	79,88 <sup>d</sup>
E	27,1 <sup>e</sup>	27,07 <sup>e</sup>	27,38 <sup>e</sup>

Keterangan: notasi huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antar sampel yang sama (Anova, p > 0,05)

## Simpulan dan Saran

Strip tes berbasis pararosanilina yang dikembangkan menunjukkan bahwa pada beberapa pengujian yang telah dilakukan memenuhi persyaratan sehingga strip tes ini dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk mendeteksi formalin dalam sampel tahu yang ada dipasaran. Penelitian yang perlu dikembangkan selanjutnya berkaitan dengan waktu pakai pada suhu ruang agar bisa ditingkatkan karena strip tes ini digunakan pada suhu ruang. Kemudian berkaitan dengan selektivitas, penelitian selanjutnya diharapkan dapat menemukan komponen pengganggu lain yang dapat mempengaruhi kerja sensor sehingga strip ini bisa digunakan untuk deteksi formalin pada sampel makanan lain.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada *Chemo and Biosensor Group* Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah mendanai penelitian ini.

## Daftar Pustaka

- [1] Badan Pengawas Obat & Makanan RI. Keterangan Pers Badan POM Nomor : KH.00.01.1.241.002 tentang penyalahgunaan formalin untuk pengawet mie basah, tahu dan ikan. Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2006; 7(1): 1-12.
- [2] Environmental Protection Agency. Toxicological Review of Formaldehyde-Inhalation Assessment, Vol 1-4 Introduction, Background and Toxicokinetics. Washington, 2010. DC: EPA
- [3] Saraswati TR, Indraswari E, & Nurani. Pengaruh formalin, diazepam dan minuman beralkohol terhadap konsumsi pakan, minum dan bobot tubuh *Mus musculus*. *J. Sains & Mat.* 2009;17 (3): 141-144.
- [4] International Agency For Research on Cancer. Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxypropan-2-ol. World Health Organization-summary of data reported and evaluation. 2006;88: 1-16.
- [5] Kuswandi B. Sensor kimia teori, praktek, dan aplikasi. Jember: Jember University Press. 2010.
- [6] Huber L. Validation and qualification in analytical laboratories 2<sup>nd</sup> edition. New York: Informa Healthcare. 2007.