

OP-025
OPTIMASI ANALISIS FORMALIN DALAM BENTUK SENYAWA BERWARNA
DENGAN FLUORAL-P MENGGUNAKAN HIGH PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY (HPLC)

Budhi Oktavia, Juli Manda Sari, Indang Dewata

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
e-mail: budhioktavia8@gmail.com, mandasarijuli@gmail.com, i_dewata@yahoo.com

ABSTRAK

Formalin adalah senyawa aldehid yang biasanya digunakan sebagai bahan pengawet dalam dunia kedokteran. Namun seringkali formalin juga ditemukan pada bahan makanan dengan tujuan agar bahan makanan tersebut lebih tahan lama. Penggunaan formalin sebagai pengawet makanan dilarang oleh pemerintah sehingga diperlukan analisa yang terus menerus terhadap bahan makanan yang dijual di pasar. Pada penelitian ini telah dilakukan optimasi untuk analisis formalin dengan menggunakan senyawa fluoral-p untuk membentuk senyawa berwarna. Senyawa yang terbentuk yaitu senyawa 3,5-diasetil-1,4-dihidrolutidin (DDL) berwarna kuning pada panjang gelombang 412 nm. Pengujian dengan HPLC menunjukkan puncak senyawa DDL memberikan waktu retensi dan tinggi puncak yang memuaskan dengan LOD pada S/N = 3:1 adalah 15 ppm. Metoda ini merupakan studi pendahuluan untuk analisa formalin dalam bentuk senyawa berwarna dengan Fluoral-P menggunakan kromatografi cair.

Keywords: Formalin, Fluoral-P, High Performance Liquid Chromatography

1. PENDAHULUAN

Formalin adalah anggota paling sederhana dari senyawa aldehid dengan rumus molekul CH_2O yang sangat reaktif dan mudah mengikat air. Formalin merupakan larutan formalin dalam air dengan kadar 37 % dan biasanya ditambahkan metanol hingga 15 % yang digunakan sebagai stabilisator (Singgih, 2013). Formalin biasa digunakan sebagai bahan pengawet dalam dunia kedokteran, misalnya sebagai pengawet mayat atau hewan untuk keperluan penelitian. Formalin banyak digunakan sebagai desinfektan untuk pembersih lantai, kapal, gudang dan pakaian, serta sebagai germisida dan fungisida pada tanaman dan sayuran. Formalin juga digunakan sebagai pembasmi lalat dan serangga lainnya (Noorhamdani, 2011).

Kemampuan formalin dalam mengawetkan hewan ini telah banyak disalahgunakan di Indonesia untuk mengawetkan bahan makanan, seperti ikan, tahu, mi, daging, ayam dan sebagainya. Hal ini dikarenakan harga formalin yang relatif murah, mudah didapat, dan penggunaannya tidak memerlukan keahlian khusus. Larangan penggunaan formalin dalam makanan telah tercantum dalam Peraturan Menteri Kesehatan No. 722/MENKES/PER/IX/88 dan Peraturan Menteri Kesehatan No.1168/Menkes/PER/X/1999.

Formalin yang beredar dipasaran memiliki kadar formalin 37% hingga 40% didalam air dan biasanya ditambahkan methanol 15% untuk mencegah polimerisasi formalin. Formalin jika ditambahkan ke dalam bahan makanan maka akan menghambat aktivitas mikroorganisme bahkan dapat membunuh mikroorganisme didalamnya sehingga bahan makanan tidak akan mudah mengalami pembusukan. Selain itu,

dapat membuat bahan makanan lebih awet dan memiliki daya simpan yang lebih lama.

Menurut IPCS (*International Programme on Chemical Safety*), lembaga khusus dari tiga organisasi di PBB, yaitu ILO, UNEP, serta WHO, yang mengkhususkan pada keselamatan penggunaan bahan kimiawi, secara umum disebutkan bahwa batas toleransi formalin yang dapat diterima tubuh dalam bentuk air minum adalah 0,1 mg/liter (1 ppm setara 1 mg/liter) atau dalam satu hari asupan yang dibolehkan adalah 0.2 mg. Sementara formalin yang boleh masuk ke tubuh dalam bentuk makanan untuk orang dewasa adalah 1,5 mg hingga 14 mg per hari. *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) menyatakan formalin berbahaya bagi kesehatan pada kadar 20 ppm (Singgih, 2013).

Analisa formalin telah banyak dilakukan baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Analisis kualitatif formalin biasanya didasarkan pada reaksi warna seperti tes Fehling, tes Tollens, tes asam kromatoprat, pereaksi Schryver, tes kit, dan lainnya. Analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode seperti titrasi volumetrik, spektrofotometri, kromatografi gas dan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) (Souise, 2009; Khanmohammadi, M, 2012; Wahed, 2016).

Analisis langsung formalin menggunakan HPLC dengan detektor UV-Vis tidak memberikan hasil yang bagus karena formalin yang tidak berwarna memberikan panjang gelombang deteksi yang tidak stabil pada daerah ultra violet. Pada penelitian ini digunakan senyawa Fluoral P untuk bereaksi dengan formalin menghasilkan senyawa baru 3,5-diasetil-1,4-dihidrolutidin (DDL) berwarna kuning dengan panjang gelombang 412 nm. Senyawa DDL ini digunakan

sebagai deteksi secara tak langsung terhadap kandungan formalin dalam larutan.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah HPLC merek Agilent tipe 1120, Spektrofotometer UV-Vis merek T70 *spectrophotometer*, pH meter merek *Metrohm 744*, neraca analitik dan alat-alat gelas kimia lainnya.

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan formalin 37%, asam asetat glasial, asetil aseton, amonium asetat, etanol, metanol dan aquades.

2.2 Pembuatan larutan dan pereaksi

1. Pembuatan larutan baku formalin

Pertama dibuat larutan induk formalin 1000 ppm dengan cara dipipet 2,47 mL larutan formalin 37 % (40330,3 ppm), dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian diencerkan dengan aquades hingga tanda batas. Selanjutnya dibuat larutan formalin 50 ppm dengan pengenceran.

2. Pembuatan *Fluoral-p*

Ditimbang 15,4 gram amonium asetat lalu direaksikan dengan 0,2 mL larutan asetilaseton dan 0,3 mL asam asetat dan kemudian diencerkan dalam labu ukur 100 mL dengan aquades hingga tanda batas (Khanmohammadi, M, 2012).

2.3 Pembentukan senyawa berwarna reaksi formalin dengan *fluoral-p*

Dipipet 4 mL larutan formalin 50 ppm kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL *Fluoral-p* kemudian dikocok. Senyawa yang terbentuk 3,5-diasetil-1,4-dihidrolutidin (DDL) berwarna kuning dengan pH 6,5 serta warna yang terbentuk stabil setelah 70 menit.

2.4 Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dilakukan pengukuran panjang gelombang terhadap absorbansi pada larutan formalin, *fluoral-p* dan DDL pada panjang gelombang 200 – 600 nm. Panjang gelombang maksimum terdeteksi pada 412 nm.

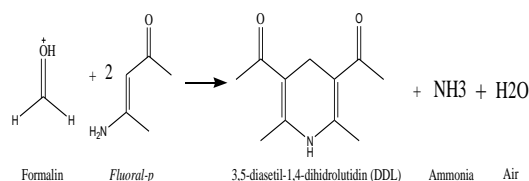
2.5 Analisis formalin dengan pembentukan senyawa berwarna DDL menggunakan HPLC

Reaksi antara formalin dengan *fluoral-p* membentuk senyawa baru DDL dengan sifat non polar, maka disini digunakan fasa diam ODS C18 dengan variasi fasa gerak etanol:air dan metanol:air serta variasi konsentrasi. Kecepatan alir adalah 1 ml/menit dan panjang gelombang detektor UV-Vis adalah 412 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pembentukan senyawa berwarna reaksi formalin dengan *fluoral-p*

Pada penelitian dilakukan analisis formalin secara tidak langsung melalui pembentukan senyawa berwarna. Dimana formalin direaksikan dengan pereaksi *fluoral-p* terdiri dari campuran amonium asetat, asetil aseton, dan asam asetat glasial. Selanjutnya akan terbentuk senyawa berwarna 3,5-diasetil-1,4-dihidrolutidin (DDL) yang berwarna kuning. Semakin kuning warna larutan yang didapat maka konsentrasi formalin juga semakin besar. Reaksi antara formalin dengan *fluoral-p* dapat dilihat pada Gambar 1.

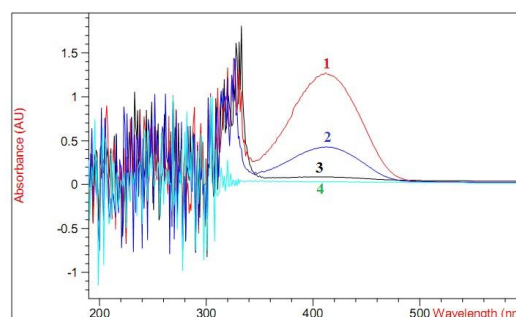


Gambar 1. Reaksi antara formalin dan *fluoral-p* menghasilkan 3,5-diasetil-1,4-dihidrolutidin (DDL) (Carquigny, 2012)

3.2 Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dimaksudkan untuk mengatur panjang gelombang detektor UV-Vis pada HPLC. Panjang gelombang maksimum diukur pada daerah 200 – 600 nm untuk melihat sebaran absorbansi baik pada daerah ultra violet maupun sinar tampak.

Pada penelitian ini dilakukan penentuan panjang gelombang terhadap absorbansi pada larutan formalin, larutan *fluoral-p* dan larutan DDL pada pH 4 dan pH 6,5. Hasil pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis terhadap larutan tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva panjang gelombang terhadap absorbansi pada ; (1) larutan DDL pH 4, (2) larutan DDL pH 6,5 , (3) larutan *fluoral-p*, (4) larutan formalin.

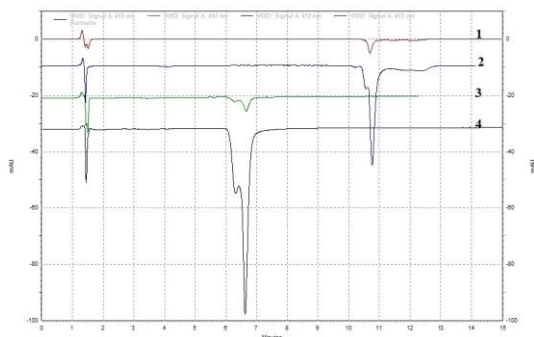
Panjang gelombang maksimum untuk senyawa berwarna DDL pH 4 maupun pH 6,5 adalah 412 nm. Untuk larutan *fluoral-p* sedikit terjadi serapan sedangkan formalin tidak ada terjadi serapan pada panjang gelombang 412 nm.

Analisis formalin dengan pembentukan senyawa berwarna DDL menggunakan HPLC

Pemilihan kondisi analisis pada HPLC dilakukan berdasarkan kepada senyawa yang akan diuji. Pada penelitian ini dilakukan analisis terhadap formalin berdasarkan kepada terbentuknya senyawa berwarna DDL.

Senyawa DDL berwarna kuning dan bersifat polar yang mempunyai banyak pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan sebagai zat pengompeks. Berdasarkan sifat DDL ini maka dipilih kondisi HPLC sebagai berikut; fasa diam ODS C18 dan fasa gerak bersifat polar yang terdiri dari etanol:air dan metanol:air. Pada penelitian ini hanya dilakukan analisa terhadap senyawa DDL pada pH 6,5 untuk menghindari terjadinya kerusakan pada kolom karena konsentrasi asam yang tinggi.

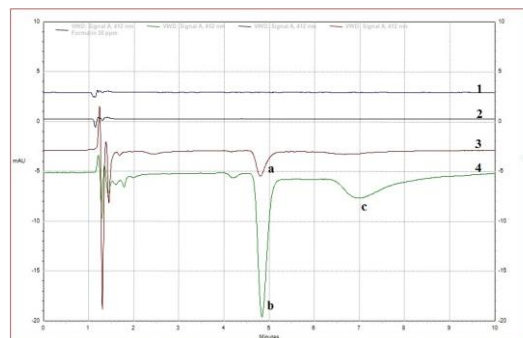
Pada Gambar 3 dapat dilihat kromatogram senyawa DDL dan fuoral-p pada fasa gerak etanol:air dan metanol:air dengan gradien konsentrasi alkohol:air dari 10:90 menjadi 90:10 dalam 20 menit.



Gambar 3. Kromatogram ; (1) fluoral-p, fasa gerak metanol:air, (2) DDL, fasa gerak metanol:air, (3) fluoral-p, fasa gerak etanol:air, (4) DDL, fasa gerak etanol:air. Kondisi : fasa diam ODS C18, kecepatan alir 1 ml/menit, fasa gerak gradien konsentrasi alkohol:air dari 10:90 menjadi 90:10 dalam 20 menit.

Pada Gambar 3 di atas dapat dianalisis bahwa konsentrasi metanol:air = 40:60 dan konsentrasi etanol:air = 20:80 untuk terjadinya pemisahan senyawa DDL pada waktu retensi yang terbaca. Selanjutnya dipilih fasa gerak metanol:air dengan konsentrasi 40:60 untuk analisis selanjutnya karena pada fasa gerak dengan konsentrasi ini menghasilkan pemisahan dan waktu retensi yang cukup baik untuk senyawa DDL.

Gambar 4 berikut ditunjukkan kromatogram dari senyawa DDL, air, formalin dan fluoral-p pada kondisi fasa gerak metanol:air = 40:60, kecepatan alir 1 ml/menit dan panjang gelombang detektor 412 nm.



Gambar 4. Kromatogram ; (1) air, (2) formalin 50 ppm, (3) fluoral-p, (4) DDL reaksi antara 50 ppm formalin dengan fluoral-p, (a) puncak fluoral p, (b) puncak DDL, (c) puncak DDL. Kondisi; fasa diam ODS C18, fasa gerak metanol:air = 40:60, kecepatan alir 1 mL/menit, panjang gelombang 412 nm.

Pada Gambar 4 di atas dapat dilihat bahwa air (1) dan formalin (2) tidak memberikan puncak pada kromatogram. Namun fluoral-p (3) memberikan puncak (puncak a) pada waktu retensi 4,8 menit, dimana puncak ini (puncak b) juga muncul pada senyawa DDL (4) waktu retensi 4,8 menit tapi dengan puncak yang lebih tinggi. Senyawa DDL (4) memberikan 2 puncak (puncak b dan c) dengan masing waktu retensi 4,8 menit dan 6,9 menit.

Dari puncak yang muncul pada kromatogram diduga bahwa puncak a dan puncak b adalah senyawa yang sama yaitu fluoral-p, dimana puncak b lebih tinggi karena adanya pengaruh dari senyawa formalin. Puncak ini bisa juga digunakan untuk deteksi keberadaan formalin dimana LOD pada S/N=3:1 adalah 15 ppm.

Sementara puncak c pada waktu retensi 6,9 menit adalah puncak tersendiri yang diduga berasal senyawa DDL. Namun puncak ini cukup lebar sehingga tidak begitu bagus untuk ditampilkan. Analisa selanjutnya terhadap variasi fasa gerak diperlukan untuk mendapatkan kromatogram yang lebih baik.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan kromatogram yang dihasilkan dapat disimpulkan bahwa senyawa fluoral p dan DDL memberikan puncak pada panjang gelombang 412 nm, namun dengan waktu retensi yang sama. Formalin dapat dianalisis secara tidak langsung berdasarkan senyawa berwarna yang terbentuk menggunakan HPLC.

DAFTAR PUSTAKA

- Carquigny, S dkk. (2012). Development of a Polyaniline/Fluoral-P Chemical Sensor for Gaseous Formaldehyde Detection. *IEEE Sensors Journal*, Vol. 12, No. 5
- Khanmohammadi, M dkk. (2012). Quantitative Determination Of Formaldehyde By Spectrophotometry Utilizing Multivariate Curve Resolution Alternating Least Square. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* Vol 26, No 2, 299-304.
- Noorhamdani, A. Dkk. (2011). Analisis Kualitatif Formalin, Boraks dan Rhodamin B Pada Keamanan Pangan Kerupuk Aci, Rambak, Ikan dan Berwarna di Pasar Tradisional Mergan dan Pasar Besar Tradisional Kota Malang.
- Singgih, H. 2013. Jurnal ELTEK: Uji Kandungan Formalin Pada Ikan Asin Menggunakan Sensor Warna Dengan Bantuan FMR (Formalin Main Reagent), Vol 11 No 1, 55-70.
- Souse, Eliane dkk. 2009. A Semi-Continuous Analyzer for the Fluorimetric Determination of Atmospheric Formaldehyde. *J. Braz. Chem. Soc* Vol. 20, No. 2, 259-265.
- Wahed. P., dkk. 2016. Determination of formaldehyde in food and feed by an in-house validated HPLC method, *Food Chemistry*, Vol 202, 476–483