

Identifikasi Kandungan Formalin Pada Tahu Putih di Pasar Tradisional Kecamatan Klaten Tengah dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Alifia Nuraini^{1*}, Meila Diana¹, Mitsalina Fildzah Arifah¹

¹Program Studi Farmasi (S-1), Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta, Sleman, Indonesia

*Email: alifianuraini953@gmail.com

Abstract

White tofu is a high-protein food widely consumed by the public but has a short shelf life due to its high water content. Formalin is frequently used to extend the shelf life of tofu in traditional markets, even though its use as a preservative is prohibited due to its toxicity and potential health risks. The traditional market in the Central Klaten District serves as a major economic hub for the local community; however, information regarding the presence of formalin in white tofu remains limited. Therefore, this study aims to assess the safety of tofu sold in markets within the Klaten District. This study identified presence of formalin in white tofu sold at these markets, qualitatively and quantitatively. A non-experimental descriptive design was used, involving organoleptic testing over three days, qualitative analysis using KMnO₄, Fehling A & B, Schiff, and chromotropic acid reagents, determination of the maximum wavelength, and quantitative analysis using the UV-Vis spectrophotometry method. Signs of spoilage were observed in all samples through organoleptic testing. No colour change was detected in qualitative analysis, and no absorption peak was observed at 580 nm. The validity of the UV-Vis spectrophotometry method was demonstrated by a linearity and linear range with $r = 0.999$, %Recovery from accuracy of 97.807-101.023%, %RSD from precision were 1.206%, a limit of detection (LOD) of 2.811 ppm, and a limit of quantification (LOQ) of 8.519 ppm. Samples suspected of containing formalin were confirmed to be free of formalin based on the quantitative test. The limitation of this study was its lack of sensitivity toward very low formalin concentrations. In conclusion, formalin was not detected in any sample through organoleptic, qualitative, and quantitative test. The validity of the UV-Vis spectrophotometry method met the required validation parameters.

Keywords: Formalin; Klaten; Tofu; Traditional market; Spectrophotometry UV-Vis;

Abstrak

Tahu putih merupakan pangan tinggi protein yang banyak dikonsumsi, namun memiliki umur simpan yang pendek karena kadar air yang tinggi. Formalin sering digunakan untuk meningkatkan masa simpan tahu di Pasar tradisional, meskipun penggunaannya dilarang sebagai pengawet karena bersifat toksik dan berisiko kepada kesehatan. Pasar tradisional Kecamatan Klaten Tengah menjadi sentral ekonomi bagi masyarakat, namun informasi keberadaan formalin pada tahu putih masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk menjamin keamanan tahu yang beredar di Pasar Kecamatan Klaten. Penelitian dilakukan dengan rancangan non-eksperimental deskriptif dengan uji organoleptis selama tiga hari, analisis kualitatif menggunakan reagen KMnO₄, Fehling A & B, Schiff, asam kromatofat dan uji penentuan panjang gelombang maksimum, serta kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Tanda pembusukan diamati pada seluruh sampel secara organoleptis selama 3 hari. Perubahan warna pada uji tabung dan puncak serapan pada 580 nm tidak terdeteksi. Validitas metode spektrofotometri

UV-Vis ditunjukkan dengan nilai linieritas dan kisaran linier $r = 0,999$, %*Recovery* dari akurasi 97,807-101,023%, %RSD dari presisi sebesar 1,206%, batas deteksi (LOD) 2,811 ppm, dan batas kuantifikasi (LOQ) 8,519 ppm. Keberadaan formalin pada seluruh sampel tahu tidak terdeteksi secara organoleptis, kualitatif, serta kuantitatif. Validitas metode spektrofotometri UV-Vis dapat memenuhi parameter validasi melalui uji spiking.

Kata Kunci: Formalin; Klaten; Tahu; Pasar Tradisional; Spektrofotometri UV-Vis;

1. PENDAHULUAN

Tahu putih merupakan salah satu pangan yang banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia karena kandungan protein dan nilai gizi yang baik serta harga yang terjangkau (Herdhiansyah et al., 2022). Namun, kandungan air yang cukup tinggi sekitar 80% (Djamal, Cahyadi and Maulana, 2023), menyebabkan tahu putih mudah mengalami kerusakan, sehingga beberapa pedagang menambahkan bahan pengawet, seperti formalin (Rahmawati, 2022), untuk memperpanjang masa simpan. Formalin dipilih karena harganya murah dan mudah diperoleh (Sinurat, Karo and Syarifuddin, 2023). Masyarakat umumnya menilai kualitas tahu dari karakteristik fisik, seperti warna putih, tekstur padat, dan permukaan halus (Miasur, Suhardi and Suletra, 2021), yang belum tentu menunjukkan kualitas yang aman (Arziyah, Yusmita and Ariyetti, 2019).

Formalin termasuk bahan tambahan pangan yang penggunaannya dilarang pada pangan olahan sebagaimana diatur dalam Peraturan BPOM Nomor 7 Tahun 2018 (Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 7 Tahun 2018 Tentang Bahan Baku Yang Dilarang Dalam Pangan Olahan, 2018). Meskipun demikian, penambahan formalin pada berbagai produk pangan, seperti mie basah, lontong, bakso, dan tahu, masih ditemukan di sejumlah daerah. Tindakan ini tidak hanya melanggar hukum, tetapi juga berisiko menimbulkan gangguan kesehatan, mulai dari iritasi

saluran pencernaan hingga efek karsinogenik (Dewi, 2019).

Penelitian sebelumnya (Fitrianingsih, Mustafa and Sunyoto, 2019) menunjukkan bahwa lima sampel tahu putih yang diambil dari salah satu pasar di Klaten terdeteksi mengandung formalin. Namun, informasi keberadaan formalin pada tahu putih yang dijual di pasar tradisional Kecamatan Klaten Tengah, khususnya di Pasar Gedhe Klaten dan Pasar Srago, masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan memastikan kandungan formalin pada tahu putih yang dijual di pasar tradisional Kecamatan Klaten Tengah, khususnya di Pasar Gedhe Klaten dan Pasar Srago. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan memberikan gambaran awal mengenai tingkat keamanan pangan di wilayah tersebut.

Identifikasi formalin dapat dilakukan secara kualitatif dengan reagen KMnO_4 , *Fehling*, *Schiff*, dan asam kromatofat, serta penentuan panjang gelombang maksimum. Kemudian dilanjutkan dengan kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis yang sudah tervalidasi berdasarkan parameter linieritas dan kisaran linier, akurasi, presisi, batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) sesuai pedoman *International Council for Harmonisation (ICH)* dan *United States Pharmacopeia (USP)*.

2. METODE

2.1. Alat Penelitian

Spektrofotometer UV-Visibel (*UV-Vis Genesys 10S, Thermo Scientific*), *centrifuge (Centrifuge Hettich EBA 2008)*,

timbangan analitik semi mikro (*Ohaus*), *hotplate*, labu ukur 100 mL dan 10 mL (*Iwaki*), kaca arloji, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kuvet, mortir dan stamper, mikropipet (*DLab*, volume 100-1000 μ L), pipet tetes, spatula, penjepit kayu, dan berbagai alat gelas lainnya.

2.2. Bahan Penelitian

Tahu putih, formalin *solution* 37% p.a (*Merck*), asam kromatofat p.a (*Merck*), larutan Fehling A (teknis), larutan Fehling B (teknis), kalium permanganat (KMnO_4) p.a, reagen Schiff (teknis), H_2SO_4 p.a (*Merck*), akuades, *conical tube* 15 mL, *syringe* 10 mL, dan *syringe filter* 0,45 μm .

2.3. Prosedur Kerja

Sampling Tahu Putih

Sampel diambil dari tujuh pedagang tahu putih di Pasar Gedhe Klaten dan tiga pedagang tahu putih di Pasar Srago yang berada di Kecamatan Klaten Tengah.

Preparasi Tahu Kontrol

Sebanyak 125 g kacang kedelai ditimbang dan direndam selama 6 jam. Kacang kedelai dicuci dan dihaluskan menggunakan blender dengan penambahan air secukupnya. Sebanyak 1 L air ditambahkan ke dalam kacang kedelai yang sudah dihaluskan untuk proses perebusan selama 15 menit. Campuran yang telah direbus kemudian didinginkan dan disaring menggunakan kain mori. Filtrat berupa sari kedelai ditambahkan 3-4 sendok makan cuka sambil diaduk hingga terbentuk gumpalan. Gumpalan yang terbentuk dalam jumlah banyak, dimasukkan ke dalam cetakan dan didiamkan selama kurang lebih 2 jam. Tahu putih yang telah terbentuk kemudian direndam larutan formalin 40 ppm sebanyak 25 mL sebagai tahu putih kontrol positif, sedangkan tahu putih yang tidak direndam formalin dijadikan sebagai kontrol negatif (modifikasi dari Wulandari & Arifah, 2024).

Uji Organoleptis Tahu Putih

Pengujian organoleptis dilakukan selama tiga hari pada suhu ruang untuk menilai aroma, tekstur, dan tampilan visual tahu putih. Tahu bebas formalin, ditandai dengan aroma asam fermentasi, tampilan visual mudah hancur, dan perubahan warna menjadi kuning akibat

pertumbuhan jamur. Jika tahu yang mengandung formalin, memiliki bau kimia, tekstur kenyal, berwarna putih, dan tidak ditumbuhi jamur hingga hari ketiga. Hasil pengamatan sampel dibandingkan antara tahu kontrol positif berformalin dan tahu kontrol negatif yang tidak berformalin (Sari & Hidayah, 2021).

Preparasi Sampel Tahu Putih

Sebanyak 4 g tahu putih ditimbang untuk keseragaman bobot, dihaluskan dengan mortir dan stamper, lalu dimasukkan ke *conical tube* 15 mL. Masing-masing ditambahkan 20 mL akuades, disentrifugasi 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm, dan supernatan diambil hati-hati menggunakan *syringe* lalu disaring dengan *syringe filter*. Supernatan digunakan untuk uji kualitatif dan kuantitatif, dengan tiga kali replikasi (Wulandari & Arifah, 2024).

Preparasi Reagen

Penyiapan Reagen KMnO_4 0,1 N

Sebanyak 0,316 g KMnO_4 ditimbang dan dilarutkan dengan akuades 100 mL di dalam labu takar 100 mL, kemudian dihomogenkan hingga larut (Kiroh et al., 2019).

Penyiapan Asam Sulfat 60%

Sebanyak 62,5 mL larutan asam sulfat 96% diambil, kemudian secara berhati-hati ditambahkan 37,5 mL akuades sampai tanda batas pada labu takar 100 mL, dilakukan di lemari asam (Anindita, 2019).

Penyiapan Reagen Asam Kromatofat 0,5%

Sebanyak 0,5 g asam kromatofat dilarutkan menggunakan asam sulfat 60% hingga mencapai tanda batas di dalam labu takar 100 mL, larutan tersebut dihomogenkan dengan hati-hati (Anindita, 2019).

Pembuatan Standar Formalin

Pembuatan Standar Formalin 1000 ppm

Larutan standar formalin 1000 ppm dibuat dengan mengambil 0,27 mL larutan formalin 37% dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL, kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas (Wulandari & Arifah, 2024).

Pembuatan Standar Formalin 100 ppm

Larutan standar formalin 100 ppm dibuat dari larutan standar formalin berkonsentrasi 1000 ppm diambil 10 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas (Sari & Hidayah, 2021).

Uji Kualitatif Formalin pada Tahu Putih*Uji dengan Reagen $KMnO_4$*

Sebanyak 1 mL supernatan dimasukkan ke tabung reaksi, ditetesi 3 tetes $KMnO_4$ 0,1 N, lalu diamati perubahan warnanya. Perubahan dari ungu menjadi coklat menunjukkan hasil positif formalin, sedangkan warna ungu tetap menunjukkan hasil negatif. Proses dilakukan tiga kali replikasi dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol positif (tahu berformalin) serta kontrol negatif (tahu tanpa formalin) (Sari & Hidayah, 2021).

Uji dengan Reagen Fehling

Sebanyak 2 mL supernatan dimasukkan ke tabung reaksi, ditambah 2 mL reagen Fehling A dan B (1:1), lalu dipanaskan. Perubahan warna diamati, dari bening menjadi orange dengan endapan merah bata menunjukkan positif formalin, sedangkan biru tanpa endapan menunjukkan negatif. Proses dilakukan tiga kali dan dibandingkan dengan kontrol positif (tahu formalin) dan kontrol negatif (tahu tanpa formalin) (Sari & Hidayah, 2021).

Uji dengan Reagen Schiff

Sebanyak 1 mL supernatan dimasukkan ke tabung reaksi, ditetesi 3 tetes reagen Schiff, lalu diamati warnanya. Perubahan dari bening menjadi ungu menunjukkan positif formalin, sedangkan warna bening tetap menunjukkan negatif. Proses dilakukan tiga kali dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol positif (tahu formalin) serta kontrol negatif (tahu tanpa formalin) (Salsabila, 2024).

Uji dengan Reagen Asam Kromatofat

Sebanyak 0,8 mL supernatan ditambah 2 mL asam kromatofat 0,5% dalam tabung reaksi, lalu dipanaskan pada penangas air 100°C selama 20 menit. Perubahan warna diamati dan dibandingkan dengan kontrol positif (tahu formalin) serta kontrol negatif (tahu tanpa

formalin). Perubahan coklat menjadi ungu menunjukkan positif formalin, sedangkan warna coklat tetap menunjukkan negatif. Proses direplikasi tiga kali (Wulandari & Arifah, 2024).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum*Panjang Gelombang Maksimum Standar Formalin*

Sebanyak 0,8 mL larutan formalin 60 ppm ditambah 2 mL asam kromatofat 0,5% dalam tabung reaksi, kemudian dipanaskan pada penangas air 100°C selama 20 menit. Campuran dipindahkan ke dalam labu takar 10 mL, diencerkan dengan akuades hingga tanda batas, dengan akuades sebagai blanko. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 500-700 nm (Wulandari & Arifah, 2024).

Operating Time Standar Formalin

Sebanyak 0,8 mL larutan formalin 60 ppm direaksikan dengan 2 mL asam kromatofat 0,5% dalam tabung reaksi, lalu dipanaskan dengan penangas air selama 20 menit suhu 100°C. Campuran dipindahkan ke labu takar 10 mL dan diencerkan dengan akuades hingga tanda batas. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum, dengan *operating time* selama 30 menit pada interval 1 menit. Absorbansi stabil diperoleh pada menit ke-17 hingga ke-28, dan *operating time* ditetapkan berdasarkan kestabilan tersebut (Wulandari & Arifah, 2024).

Panjang Gelombang Maksimum Sampel

Sebanyak 0,8 mL supernatan dicampur dengan 2 mL asam kromatofat 0,5% dalam tabung reaksi, dihomogenkan lalu dipanaskan pada penangas air 100°C selama 20 menit. Campuran dipindahkan ke labu takar 10 mL, diencerkan dengan akuades hingga tanda batas, dan didiamkan pada suhu ruang selama *operating time*. Akuades digunakan sebagai blanko. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500-700 nm, dan dibandingkan dengan kontrol positif (formalin 60 ppm dan tahu formalin) yang menunjukkan puncak pada 580 nm (Wulandari & Arifah, 2024).

Validasi Metode Analisis

Uji Linieritas dan Kisaran Linier

Penentuan linieritas dilakukan menggunakan lima seri konsentrasi formalin (20, 40, 60, 80, dan 100 ppm). Masing-masing 0,8 mL larutan direaksikan dengan 2 mL asam kromatofat 0,5% dipanaskan pada penangas air selama 20 menit suhu 100°C, lalu dipindahkan ke labu takar 10 mL dan diencerkan dengan akuades hingga tanda batas. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 580 nm, dengan pengujian tiga kali. Kurva kalibrasi dihitung menggunakan persamaan regresi linier $y = bx + a$, dan nilai koefisien korelasi (r) dari setiap replikasi digunakan untuk menentukan kisaran linier (Wulandari & Arifah, 2024).

Uji Akurasi

Akurasi diuji dengan teknik *spiking* menggunakan larutan formalin 20, 40, dan 60 ppm masing-masing 0,8 mL, serta supernatan tahu formalin 40 ppm 0,8 mL. Campuran ditambahkan 2 mL asam kromatofat 0,5% dipanaskan 20 menit pada penangas air 100°C, lalu dipindahkan ke labu takar 10 mL dan diencerkan dengan akuades hingga tanda batas. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 580 nm dengan sembilan pengulangan, tiga kali pengulangan tiap konsentrasi. % *Recovery* dihitung menggunakan rumus:

$$\%R' = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{\text{spike}}} \times 100\%$$

Keterangan:

%R' = *Recovery*

$\bar{x}'$ = Rata-rata kadar *spike* (ppm)

$\bar{x}$ = Rata-rata kadar sampel tanpa *spike* (ppm)

x_{spike} = Kadar standar yang digunakan (ppm) (ICH, 2023)

Uji Presisi

Pengujian presisi dilakukan selama tiga hari. Uji *intraday* (hari ke-1) menggunakan larutan formalin 60 ppm sebanyak 0,8 mL yang dicampur dengan 2 mL asam kromatofat 0,5%, dipanaskan dengan penangas air selama 20 menit pada suhu 100°C, lalu dipindahkan ke labu takar

10 mL dan diencerkan dengan akuades hingga tanda batas. Pengujian dilakukan enam kali replikasi, dan absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 580 nm. Uji *interday* dilakukan dengan cara yang sama pada hari ke-2 dan ke-3. Presisi dihitung menggunakan rumus:

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Keterangan:

SD = Standar deviasi

$\bar{x}$ = Rata-rata kadar formalin 60

Ppm (ICH, 2023)

Uji LOD dan LOQ

Penentuan LOD dan LOQ dilakukan secara statistik berdasarkan garis regresi linier kurva kalibrasi, di mana respon instrumen (y) berbanding lurus dengan konsentrasi analit (x). LOD dan LOQ dihitung dengan rumus berikut (ICH, 2023):

$$LOD = \frac{SD \times 3,3}{\bar{S}_l}$$

$$LOQ = \frac{SD \times 10}{\bar{S}_l}$$

Keterangan:

LOD = *Limit of Detection*

LOQ = *Limit of Quantitation*

SD = Standar deviasi

$\bar{S}_l$ = *Slope*

Uji Kuantitatif Formalin pada Sampel

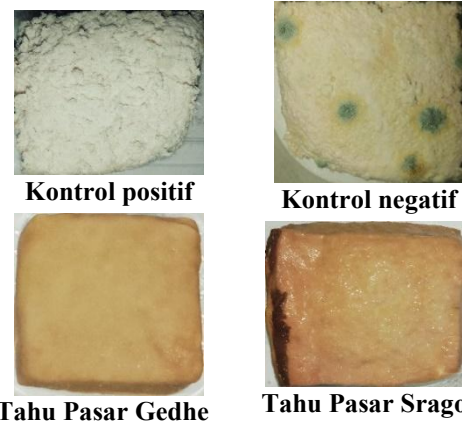
Sampel tahu yang diduga mengandung formalin diuji secara kuantitatif dengan menambahkan 0,8 mL supernatan sampel, 0,8 mL larutan formalin 40 ppm, dan 2 mL asam kromatofat 0,5%, lalu dipanaskan selama 20 menit menggunakan penangas air 100°C. Campuran dipindahkan ke labu takar 10 mL, diencerkan dengan akuades hingga tanda batas, dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 580 nm pada menit ke-17 hingga ke-28 (*operating time*), dengan tiga kali replikasi. Kadar formalin dihitung dari selisih kadar antara sampel *spike* (supernatan dengan formalin 40 ppm) dan standar formalin 40 ppm, kemudian dirata-rata untuk tiap sampel (Wulandari & Arifah, 2024).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi kandungan formalin pada tahu putih mentah yang dijual di pasar tradisional Kecamatan Klaten Tengah, secara kualitatif maupun kuantitatif. Sampel diambil dari Pasar Gedhe Klaten (G1-G7) dan Pasar Srago (S1-S3). Seluruh sampel diuji secara organoleptis, kualitatif, menggunakan reagen KMnO_4 , Fehling, Schiff, dan asam kromatofat, serta kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis yang tervalidasi, termasuk penentuan panjang gelombang maksimum.

3.1. Uji Organoleptis Tahu Putih

Seluruh sampel tahu putih dari Pasar Gedhe Klaten dan Pasar Srago diamati selama tiga hari pada suhu ruang dan dibandingkan dengan tahu kontrol positif (tahu formalin 40 ppm). Kontrol positif mempertahankan aroma kimia, tekstur padat tanpa lendir, dan warna putih bersih tanpa pertumbuhan jamur hingga hari ketiga. Sebaliknya, seluruh sampel tahu menunjukkan tanda pembusukan sejak hari kedua, meliputi perubahan aroma menjadi asam fermentasi, tekstur berlendir, dan warna kekuningan disertai pertumbuhan jamur. Proses ini disebabkan aktivitas mikroorganisme pembusuk yang memanfaatkan kadar air dan protein tinggi pada tahu, menghasilkan senyawa asam dan lendir, serta memicu pertumbuhan kapang (Widianto et al., 2021). Tidak adanya perlambatan pembusukan mengindikasikan sampel tidak mengandung formalin. Berbeda dengan kontrol positif yang terjaga kualitasnya akibat reaksi ikatan silang antara gugus aldehid formalin dan protein tahu (Rosita, 2022) Hasil pengamatan tahu kontrol dan sampel tahu pada hari ke-3 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pengamatan Uji Organoleptis pada Hari ke-3

3.2. Uji Kualitatif Formalin pada Tahu Putih

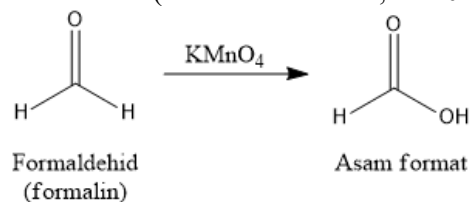
Uji kualitatif formalin menggunakan reagen yang dapat mendeteksi keberadaan aldehid pada sampel, reagen yang digunakan yaitu KMnO_4 , Fehling, Schiff, dan asam kromatofat. Dari seluruh sampel yang diuji menunjukkan hasil negatif, ditandai tidak adanya perubahan warna pada setiap reagen jika dibandingkan dengan kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Kualitatif pada Sampel

Sampel	Reagen				Ket
	KMnO_4	Fehling	Schiff	AK	
K(+)	+	+	+	+	+
K(-)	-	-	-	-	-
G1	-	-	-	-	-
G2	-	-	-	-	-
G3	-	-	-	-	-
G4	-	-	-	-	-
G5	-	-	-	-	-
G6	-	-	-	-	-
G7	-	-	-	-	-
S1	-	-	-	-	-
S2	-	-	-	-	-
S3	-	-	-	-	-

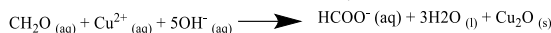
Pada pengujian dengan KMnO_4 , gugus aldehid pada formalin teroksidasi menjadi asam karboksilat oleh KMnO_4 sebagai oksidator kuat, sehingga larutan berubah dari ungu menjadi cokelat, dapat dilihat pada Gambar 2 (Sulthoniyah and

Rachmawati, 2022). Mekanisme ini tidak sepenuhnya selektif terhadap formalin karena KMnO_4 juga dapat bereaksi dengan senyawa reduktor lain, seperti asam askorbat (Arifah et al., 2024).



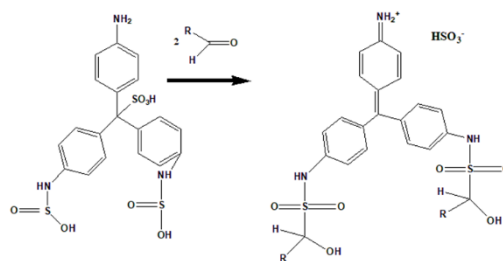
Gambar 2. Reaksi Formalin dengan KMnO_4

Pengujian Fehling membedakan aldehid dari keton melalui oksidasi gugus aldehid oleh ion Cu^{2+} dalam suasana basa menjadi asam karboksilat, disertai pembentukan endapan merah bata Cu_2O setelah pemanasan, dapat dilihat pada Gambar 3. Pemanasan diperlukan karena reagen Fehling kurang selektif terhadap aldehid pada suhu ruang (Fitri & Fitriana, 2020; Marliza et al., 2019).



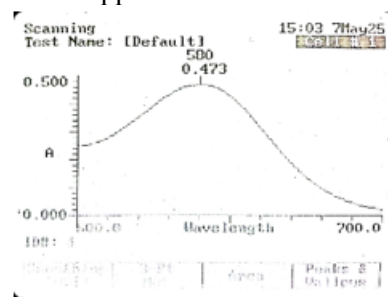
Gambar 3. Reaksi Formalin dengan Fehling

Reagen Schiff mendeteksi gugus aldehid melalui kembalinya warna merah keunguan fuchsin yang sebelumnya didekolorisasi oleh sulfur dioksida, reaksi terdapat pada Gambar 4 (Sulthoniyah and Rachmawati, 2022). Perubahan warna ini menandakan adanya gugus aldehid, sehingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi formalin. Pada tahap akhir identifikasi, digunakan reagen asam kromatofat untuk mengkonfirmasi keberadaan formalin. Reagen ini bekerja dengan membentuk kompleks berwarna ungu ketika bereaksi dengan formalin dalam suasana asam, terutama jika proses dipercepat melalui pemanasan (Ayuchecaria et al., 2017; Rosita, 2020).



Gambar 4. Reaksi Formalin dengan Schiff

Berdasarkan hasil uji organoleptis serta identifikasi kualitatif menggunakan keempat jenis reagen, seluruh sampel dinyatakan negatif, sehingga dilakukan konfirmasi lanjutan melalui penentuan panjang gelombang maksimum formalin menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Standar dan sampel *discanning* dengan Spektrofotometer UV-Vis pada rentang 500-700 nm. Pada Gambar 5, panjang gelombang maksimum pada standar formalin 60 ppm sebesar 580 nm.



Gambar 5. Panjang Gelombang Standar Formalin

3.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan *Operating Time*

Penentuan panjang gelombang maksimum dan *operating time* untuk memperoleh kondisi pengukuran optimal, yaitu pada panjang gelombang di mana absorbansi larutan mencapai puncaknya (Apriliyani et al., 2018) dan dalam rentang waktu saat absorbansi berada dalam keadaan stabil. Penentuan panjang gelombang maksimum standar formalin menggunakan larutan standar formalin 60 ppm dengan penambahan reagen asam kromatofat menghasilkan puncak serapan di 580 nm dapat dilihat pada Gambar 5, sesuai dengan penelitian yang dilakukan Fernandez et al., (2018). *Operating time* diperoleh pada menit ke-17 hingga ke-28, saat absorbansi stabil. Seluruh sampel yang

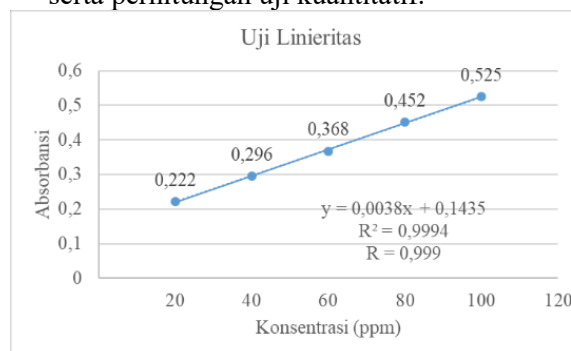
diuji menunjukkan puncak serapan lemah pada rentang 510-580 nm dengan nilai absorbansi 0,02-0,05, jauh di bawah kontrol positif (0,304).

3.4. Validasi Metode

Sebelum uji kuantitatif, metode spektrofotometri UV-Vis divalidasi untuk memastikan ketepatan dan konsistensi sesuai pedoman USP dan ICH (*Validation of Analytical Procedures* Q2(R2), 2023; *Validation of Compendial Procedures*, 2024). Parameter yang diuji meliputi linieritas dan kisaran linier, akurasi, presisi, batas deteksi (LOD), dan batas kuantifikasi (LOQ).

Uji Linieritas

Uji linieritas dilakukan tiga kali replikasi larutan standar formalin pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Dari tiga replikasi tersebut diperoleh rata-rata persamaan regresi $y = 0,0038x + 0,1435$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,999 yang memenuhi kriteria linieritas yang baik ($r \geq 0,997$) dapat dilihat pada Gambar 6 (Suseno, 2021). Nilai *slope* sebesar 0,0038 menunjukkan sensitivitas metode, sedangkan *intersep* 0,1435 menunjukkan variabilitas pengukuran. Data ini selanjutnya digunakan sebagai dasar dalam perhitungan parameter validasi metode, termasuk akurasi, presisi, LOD, dan LOQ, serta perhitungan uji kuantitatif.



Gambar 6. Kurva Baku Uji Linieritas Standar Formalin

Uji Akurasi

Uji akurasi dilakukan untuk memperoleh kedekatan hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya (Muslich, Isnaeni and Sudjarwo, 2020). Dua metode uji akurasi berupa metode

penambahan baku (*standard addition method*) dan metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) (Umbingo et al., 2015). Uji akurasi dilakukan menggunakan metode *spike-placebo recovery* penambahan tiga tingkat konsentrasi formalin (20, 40, dan 60 ppm) pada supernatan tahu kontrol positif formalin 40 ppm, masing-masing konsentrasi direplikasi tiga kali. Parameter ini dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*%recovery*) dengan kriteria penerimaan 90-107% untuk konsentrasi 10-100 ppm (AOAC, 2016). Hasil yang diperoleh untuk ketiga konsentrasi adalah 97,807%, 98,684%, dan 101,023% yang dapat dilihat pada Tabel 2 memenuhi kriteria yang dipersyaratkan.

Tabel 2. Hasil Uji Akurasi

Kons Baku (ppm)	X̄ Kadar (ppm)			SD Baku (ppm)	R' (%)
	Non Spike	Spike	Baku		
20	41,009	60,570	19,561	1,081	97,807
40	41,447	80,921	39,474	0,985	98,684
60	40,921	101,535	60,614	1,554	101,023

Uji Presisi

Uji presisi mengacu pada pedoman ICH (ICH, 2023) yang mengklasifikasikan presisi ke dalam tiga tingkatan, yaitu *repeatability* (keterulangan), *intermediate precision* (presisi antara), dan *reproducibility* (ketertiruan). Pada penelitian ini uji presisi mencakup *repeatability* (*intraday*) dan *intermediate precision* (*interday*). Uji *repeatability* dilakukan dalam satu hari dengan kondisi konsisten (personel, peralatan, lokasi, dan waktu sama), sedangkan *intermediate precision* dilakukan pada hari kedua dan ketiga untuk menilai konsistensi hasil pada kondisi bervariasi. Pengujian dilakukan pada konsentrasi formalin 60 ppm yang berada pada rentang konsentrasi 10-100 ppm dengan batas penerimaan %RSD Horwitz ($\leq 8\%$) (Horwitz & Albert, 2006). Hasil uji presisi selama tiga hari diperoleh nilai %RSD 1,206% yang dapat memenuhi syarat %RSD pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Presisi

Ha ri ke -	Rata- Rata Kada r Haria n (ppm)	Rata- Rata Kadar (ppm)	SD (ppm)	RSD (%)
1	58,24 6			
2	57,58 8	58,377	0,704	1,206
3	59,29 8			

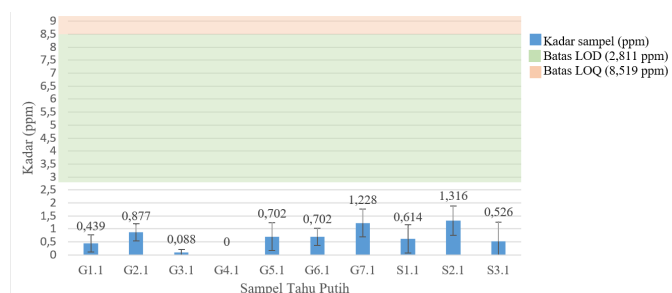
Uji LOD dan LOQ

Batas deteksi (LOD) adalah konsentrasi analit terendah yang masih dapat terdeteksi, sedangkan batas kuantifikasi (LOQ) adalah konsentrasi terendah yang dapat diukur secara kuantitatif (Validation of Analytical Procedures Q2(R2), 2023). Penentuan LOD dan LOQ dilakukan berdasarkan standar deviasi (SD) dan kemiringan (*slope*) dari kurva kalibrasi. Nilai *slope* persamaan regresi yang diperoleh adalah 0,0038 dengan nilai SD yang diperoleh 0,003237 ppm. Perhitungan menggunakan rumus $LOD = 3,3 \times (SD/slope)$ menghasilkan nilai LOD sebesar 2,811 ppm, sedangkan $LOQ = 10 \times (SD/slope)$ menghasilkan nilai LOQ sebesar 8,519 ppm. Hasil menunjukkan bahwa metode Spektrofotometri UV-Vis yang digunakan memiliki kemampuan mendeteksi formalin pada konsentrasi rendah 2,811 ppm serta mengukurnya secara kuantitatif pada 8,519 ppm.

3.5. Uji Kuantitatif Formalin pada Sampel

Metode spektrofotometri UV-Vis yang telah tervalidasi digunakan untuk uji kuantitatif formalin pada sampel tahu putih yang diduga mengandung formalin. Formalin tidak memiliki gugus kromofor, sehingga ditambahkan reagen asam kromatofat untuk membentuk kompleks atau derivat berwarna ungu yang dapat diukur serapannya. Pengujian dilakukan menggunakan metode *spiking* dengan penambahan larutan formalin 40 ppm pada sampel (*spike*), kemudian kadar formalin

dihitung dari selisih antara sampel *spike* dan larutan standar formalin. Hasil pengujian menunjukkan kadar formalin pada sampel berada pada rentang 0-1,316 ppm, di bawah nilai LOD (2,811 ppm) dan LOQ (8,519 ppm) dapat dilihat pada Gambar 6. Temuan ini mengindikasikan bahwa seluruh sampel yang diuji terkonfirmasi negatif formalin secara kuantitatif.



Gambar 7. Hasil Analisis Kuantitatif dengan metode *Spiking*

4. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa informasi mengenai keberadaan formalin pada tahu putih yang beredar di pasar tradisional Kecamatan Klaten Tengah, terutama Pasar Gedhe Klaten dan Pasar Srago. Kedua pasar tersebut sebagai pusat distribusi pangan sehingga adanya pemantauan keamanan pangan menjadi aspek yang krusial. Seluruh sampel tahu putih dari dua pasar tradisional tersebut, terkonfirmasi tidak mengandung formalin berdasarkan uji organoleptis, uji kualitatif dan kuantitatif. Seluruh sampel dikonfirmasi melalui uji kuantitatif dengan metode *spiking* didapatkan tidak mengandung formalin. Metode kualitatif dan kuantitatif ini dapat menjamin keamanan tahu yang beredar di Pasar Kecamatan Klaten.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Fakultas Kesehatan memberikan fasilitas penelitian di Laboratorium Farmasi UNJAYA, serta kepada seluruh tim analisis tahu putih.

REFERENSI

- Anindita, G. (2019). *Penetapan Kadar Formalin dalam Ikan Asin di Pasar Wilayah Kecamatan Jebres dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis*. Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.
- Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (2016). <https://doi.org/10.1093/9780197610145.005.006>
- Apriliyani, S. A., Martono, Y., Riyanto, C. A., Mutmainah, M., & Kusmita, L. (2018). Validation of UV-VIS Spectrophotometric Methods for Determination of Inulin Levels from Lesser Yam (*Dioscorea esculenta* L.). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 21(4), 161–165. <https://doi.org/10.14710/jksa.21.4.161-165>
- Arifah, F. N., Fitria, F., & Septyaningrum, E. (2024). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Vitamin C pada Buah Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels.). *Jurnal Pharma Bhakta*, 4(2), 47–54.
- Arziah, D., Yusmita, L., & Ariyetti. (2019). Analisis Mutu Tahu dari Beberapa Produsen Tahu di Kota Padang. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*, 23(2), 143–148.
- Ayuchecaria, N., Sari, A. K., & Fatmawati, E. (2017). Analisis Kualitatif Formalin pada Ayam yang Dijual di Pasar Lama Wilayah Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(1), 51–59.
- Dewi, S. R. (2019). Identifikasi Formalin pada Makanan Menggunakan Ekstrak Kulit Buah Naga. *Jurnal Nasional Ilmu Kesehatan (JNIK)*, 2(1), 45–51.
- Djamal, N., Cahyadi, D., & Maulana, Y. A. (2023). Analisis Kualitas Produk Tahu Kuning dengan Metode Six Sigma-Kaizen di PD. TBS. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ*, 1–9.
- Fernandez, J. P. S., Mendoza, M. D. V., Torre, B. C. B., & Quinto, E. C. (2018). Development of a Detection Method of Formalin in Foods Based on Chromotropic Acid Test. *Department of Chemical Engineering, University of Santo Tomas Manila, Philippines*.
- Fitri, A. S., & Fitriana, Y. A. N. (2020). Analisis Senyawa Kimia pada Karbohidrat. *Sainteks*, 17(1), 45–52. <https://doi.org/10.30595/sainteks.v17i1.8536>
- Fitrianingsih, N., Mustafa, C. H., & Sunyoto, S. (2019). Penetapan Kadar Formalin pada Tahu di Pasar X dengan Metode Spektrofotometri Visible. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 10(1), 10–17. <https://doi.org/10.61902/cerata.v10i1.69>
- Herdhiansyah, D., Reza, R., Sakir, S., & Asriani, A. (2022). Kajian Proses Pengolahan Tahu: Studi Kasus Industri Tahu di Kecamatan Kabangka Kabupaten Muna. *Agritech: Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto*, 24(2), 231–237. <https://doi.org/10.30595/agritech.v24i2.13375>
- Horwitz, W., & Albert, R. (2006). The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision. *Journal of AOAC International*, 89(4), 1095–1109. <https://doi.org/10.1093/jaoac/89.4.1095>
- ICH. (2023). *Validation of Analytical Procedures Q2(R2)*.
- Kiroh, N., Tiwow, G., Paat, V., & Ginting, A. (2019). Analisis Formalin Pada Tahu Yang Beredar di Pasar Tomohon, Pasar Tondano dan Pasar Karombasan. *Biofarmasetikal Tropis*, 2(1), 78–84. <https://doi.org/10.55724/jbiofartrop.v2i1.42>
- Marliza, H., Suhaera, S., & Saputri, T. A. (2019). Analisis Kualitatif Formalin pada Ikan Asin di Pasar Jodoh Kota Batam. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 16(02), 307–314.
- Miasur, M. P., Suhardi, B., & Suletra, I. W. (2021). Pengukuran Pemenuhan Standar GMP dan WISE pada Pabrik Tahu Karya Mukti Bandungan. *Performa: Media Ilmiah Teknik Industri*, 20(2), 189–198. <https://doi.org/10.20961/performa.20.2.53448>

- Muslich, M. A., Isnaeni, I., & Sudjarwo, S. (2020). Validasi Metode Spektrofotometri UV untuk Penetapan Kadar Kolkisin dalam Infus Kembang Sungsang. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 7(1), 7–13.
- Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 7 Tahun 2018 Tentang Bahan Baku Yang Dilarang Dalam Pangan Olahan, Bpom Ri 1 (2018).
- Rahmawati, Y. D. (2022). Analisis Kualitatif Formalin pada Tahu yang Beredar di Pasar Desa Kupu Kota Brebes. *Jurnal Gizi Aisyah*, 5(2), 12–16.
- Rosita, N. (2020). Analisis Kandungan Formalin pada Tahu di Pasar Tradisional dan Pasar Swalayan Kota Tangerang Selatan. In *Pusat Penelitian dan Penerbitan (Puslitpen) LP2M UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*.
- Rosita, N. (2022). Uji Formalin pada Tahu yang Diperdagangkan di Ciputat Tangerang Selatan. *Dalton : Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, 5(1), 51–59.
<https://doi.org/10.31602/dl.v5i1.6766>
- Salsabila, A. N. Z. (2024). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Kandungan Formalin pada Tahu di 5 Pasar Tradisional Kabupaten Sleman. *Nautical : Jurnal Ilmiah Multidisiplin*, 3. <https://jurnal.arkainstitute.co.id/index.php/nautical/index>
- Sari, N. A., & Hidayah, N. (2021). Identifikasi Kadar Formalin Pada Tahu Mentah Yang Dijual Di Pasar Tradisional Kota Banjarmasin. *Journal of Pharmaceutical Care and Sciences*, 2(1), 5–14.
- Sinurat, J. P., Karo, R. M. B., & Syarifuddin, S. (2023). Sosialisasi Penyalahgunaan dan Bahaya Formalin Sebagai Pengawet dalam Bahan Makanan di Kecamatan Lubuk Pakam. *Jurnal Pengmas Kestra (Jpk)*, 3(1), 88–93.
<https://doi.org/10.35451/jpk.v3i1.1767>
- Sulthoniyah, S. T. M., & Rachmawati, N. F. (2022). Identifikasi Kandungan Formalin dan Boraks pada Ikan Asin di Pasar Tradisional Karangrejo Kecamatan Banyuwangi. *Jurnal Ilmu Perikanan Dan Kelautan*, 4(2), 78–83.
- Suseno, D. (2021). Validasi Metode Analisis Formalin dan Aplikasinya Pada Ikan Asin. *Jurnal Agroindustri Halal*, 7(2), 173–182.
- Umbingo, S. C., Sudewi, S., & Wewengkang, D. S. (2015). Validasi Metode Analisis Formalin dalam Daging Paha Ayam Di Kota Manado. *Pharmacon*, 4(3), 139–146.
- Validation of Analytical Procedures Q2(R2), ICH Harmonisation for Better Helath 1 (2023).
- Validation of Compendial Procedures, 6 (2024).
- Widianto, W., Sudaryantiningasih, C., & Pambudi, Y. S. (2021). Analisa Cemarkan Eschericia Coli dan Salmonella SP serta Kualitas Fisik Tahu ditinjau dari Sanitasi Pabrik Tahu di Sentra Industri Tahu Krajan Mojosongo Surakarta. *Intelektiva : Jurnal Ekonomi, Sosial & Humaniora*, 03(03), 1–11.
- Wulandari, N. A., & Arifah, M. F. (2024). Identifikasi Kandungan Formalin Pada Tahu Putih di Pasar Gamping dan Pasar Sleman Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.