

STABILITAS FORMALIN TERHADAP PENGARUH SUHU DAN LAMA PEMANASAN

Laksmiani, N. P. L.¹, Widjaja, I. N. K.¹, Sonia¹

¹ Jurusan Farmasi – Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam – Universitas Udayana

Korespondensi: Ni Putu Linda Laksmiani

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 0361-703837

Email: lindalaksmiani@gmail.com

ABSTRAK

Formalin merupakan senyawa kimia yang dimanfaatkan sebagai agen desinfektan dan agen bacterial yang baik. Namun banyak produsen atau pedagang makanan yang menyalahgunakan formalin sebagai pengawet makanan. Pada dasarnya, bahan makanan sebelum dikonsumsi menjadi makanan jadi maka bahan tersebut diolah terlebih dahulu melalui proses pemanasan dengan suhu rata-rata diatas 100 °C. Sehingga formalin yang digunakan sebagai pengawet pada makanan akan mengalami proses penguraian. Maka perlu dilakukan uji stabilitas formalin dengan menggunakan metode spektrofotometri visible memanfaatkan pereaksi nash serta dilakukan pula evaluasi mengenai kinetika kimia formalin.

Validasi metode dilakukan sebelum uji stabilitas formalin dengan mengukur absorbansi 3 seri larutan standar formalin dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 µg/mL dengan prosedur sebagai berikut: 1 mL larutan standar formalin dengan 2 mL pereaksi Nash. Didiamkan selama 2 jam hingga kompleks senyawa diacetyldihydrolutidine (DDL) yang terbentuk menjadi stabil. Selanjutnya larutan formalin diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya yaitu 412 nm.

Suhu dan lama pemanasan mempengaruhi stabilitas formalin. Pemanasan pada suhu larutan 96 °C selama 40 menit dapat menguraikan formalin sebanyak 88,1%. Kinetika degradasi formalin mengikuti orde reaksi 1 dengan tetapan laju reaksi sebesar 0,053 µg/mL menit dan waktu paruh selama 13,08 menit.

Kata kunci: formalin, stabilitas, suhu pemanasan, lama pemanasan, spektrofotometri visibel.

1. PENDAHULUAN

Formalin merupakan suatu senyawa aldehid yang memiliki potensi sebagai desinfektan dan agen bacterial yang baik. Formalin merupakan campuran dari larutan jenuh (*saturated solution*) formaldehid, metanol dan air dengan perbandingan 37 % : 13 % : 50 %, sehingga formalin yang beredar di pasaran adalah formalin dengan kadar formaldehid 37% (Siong, 2007). Larutan ini memiliki efek berbahaya bagi kesehatan tubuh, dimana jika berada di dalam tubuh manusia, maka formalin dapat menimbulkan iritasi pada membran mukosa, sesak nafas, kanker hidung, kanker tenggorokan, hipotermia, koma dan bahkan kematian (Nuryasin, 2006). Menurut WHO (2007) maupun US-EPA, *Reference dose* (Rfd) untuk

Formaldehid adalah 0,2 mg per kg berat badan per hari.

Pemanasan pada suhu diatas titik didih formalin (Td = 96 °C) akan menyebabkan formalin terurai menjadi karbondioksida dan karbonmonoksida (Siong, 2007).

Pada umumnya, bahan makanan yang akan dijadikan makanan akan melewati proses pemanasan, seperti dibakar, direbus dan digoreng, yang suhunya berada diatas suhu 100 °C. Dengan demikian bahan makanan yang mengandung pengawet formalin yang telah melewati proses pemanasan akan mengalami proses penguraian formalin yang dikandungnya (Siong, 2006). Se jauh mana tingkat penguraian formalin tersebut, maka perlu dilakukan uji stabilitas formalin

dengan menggunakan metode deteksi formalin sehingga stabilitas formalin dapat ditentukan.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Bahan

Larutan Formalin 20%, Larutan Asam Asetat p.a., Ammonium Asetat p.a. Larutan Asetil Aseton p.a. dan Aquades.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Pembuatan Larutan Stok Formalin 200 µg/mL

Diambil 0,5 mL larutan formalin 20% ditambahkan aquadest hingga 500 mL.

2.2.2 Pembuatan Pereaksi Nash

Disiapkan 15 gram Ammonium Asetat ($\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$) ditambahkan 0,3 mL Asam Asetat (CH_3COOH) dan 0,2 mL Asetil Aseton lalu diencerkan dengan Aquadest hingga 100 mL.

2.2.3 Pembuatan Larutan Standar

Pada penelitian ini dibuat 5 variasi kadar larutan standar, yaitu konsentrasi 2; 4; 6; 8 dan 10 µg/mL. Variasi konsentrasi dibuat dengan pengenceran dari larutan stok pada poin 2.2.1.

2.2.4 Validasi Metode Deteksi Menggunakan Metode Spektrofotometri Visibel dengan Pereaksi Nash

Validasi metode dilakukan dengan menentukan harga masing-masing variabel metode deteksi, antara lain menentukan kecermatan (*accuracy*), keseksamaan (*precision*), linearitas, batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ). Sebelum menentukan harga masing-masing variabel metode validasi, maka dilakukan pengukuran absorbansi 3 seri larutan standar formalin dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 µg/mL dengan prosedur sebagai berikut: 1 ml larutan standar formalin direaksikan dengan 2 mL pereaksi Nash. Didiamkan selama 2 jam hingga kompleks senyawa diacetyldihydrolutidine (DDL) yang terbentuk menjadi stabil. Selanjutnya larutan formalin diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya yaitu 412. Setelah didapatkan absorbansi masing-masing konsentrasi dalam 3 seri larutan standar, selanjutnya dicari rata-rata absorbansi tiap konsentrasinya dan dibuat kurva kalibrasi/persamaan garis regresi linear antara konsentrasi dengan absorbansi rata-ratanya

a. Rentang dan Linieritas Linearitas dapat ditentukan dengan melihat nilai koefisien korelasi r pada analisis regresi linear yang didapat dari hasil pengukuran absorbansi larutan standar. Metode analisis dikatakan linear apabila nilai r hitungannya lebih besar dari r tabel yaitu 0,878 (Alhusin, 2002).

Dibuat kurva kalibrasi hubungan antara absorbansi dengan variasi konsentrasi. Dibuat persamaan regresi linier, $y = bx + a$.

b. Akurasi Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Dari persamaan garis regresi linear yang didapat dari pengukuran absorbansi 5 larutan standar, maka dapat dihitung kadar larutan standar dari hasil pengukuran menggunakan alat, sehingga % selisih perolehan kembali dapat ditetapkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{|c_b - c_a|}{c_a} \times 100\%$$

Keterangan: c_a : kadar awal ; c_b : kadar terukur alat

Vanderwielen, dkk menyatakan bahwa selisih kadar pada berbagai penentuan (X_d) harus 5% atau kurang pada setiap konsentrasi analit dimana prosedur dilakukan (Harmita, 2004).

c. LOD dan LOQ Dimasukkan nilai absorbansi ke dalam persamaan regresi linier, $y = bx + a$. Ditentukan nilai LOD dan LOQ.

d. Presisi Dilakukan uji presisi dengan pengulangan pengukuran absorbansi seri konsentrasi larutan standar sebanyak 3 kali. Dibuat 3 seri larutan standar dengan rentang kadar yang sama. Dilakukan perhitungan standar deviasi (SD) dan koefisien variasi (KV) berdasarkan perolehan nilai absorbansi pada masing-masing konsentrasi.

2.2.5 Uji Stabilitas Formalin

a. Pemanasan Larutan Standar Formalin pada Berbagai Suhu

Diambil 200 mL larutan standar formalin konsentrasi 10 µg/mL di atas *heater* hingga suhu larutan mencapai 96⁰C selama 30 menit. Larutan didinginkan pada suhu kamar kemudian diambil

1 mL dan ditambahkan 2 mL pereaksi Nash, didiamkan selama 2 jam hingga terbentuk kompleks dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 412 nm. Percobaan diulangi dengan suhu pemanasan larutan pada 80^oC dan 70^oC.

b. Variasi Waktu Pemanasan Larutan Standar Formalin

Dilakukan percobaan yang sama seperti pada poin a pada suhu 96^oC (suhu dimana formalin paling banyak terdegradasi) dengan variasi waktu 20, 30, dan 40 menit. Selanjutnya masing-masing larutan yang telah dipanaskan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 412 nm.

c. Analisis Data

Dengan menggunakan metode *one step point* yaitu dengan menggunakan rumus Lambert-Beer langsung dan dengan melalui persamaan garis regresi linear/ kurva kalibrasi, maka konsentrasi

larutan sisa dapat ditentukan. Dengan kinetika reaksi, maka laju reaksi, orde reaksi, tetapan reaksi dan waktu paruh formalin dapat ditentukan.

3. HASIL

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui harga masing-masing variabel metode validasi dalam penentuan stabilitas formalin dengan menggunakan metode spektrofotometri visibel dengan pereaksi Nash, serta mengetahui stabilitas formalin itu sendiri terhadap pengaruh suhu dan lama pemanasan. Dalam validasi metode, digunakan beberapa variabel, antara lain: akurasi, presisi, linearitas, LOD dan LOQ. Sedangkan, untuk penentuan stabilitas formalin, maka digunakan parameter kinetika kimia, meliputi orde reaksi, tetapan laju reaksi dan waktu paruh.

Tabel 1. Hasil Analisis Validasi Metode Deteksi Formalin Menggunakan Spektrofotometri Visibel

C _a	Absorbansi			Rata-rata	C _b	Akurasi (%)	Presisi (%KV)	r	LOD	LOQ
	Seri I (y ₁)	Seri II (y ₂)	Seri III (y ₃)							
2	0,194	0,193	0,209	0,199	2,17	8,5	4,68	0,999	0,43	1,44
4	0,349	0,369	0,354	0,357	3,87	3,25	2,95			
6	0,570	0,543	0,560	0,558	6,04	0,67	2,42			
8	0,749	0,749	0,754	0,751	8,12	1,5	0,43			
10	0,932	0,906	0,951	0,930	10,05	5	2,40			
Rata-rata						3,78	2,58			

Keterangan : persamaan regresi linear $y = 0,0928x - 0,002$; C_a = konsentrasi yang dibuat; C_b = konsentrasi yang terukur/terhitung

Tabel 2. Data Kinetika Kimia Formalin

No.	Lama waktu pemanasan (t) (menit)	Jumlah formalin sisa (a)	Log jumlah formalin sisa (b)	Laju reaksi rata-rata $\bar{v} = \frac{\Delta a}{\Delta t}$	Laju reaksi rata-rata $\bar{v} = \frac{\Delta b}{\Delta t}$	r (x: t, y: a)	r (x: t, y: b)
1	0	2000	3,301				
2	20	816,26	2,912	59,19	0,0195	0,96	0,99
3	30	459,3	2,662	51,36	0,0213		
4	40	237,97	2,377	44,05	0,0231		

Keterangan : Pemanasan formalin dilakukan pada suhu 96 °C; Persamaan regresi linear Orde 0, $y = -45,06x + 1892,33$; Orde 1, $y = -0,023x + 3,327$

4. PEMBAHASAN

a. Validasi Metode Deteksi Menggunakan Metode Spektrofotometri Visibel

Pengukuran larutan formalin standar diawali dengan mereaksikan larutan formalin dengan pereaksi Nash, dimana larutan formalin yang sebelumnya tidak berwarna, setelah bereaksi maka akan dihasilkan larutan berwarna kuning (terbentuk senyawa Diacetyldihydrolutidine/DDL). Larutan berwarna tersebut dapat dianalisis dengan metode spektrofotometri di daerah panjang gelombang sinar visibel. Dari percobaan diperoleh serapan maksimum terjadi pada panjang gelombang 412 nm. Reaksi pembentukan senyawa DDL antara formaldehid dengan Nash berlangsung relatif lambat, dibutuhkan waktu sekitar 2 jam agar warnanya stabil dan bisa dianalisis. Larutan berwarna ini akan stabil hingga 24 jam.

Rentang konsentrasi yang digunakan memiliki hubungan yang linear yaitu semakin besar konsentrasi larutan maka absorbansinya semakin besar pula, dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,999. Rentang konsentrasi ini dikatakan linear karena memiliki nilai r hitung lebih besar dari nilai r tabel yaitu sebesar 0,878 untuk metode yang menggunakan standar sebanyak 5 buah dengan taraf kepercayaan sebesar 95%. Untuk nilai presisi, akurasi, LOD dan LOQ dapat dilihat pada tabel 1.

b. Pengaruh Suhu dan Lama Pemanasan Terhadap Formalin

Uji pengaruh suhu pemanasan terhadap stabilitas formalin, didapatkan hasil dimana pemanasan selama 30 menit pada suhu larutan 70 dan 80°C, formalin belum dapat terdegradasi dilihat dari % formalin yang hilang hanya sebesar 0,25-1,28% saja, sedangkan pada suhu 96°C formalin terdegradasi sebanyak 76,96%. Dari hasil tersebut, maka formalin mengalami degradasi terbesar adalah pada suhu didihnya (96°C).

Setelah dilakukan uji stabilitas formalin terhadap pengaruh suhu pemanasan, maka selanjutnya dilakukan uji pengaruh lama waktu pemanasan terhadap stabilitas formalin. Variasi lama pemanasan pada suhu didih formalin (96°C) dilakukan selama 20, 30 dan 40 menit. Pemilihan variasi lama pemanasan tersebut didasarkan atas pertimbangan rata-rata lama waktu proses pemasakan/ perebusan makanan dengan menggunakan media air pada umumnya jumlah formalin yang hilang adalah sebanyak 59,19% untuk pemanasan selama 20 menit, sebanyak 76,96% untuk pemanasan selama 30 menit, dan sebanyak 88,1% untuk pemanasan selama 40 menit. Dari hasil tersebut, dapat dilihat bahwa dengan meningkatnya lama waktu pemanasan, maka rata-rata jumlah %

formalin yang hilang semakin banyak pula, sehingga peningkatan lama waktu pemanasan akan memberikan peningkatan jumlah formalin yang terdegradasi. Proses pemanasan pada suhu didih formalin yaitu 96°C selama 40 menit memang belum dapat menghilangkan seluruh formalin (100%), sehingga dibutuhkan waktu pemanasan yang lebih lama untuk menguraikan formalin secara sempurna.

c. Laju, Orde, Tetapan Reaksi dan Waktu Paruh Formalin

Kinetika kimia formalin dikarakterisasi dengan orde reaksi, tetapan laju reaksi serta waktu paruhnya. Penentuan orde reaksi dapat dicari dengan mengamati nilai laju reaksi rata-rata dan nilai koefisien korelasi (r) pada persamaan garis regresi linear antara waktu pemanasan (x) dan jumlah formalin sisa setelah pemanasan (y) atau antara waktu pemanasan (x) dan log jumlah formalin sisa setelah pemanasan (y). Laju reaksi rata-rata dicari dengan membandingkan selisih konsentrasi setelah pemanasan dengan konsentrasi sebelum pemanasan dibandingkan dengan selisih lama waktu pemanasan $\left(v = \frac{\Delta c}{\Delta t} \right)$.

Orde reaksi dikatakan mengikuti orde 0 apabila laju reaksi rata-ratanya per satuan waktu adalah konstan dan peningkatan konsentrasi tidak mempengaruhi laju. Sedangkan, orde reaksi dikatakan mengikuti orde 1 apabila konsentrasi sebanding dengan laju, dan apabila nilai koefisien korelasi yang didapat dari persamaan regresi linear antara waktu dengan log konsentrasi (jumlah formalin) sisa mendekati 1. Pada tabel 2 didapatkan laju reaksi rata-rata dan nilai koefisien korelasi formalin dan diketahui bahwa proses degradasi formalin adalah mengikuti orde 1 karena laju reaksi rata-ratanya persatuan waktu adalah tidak konstan, dan koefisien korelasi yang didapat dengan memasukkan nilai y yaitu log jumlah formalin sisa lebih besar dibanding dengan memasukkan nilai y yaitu jumlah formalin sisa.

Setelah diketahui orde reaksinya, maka tetapan laju reaksi dan waktu paruh proses degradasi formalin dapat ditentukan. Dari hasil

perhitungan didapatkan tetapan laju reaksinya adalah $0,053 \mu\text{g}/\text{mL menit}$ dan waktu paruhnya

adalah 13,08 menit. Waktu paruh selama 13,08 menit ini menunjukkan bahwa dengan lama waktu pemanasan selama 13,08 menit, maka formalin terdegradasi sebanyak 50% atau setengahnya. Dengan menggunakan kinetika kimia, dapat pula dicari lama waktu pemanasan larutan formalin agar formalin terdegradasi sempurna (100%). Setelah dilakukan perhitungan, maka dengan waktu selama 144,65 menit formalin dapat terdegradasi sempurna.

KESIMPULAN

Suhu dan lama pemanasan mempengaruhi stabilitas formalin. Pemanasan pada suhu larutan 96°C selama 40 menit dapat menguraikan formalin sebanyak 88,1%. Kinetika degradasi formalin mengikuti orde reaksi 1 dengan tetapan laju reaksi sebesar $0,053 \mu\text{g}/\text{mL menit}$ dan waktu paruh selama 13,08 menit

UCAPAN TERIMAKASIH

Kepada grup riset jurusan farmasi FMIPA Udayana; seluruh dosen pengajar, serta staf pegawai di Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Udayana atas dukungan yang telah diberikan.

PUSTAKA

- Alhusin, S. 2002. *Aplikasi Statistik Praktis dengan SPSS 10 for Windows, Edisi I*. Yogyakarta: J & J Learning.
- Gandjar, Ibnu Gholib dan Abdul Rohman. 2008. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Harmita. 2004. *Petunjuk Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA-UI.
- Martin, A, J. Swarbrick, A. Cammarata. 2008. *Farmasi Fisik*. Jakarta. UI Press.

Nash, T. 1953. *The Colorimetric Estimation of Formaldehyde by Means of Hantzsch Reaction*. Available at: <http://www.biochemj.org/bj/055/0416/0550416.pdf> Opened: 01/09/2009

Nuryasin, Achmad. 2006. *Bahaya Formalin*. Available at: http://www.disnakkeswan-lampung.go.id/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=246 Opened: 07/09/2009

Rafael. 2009. *Detail Formalin*. Available at: [file:///D:/My Received Files/formalin/formalin net/MyRaffaell » Blog Archive » Detail Formalin.htm](file:///D:/My%20Received%20Files/formalin/formalin%20net/MyRaffaell%20Blog%20Archive%20Detail%20Formalin.htm) Opened: 30/07/2009

Siong, Kian. 2007. *Formalin Tahu, Pasta Gigi, dan Obat Kumur*. Available at: [file:///D:/My Received Files/formalin/formalin net/471.htm](file:///D:/My%20Received%20Files/formalin/formalin%20net/471.htm). Opened: 30/07/2009