

Bidang Ilmu: MIPA

**LAPORAN HASIL PENELITIAN
HIBAH BERSAING PERGURUAN TINGGI
Tahun Anggaran 2012**

**PENGEMBANGAN SENSOR KIMIA UNTUK
MONITORING PENGAWET DI DALAM
MAKANAN DAN MINUMAN**

Tim Peneliti:

Drs. Marudut Sinaga, M.Si

Herlinawati, S.Si., M.Si

Lisnawaty Simatupang, S.Si., M.Si



THE Character Building
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN
MEDAN**

November, 2012

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN HIBAH BERSAING TAHUN 2012**

1. Judul : **Pengembangan Sensor Kimia Untuk Monitoring Bahan Pengawet Di Dalam Makanan Dan Minuman**

2. Ketua Peneliti

- | | |
|--|--|
| a. Nama Lengkap | : Drs. Marudut Sinaga, M.Si |
| b. Jenis kelamin | : Laki-laki |
| c. NIP | : 196302161996031001 |
| d. Jabatan Fungsional | : Lektor |
| e. Jabatan Struktural | : - |
| f. Fakultas / Jurusan | : Kimia, FMIPA |
| g. Lembaga Penelitian | : LP Universitas Negeri Medan (UNIMED) |
| h. Alamat | : Jurusan Kimia, FMIPA, UNIMED, Jl. Willem Iskandar Prs. V Medan, Sumatera Utara (20221) |
| h. Alamat Rumah | : Jl. Beo Indah I No 11 Medan, Sumatera Utara |
| 3. Perguruan Tinggi | : Universitas Negeri Medan (UNIMED) |
| 4. Jangka Waktu Penelitian | : 3 (tiga) tahun |
| a. Biaya tahun 2012 yg diajukan ke Dikti | : Rp. 40.000.000 (empat puluh juta rupiah) |
| b. Biaya tahun 2012 dari instansi lain | : Rp. - |

Medan, 30 Nopember 2012
Ketua Peneliti,

Mengetahui:

Dekan, FMIPA UNIMED,



Prof. Drs. Motlan, M.Sc. Ph.D
NIP. 195908051986011001

Drs. Marudut Sinaga, M.Si
NIP. 1196302161996031001

Menyetujui:

Ketua Lembaga Penelitian Universitas Negeri Medan,



Prof. Drs. Manihar Situmorang, M.Sc. Ph.D
NIP. 196008041986011001

RINGKASAN

Pengembangan sensor kimia melalui integrasi senyawa kimia aktif dengan peralatan (elektronik) untuk penentuan kadar pengawet benzoat, formaldehida dan nitrit di dalam makanan dan minuman dijelaskan dalam laporan hasil penelitian ini. Penelitian tahap pertama adalah membuat rancang bangun sensor kimia dengan sistem deteksi spektrofotometri yang memberikan respon selektif terhadap berbagai jenis bahan pengawet seperti; benzoat, formaldehida dan nitrit yang terdapat di dalam makanan dan minuman.

Untuk penentuan benzoat sistem deteksi yang digunakan adalah spektrofotometri UV/Vis pada panjang gelombang (λ) 229,65 nm dengan kurva kalibrasi larutan standar 0,05-50 ppm benzoat, Sensor kimia menunjukkan linearitas yang cukup baik, yaitu berada pada skala konsentrasi 0,05 – 40 ppm benzoat, dengan slop 0,0613 au/ppm benzoat, dan batas deteksi berada pada 0,01 ppm benzoat. Untuk menguji selektifitas sensor pada penentuan benzoat, terhadap larutan standar 10 ppm benzoat ditambahkan masing-masing 1 mM senyawa senyawa pengganggu (interferen) yang diduga sering ditambahkan ke dalam makanan dan minuman seperti; glukosa, fruktosa, kolesterol, asam askorbat (vitamin C), beberapa jenis garam seperti; NaCl, protein albumin, dan asam amino fenil alanin, dan campuran. Beberapa senyawa interferen yang dianalisis memberikan respon yang kecil bila dibandingkan terhadap senyawa benzoat, dan hanya kolesterol yang memberikan respon yang tinggi (35%), sedangkan respon dari senyawa interferen lainnya (1-12%). Penentuan formaldehida dengan menggunakan senyawa senyawa pengkompleks yaitu asam kromatofat diukur pada λ 563,58 nm dengan kurva kalibrasi larutan standar formaldehida 0,2, 0,8, 1,4, 2, 5, 8, 10 ppm. Dari kurva kalibrasi diperoleh konsentrasi yang membentuk garis linearitas adalah konsentrasi 0,2 sampai 2 ppm. Pengaruh pH terhadap analisis formaldehida dilakukan dengan menggunakan larutan buffer posfat 0,01 M pada variasi pH; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8) sebagai pelarut. pH optimum yaitu pada pH 3 dengan panjang gelombang 560,20 nm. Zat pengganggu dari golongan aldehyd, keton, eter, ester, garam-garam, protein, alkohol, asam askorbat serta campuran, dapat mempengaruhi panjang gelombang dan absorbansi dari formaldehida. Senyawa pengganggu yang memberikan pengaruh paling besar adalah asam askorbat (Vitamin C) dengan pergeseran panjang gelombang sebesar 221,58 nm. Penentuan linearitas dan sensitifitas pada penentuan nitrit dilakukan dengan mengukur campuran yang terdiri dari larutan standar nitrit dengan konsentrasi yang bervariasi yaitu 0,1 ; 0,3 ; 0,5 ; 0,8 ; 1,0 ; 3,0 ; 5,0 ; 8,0 ; 10 ; 13 ; dan 15 ppm, senyawa pengikat asam sulfanilat, dan senyawa pengkompleks NED dan diukur setelah 5 menit pada panjang gelombang 547,3 nm. Dari kurva kalibrasi diperoleh konsentrasi yang membentuk garis linearitas adalah konsentrasi 0,1 sampai 8 ppm. Pengaruh zat pengganggu terhadap analisis nitrit dilakukan dengan cara 50 μ L natrium nitrit 5 mM dicampurkan dengan masing-masing 50 μ L zat pengganggu 5 mM lalu ditepatkan dengan buffer pH 2 pada labu ukur volume 10 mL. Dari hasil pengukuran diperoleh bahwa semua senyawa pengganggu yang ditambahkan memberikan pengaruh terhadap pengukuran serapan natrium nitrit, dan senyawa pengganggu yang memberikan pengaruh lebih besar adalah asam askorbat dengan pergeseran panjang gelombang sebesar 3,8 nm.

Rancang bangun sensor kimia dengan sistem deteksi spektrofotometri diaplikasikan untuk penentuan asam benzoat di dalam minuman ringan, penentuan formaldehida dalam berbagai jenis ikan asin dan tahu dan penentuan nitrit dalam sampel daging olahan. Konsentrasi benzoat, formaldehida dan nitrit dalam masing-

masing sampel yang dianalisis ditetapkan dengan mensubstitusikan absorbansi terukur pada panjang gelombangnya ke dalam masing-masing persamaan regresi yang dihasilkan dari kurva kalibrasi. Kadar pengawet benzoat yang terdapat di dalam sampel minuman ringan bervariasi antara 7 – 700 ppm. Kandungan formaldehida tertinggi dijumpai dalam ikan asin kepala batu (74,74 ppm) sementara kandungan formaldehida terendah yaitu pada Tahu Medan Sentosa (0,08 ppm). Dalam sampel Sosis C kadar pengawet nitrit adalah 101.26 ppm dan dalam sampel daging burger I sebesar 2.43 ppm, sedangkan pada bakso dan sosis A tidak terdapat pengawet natrium nitrit.



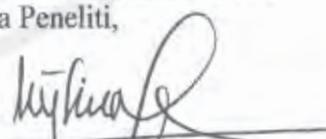
THE
Character Building
UNIVERSITY

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, atas segala berkatNya yang telah memberikan kesehatan dan hikmat kepada tim peneliti sehingga tahapan penelitian Desentralisasi Skim Hibah Bersaing Tahun 2012 ini dapat terselesaikan dengan baik sesuai dengan waktu yang direncanakan.

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada tim peneliti yang sudah bekerjasama dan bekerja keras dalam pelaksanaan penelitian ini, membantu dalam proses pelaksanaan penelitian sampai penyusunan laporan hasil penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Pimpinan Proyek Penelitian Hibah Bersaing Dirjen Dikti Depdiknas yang sudah memberikan dana penelitian sehingga tahap penelitian tahun pertama ini dapat dilaksanakan. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada pimpinan Universitas Negeri Medan dan semua pihak yang sudah membantu tim peneliti dalam pelaksanaan penelitian ini. Penulis berharap agar hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi ilmiah tentang pengembangan sensor kimia untuk monitoring bahan pengawet di dalam makanan dan minuman. Kiranya hasil penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi serta merupakan langkah awal di dalam pengembangan sensor kimia untuk monitoring bahan pengawet di dalam makanan dan minuman.

Medan, 20 Nopember 2012
Ketua Peneliti,

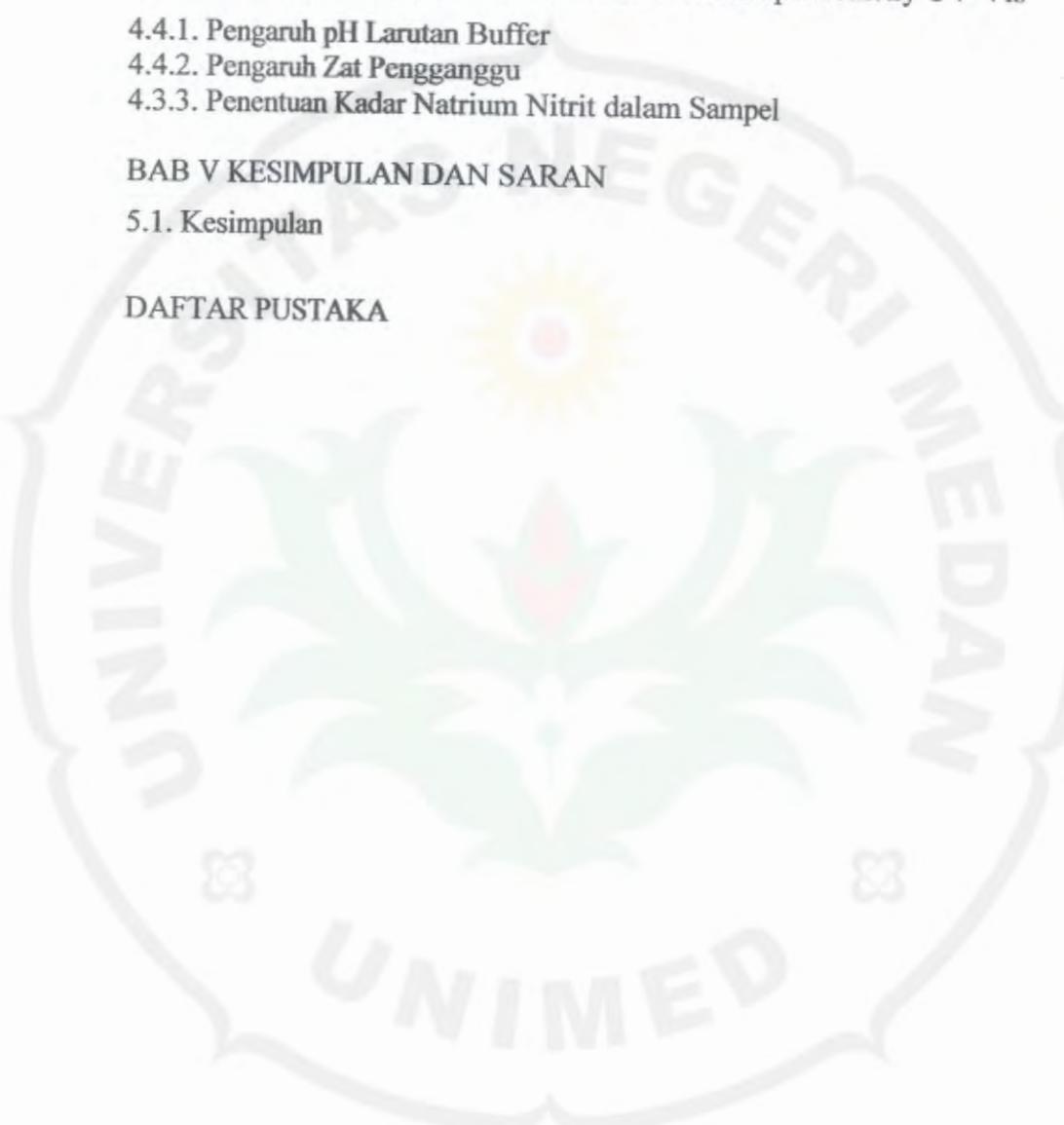


Drs. Marudut Sinaga, M.Si
NIP. 196302161996031001

DAFTAR ISI

Lembar Pengesahan	i
Ringkasan	ii
Kata Pengantar	iv
Daftar Isi	v
Daftar Gambar	vii
Datar Tabel	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latarbelakang Masalah	1
1.2. Perumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II STUDI PUSTAKA	5
2.1. Latarbelakang Masalah Penelitian	5
2.2. Bahan Pengawet Makanan dan Minuman	7
2.3. Analisis Menggunakan Sensor Kimia dan Biosensor	12
2.6. Hipotesis Penelitian	13
BAB III METODE PENELITIAN	14
3.1. Rancangan Penelitian	14
3.2. Prosedur Penelitian dan Pembuatan Sensor Kimia	14
3.2.1. Sensor Kimia Penentuan Pengawet Benzoat	15
3.2.2. Sensor Kimia Penentuan Pengawet Formaldehid	16
3.2.3. Sensor Kimia Penentuan Pengawet Nitrit	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1. Pembuatan Sensor Kimia Penentuan Benzoat	22
4.2. Respon Sensor Kimia Penentuan Benzoat Deteksi Potensiometri	23
4.3. Sensor Kimia Penentuan Benzoat Dalam Deteksi Spektrofotometry UV	24
4.3.1. Respon Sensor Kimia Terhadap Senyawa Pengganggu	27
4.4.2. Penentuan Benzoat di Dalam Minuman	29
4.4. Sensor Kimia Penentuan Formaldehida Secara Spektrometry UV-Vis	30
4.4.1. Pengukuran dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis	31
4.4.2. Pengaruh pH Larutan Buffer	32
4.4.3. Pengaruh Zat Pengganggu	33

4.4.4. Penentuan Kadar Formaldehida dalam Sampel	34
4.4. Sensor Kimia Penentuan Nitrit Dalam Deteksi Spektrometry UV-Vis	35
4.4.1. Pengaruh pH Larutan Buffer	36
4.4.2. Pengaruh Zat Pengganggu	38
4.3.3. Penentuan Kadar Natrium Nitrit dalam Sampel	39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1. Kesimpulan	41
DAFTAR PUSTAKA	43



THE
Character Building
UNIVERSITY

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3.1. Rancang bangun sensor kimia dalam sistem statis yang terdiri atas: analit, senyawa kimia aktif, transduser terdiri atas komponen elektronik, amplifikasi signal, dan signal prosessor (Power Lab) pada mikrokomputer.	14
Gambar 4.1. Voltammogram CV untuk elektrodeposisi polityramin pada elektroda W pada 0.50 V per detik pada 0,1 M tyramin dilarutkan dalam buffer fosfat (0,01M, pH 6,0) untuk pembuatan elektroda W/Pty/Mod.	22
Gambar 4.2. Respon sensor benzoat terhadap asam benzoat standar: (a) 0,1 mM, (b) 0,3 mM, (c) 0,5 mM, (d) 0,8 mM, (e) 1,0 mM, (f) 1,5 mM asam benzoat, menggunakan sensor W/Pty/Mod vs Ag/AgCl.	23
Gambar 4.3. Kurva kalibrasi larutan asam benzoat yang dianalisis menggunakan sensor W/Pty/Mod vs Ag/AgCl dalam deteksi potensiometri.	24
Gambar 4.4. Kurva kalibrasi larutan standar benzoat di dalam sensor kimia pada variasi pelarut: (■) 1 mM HCl, (Δ) 1 mM H ₂ SO ₄ , (◆) netral H ₂ O, dan (O) 1 mM NaOH.	25
Gambar 4.5. Respon sensor kimia penentuan pengawet benzoat dalam deteksi spektrofotometri UV: (a) Signal hasil pengukuran 10 ppm benzoat dalam 1 mM HCl pada λ 200 – 380 nm, dan (b) Kurva kalibrasi larutan standar 1-50 ppm benzoat diukur pada λ 229,65 nm (plot merupakan rata-rata dan SD 4 ulangan).	27
Gambar 4.6. Pengaruh interferen terhadap respon sensor kimia penentuan benzoat dan dalam deteksi spektrofotometri UV. Ke dalam 10 ppm benzoat ditambahkan 1 mM berbagai jenis interferen. Pengukuran dilakukan pada λ 229,65 nm, dan kondisi percobaan sama seperti pada Gambar 4.5.	28
Gambar 4.7. Analisis benzoat di dalam berbagai jenis minuman ringna menggunakan Sensor Kimia hasil pengembangan dan Metode Standar HPLC. Pengukuran sensor kimia dilakukan pada λ 229,65 nm, dan kondisi percobaan sama seperti pada Gambar 4.5.	30
Gambar 4.8. Sampel formaldehida hasil destilasi dari 20 gram sampel yang telah dipreparasi di dalam pelarut air. Destilasi dilakukan secara perlahan di dalam labu destilasi uap yang mengandung 100 mL air dan 5 mL asam fosfat 10% dan destilat ditampung di dalam pelarut air.	31

- Gambar 4.9. (a) Respon sensor kimia penentuan formaldehida untuk analisis 5 ppm formaldehida secara spektrofotometri UV-Vis setelah perlakuan dengan asam kromatofat, (b) Kurva kalibrasi penentuan formaldehida dideteksi pada panjang gelombang maksimum 560,20 nm. 32
- Gambar 4.10. Pengaruh pH pada panjang gelombang maksimum masing-masing pH terhadap absorbansi larutan pada masing-masing konsentrasi untuk analisis (ppm) formaldehida secara spektrofotometri uv-vis setelah perlakuan dengan asam kromatofat. 33
- Gambar 4.11. (a) Panjang gelombang maksimum nitrit 0,8 $\mu\text{g/mL}$ secara spektrofotometri UV-Vis setelah mereaksikan Nitrit dengan senyawa pengikat yakni asam sulfanilat dan senyawa pengkompleks yakni NED, (b) Kurva linearitas larutan standar natrium nitrit pada panjang gelombang 547,30 nm setelah direaksikan dengan senyawa pengikat asam sulfanilat dan senyawa pengkompleks NED. 36
- Gambar 4.12. Pengaruh pH pada panjang gelombang maksimum masing-masing pH terhadap absorbansi larutan pada masing-masing konsentrasi. Nitrit dianalisis pada variasi konsentrasi 0,1; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0; 3,0; 5,0; dan 8,0 $\mu\text{g/mL}$ dengan mereaksikannya dengan senyawa pengikat yakni asam sulfanilat dan senyawa pengkompleks yakni NED dengan menggunakan pelarut buffer pH 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 8. 37
- Gambar 4.13. Penentuan Waktu Kerja Optimum dengan Menggunakan larutan standar nitrit 0,8 mg/L. Larutan nitrit 0,8 mg/L direaksikan dengan senyawa pengikat yakni asam sulfanilat dan senyawa pengkompleks yakni NED dengan pelarut buffer pH 2. Waktu kerja diukur pada waktu 1-30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 542,75 nm. 38
- Gambar 4.14. Sampel daging olahan yang telah dipreparasi yang akan diukur secara spektrofotometri UV-Vis. 39

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Beberapa senyawa pengawet makanan dan minuman serta pengaruhnya terhadap kesehatan manusia (http://www.membuatblog.web.id/2010/08/bahan-pengawet-pada-makanan.html)	8
Tabel 2.2. Beberapa senyawa kimia pengawet dan aditif yang berbahaya bagi kesehatan manusia (http://www.traditionaloven.com/articles/122/dangerous-food-additives-to-avoid)	8
Tabel 4.1. Kurva kalibrasi larutan standar benzoat di dalam sensor kimia pada variasi pelarut: (■) 1 mM HCl, (Δ) 1 mM H ₂ SO ₄ , (◆) netral H ₂ O, dan (O) 1 mM NaOH.	26
Tabel 4.2. Pengaruh zat pengganggu terhadap pergeseran panjang gelombang dan absorbansi	34
Tabel 4.3. Kadar formaldehida dalam sampel ikan asin dan tahu	35
Tabel 4.4. Pengaruh Zat Pengganggu Terhadap Pergeseran Panjang Gelombang dan Absorbansi	38
Tabel 4.5. Kadar NaNO ₂ (ppm) dalam Sampel Daging Olahan. Sampel hasil preparasi direaksikan dengan dengan senyawa pengikat asam sulfanilat dan senyawa pengkompleks NED, dilarutkan menggunakan buffer pH 2, diinkubasi selama 10 menit, dan diukur pada panjang gelombang 542,75 nm.	40

UNIMED

THE
Character Building
 UNIVERSITY

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latarbelakang Masalah

Penggunaan senyawa pengawet di dalam makanan dan minuman sering sekali tidak dapat dihindari karena berbagai alasan seperti; menjaga kesegaran makanan, menghambat pertumbuhan organisme, memelihara warna bahan makanan, dan untuk menjaga kualitas makanan dan minuman dalam penyimpanan dalam jangka waktu tertentu (Giesova, dkk., 2004). Penggunaan bahan pengawet yang aman bagi kesehatan diperbolehkan sepanjang masih berada dalam batas tingkat ambang batas toletansi (Friedman dan Juneja, 2010). Akan tetapi, sering dikeluhkan adanya bahan pengawet makanan yang ditambahkan ke dalam makanan dalam jumlah yang melebihi ambang batas yang diperbolehkan sehingga dapat mengakibatkan permasalahan terhadap kesehatan (Eigenmann dan Haenggeli, 2007). Untuk mengetahui kehadiran bahan pengawet di dalam makanan sangat diperlukan instrumen yang baik yang dapat memberikan informasi akurat kadar senyawa pengawet di dalam makanan dengan cepat.

Kebutuhan akan instrumen analisis yang memiliki daya analisis akurat, selektif, sensitif, cepat dan sederhana untuk memonitoring bahan pengawet di dalam makanan dan minuman sangat diperlukan karena dapat memberikan informasi yang tepat tentang komponen penyusun makanan dan minuman. Instrumen analisis untuk penentuan senyawa-senyawa pengawet makanan yang diindikasikan sebagai penyebab penyakit sangat mendesak, sehingga memberikan manfaat yang besar pada produsen dan konsumen di dalam produksi dan pemilihan makanan dan minuman yang layak untuk dikonsumsi. Telah diketahui bahwa kehadiran senyawa pengawet yang dikonsumsi melalui makanan dapat menyebabkan beberapa jenis penyakit, dan kehadiran senyawa ini pada kadar tertentu di dalam makanan atau minuman harus dihindarkan (Friedman dan Juneja, 2010). Monitoring kadar senyawa pengawet di dalam makanan dan minuman dapat memberikan informasi terhadap kehadiran senyawa di dalam makanan dan minuman sehingga memudahkan bagi konsumen untuk memilih makanan dan minuman yang layak untuk dikonsumsi sesuai dengan kebutuhan dan kondisi kesehatan konsumen. Monitoring kadar pengawet di dalam makanan dan minuman juga sangat penting dilakukan secara rutin, terutama bagi produsen makanan dan minuman, karena sangat berhubungan dengan kualitas produk

yang akan dipasarkan bagi konsumen yang menginginkan makanan dengan kadar yang aman bagi kesehatan (Bevilacqua, *dkk.*, 2010).

Permasalahan yang dihadapi adalah sulitnya mendapatkan instrumen analisis yang akurat, selektif dan sensitif terhadap berbagai jenis senyawa pengawet, sehingga monitoring terhadap keberadaan senyawa pengawet di dalam makanan dan minuman sulit dilakukan oleh industri makanan dan minuman secara reguler, khususnya industri skala kecil yang belum menasional yang dikonsumsi masyarakat banyak. Instrumen analisis yang sering dipergunakan untuk penentuan senyawa pengawet umumnya adalah berdasarkan perubahan warna (kolorimetri). Metode analisis ini rentan terhadap pengaruh senyawa pengganggu (*interference*), sehingga hasil analisis kurang akurat. Untuk memonitoring kadar pengawet di dalam makanan dan minuman diperlukan instrumen analisis yang akurat, sensitif, selektif, cepat, sederhana dan dengan biaya analisis relatif murah, yaitu menggunakan sensor kimia.

Penelitian yang dilaksanakan ini adalah membuat rancang bangun sensor kimia sebagai instrumen analisis untuk menentukan kadar beberapa senyawa pengawet di dalam makanan dan minuman. Penelitian mencakup penggunaan senyawa kimia sebagai komponen aktif pada transduser untuk penentuan analit target seperti pengawet benzoat, formalin dan nitrat. Komponen-komponen kimia aktif sesuai dengan analit target diintegrasikan dalam sel (kuvet) untuk deteksi spektrofotometri, dan pada permukaan elektroda untuk deteksi elektrokimia (amperometri dan potensiometri) sehingga diperoleh produk instrumen analisis dalam bentuk rancang bangun sensor kimia yang memberikan respon sensitif, selektif, akurat, stabil, keterulangan baik, dan sederhana untuk penentuan bahan pengawet benzoat, formalin dan nitrat yang terdapat di dalam sampel makanan dan minuman.

1.2. Perumusan Masalah

Pencarian instrumen analisis yang baik untuk monitoring bahan pengawet di dalam makanan dan minuman sangat penting dilakukan untuk mendapatkan instrumen analisis dengan daya analisis handal pada penentuan kadar senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit. Metode analisis yang dipergunakan selama ini untuk penentuan kadar senyawa pengawet adalah metode kolorimetri yang rentan terhadap senyawa pengganggu (*interferen*). Penggunaan metode analisis kromatografi menggunakan HPLC diketahui sensitif untuk penentuan beberapa senyawa pengawet seperti benzoat, formalin dan nitrit, akan tetapi, penganalisan menggunakan HPLC

membutuhkan peralatan yang sangat mahal dan biaya operasionalnya juga sangat tinggi, sehingga sulit dijangkau oleh laboratorium kecil untuk analisis rutin. Untuk mengatasi permasalahan ini dibutuhkan instrumen analisis yang akurat, sensitif, selektif, cepat, dan sederhana, yaitu menggunakan sensor okimia. Agar permasalahan penelitian terfokus maka masalah penelitian pada tahap pertama Penelitian Hibah Bersaing Tahun 2012 dirumuskan sebagai berikut:

- (1) Bagaimana cara membuat rancang bangun sensor kimia agar dapat menjadi instrumen analisis yang sensitif, selektif, akurat, cepat, dan stabil terhadap senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit di dalam sampel makanan dan minuman?.
- (2) Bagaimana bentuk rancang bangun sensor kimia yang baik dan handal untuk penentuan kadar senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit yang terkandung di dalam sampel makanan dan minuman?.
- (3) Teknik apa yang baik dipergunakan untuk mengintegrasikan senyawa kimia aktif pada sel (kuvet) agar menjadi transduser sensor untuk penentuan kadar senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit di dalam makanan dan minuman dalam deteksi spektrofotometri?.
- (4) Bagaimana cara memodifikasi instrumen analisis untuk menghasilkan prototipe sensor kimia untuk penentuan senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit yang terdapat di dalam berbagai jenis sampel makanan dan minuman?.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian pada tahap pertama Tahun 2012 adalah membuat rancang bangun sensor kimia sebagai instrumen analisis untuk penentuan kadar senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit yang terkandung di dalam makanan dan minuman, sehingga menjadi salah satu metode analisis standar di laboratorium. Sedangkan **tujuan khusus** penelitian adalah untuk:

- (1) Membuat rancang bangun sensor kimia sebagai instrumen analisis yang sensitif, selektif, akurat, cepat, dan stabil terhadap senyawa target, serta mempunyai keterulangan baik, sederhana, dan serbaguna untuk monitoring senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit di dalam sampel makanan dan minuman.

- (2) Merancang sensor kimia tunggal dengan deteksi spektrofotometri sebagai instrumen standar untuk penentuan kadar senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit di dalam sampel makanan dan minuman.
- (3) Melakukan integrasi senyawa kimia sebagai komponen aktif pada sel (kuvet) dengan deteksi spektrofotometri agar menjadi transduser sensor yang selektif, sensitif, stabil (umur pemakaian tahan lama), keterulangan tinggi, dan bebas dari pengaruh senyawa pengganggu (*interference*) untuk penentuan kadar senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit di dalam makanan dan minuman.
- (4) Memodifikasi instrumen analisis untuk menghasilkan prototipe sensor kimia untuk penentuan senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit yang terdapat di dalam berbagai jenis sampel makanan dan minuman.
- (5) Memberikan kontribusi ilmiah melalui **publikasi ilmiah di Jurnal Nasional Terakreditasi** tentang pengembangan metode analisis standar berupa sensor kimia untuk penentuan kadar senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit di dalam sampel makanan dan minuman.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil dari keseluruhan tahapan penelitian (Tahun 1 sampai Tahun 3) adalah rancang bangun sensor kimia sebagai instrumen analisis yang standar dan mudah digunakan di Laboratorium untuk penentuan senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit di dalam makanan dan minuman. Keluaran berupa kontribusi ilmiah melalui publikasi ilmiah di Jurnal Nasional dan Jurnal Nasional Terakreditasi tentang pengembangan sensor kimia sebagai instrumen analisis untuk penentuan senyawa pengawet yang terkandung di dalam sampel makanan dan minuman. Penelitian tahap pertama Tahun 2012 adalah sebagai salah satu usaha untuk mendapatkan instrumen analisis berupa sensor kimia yang memiliki daya analisis selektif, akurat, cepat, dan stabil terhadap senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit. Rancang bangun sensor kimia dibuat dengan cara mengintegrasikan senyawa kimia aktif dengan sel (kuvet) untuk penentuan kadar senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit yang terkandung di dalam sampel makanan dan minuman sehingga dapat mengatasi kekurangan instrumentasi yang standar dalam kimia analisis.

BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1. Latarbelakang Masalah Penelitian

Penggunaan senyawa pengawet dan penambah rasa (additives) sering dilakukan di dalam proses pengolahan dan penyimpanan makanan untuk menyakinkan bahwa makanan yang dikonsumsi tetap aman dalam penyimpanan yang relatif lama (Jin, *dkk.*, 2010). Penggunaan bahan pengawet alami sudah menjadi pilihan yang banyak dilakukan saat ini dengan berbagai alasan baik untuk keamanan dan juga keamanan lingkungan (Damalas, 2011). Akan tetapi, penggunaan senyawa anorganik dan organik juga ada yang dipergunakan sebagai bahan pengawet, dan umumnya sudah diberikan batas aman (toleransi) bagi keberadaan senyawa tersebut sebagai pengawet makanan dan minuman (Vadas, 2003). Permasalahan yang dihadapi adalah serinya ditemukan bahan pengawet yang dimasukkan dan ditambahkan ke dalam makanan atau bahan makanan bukan sebagai bahan pengawet yang aman sehingga sangat berpotensi terhadap timbulnya penyakit yang diakibatkan oleh toksisitas senyawa pengawet tersebut terhadap kesehatan (Eigenmann, *dkk.*, 2007). Permasalahan lain adalah keberadaan senyawa pengawet tersebut dapat ditambahkan melebihi batas aman disebabkan oleh ketidaktahuan produsen, terutama produsen tradisional yang sangat banyak menjadi konsumsi masyarakat di Indonesia. Untuk mengetahui keberadaan bahan pengawet tersebut di dalam makanan secara pasti, baik secara kualitatif maupun kuantitatif maka diperlukan instrumen analisis untuk penentuan kadar bahan pengawet yang terdapat di dalam makanan dan minuman.

Instrumen analisis yang akurat, selektif, sensitif, cepat dan sederhana untuk kontrol kualitas makanan dan minuman sangat diperlukan untuk menjamin keakuratan penganalisan senyawa-senyawa kimia yang berpotensi menimbulkan penyakit seperti kehadiran bahan pengawet yang ditambahkan ke dalam makanan dan minuman (Santiesteban-Lo'Pez, *dkk.*, 2009). Informasi yang akurat dan dini terhadap kehadiran senyawa pengawet yang ditambahkan ke dalam makanan dan minuman akan dapat menghindarkan konsumen dari timbulnya penyakit yang disebabkan oleh konsumsi makanan dan minuman tersebut, terutama bagi mereka yang rentan terhadap kehadiran senyawa tertentu yang memberikan efek alergi maupun efek pemicu penyakit ikutan dan pengaruh jangka panjang seperti pemicu penyakit kanker (Friedman dan Juneja, 2010).

Usaha pengembangan metode analisis sebagai kontrol kualitas makanan dan minuman perlu mendapat perhatian, terutama untuk mengetahui komponen-komponen penting senyawa kimia penyusun, baik berupa nutrisi, sumber kalori, maupun senyawa additif yang ditambahkan dalam komposisi makanan dan minuman (Peris, 2002). Studi terhadap kontrol kualitas makanan dan minuman meliputi pengetahuan terhadap informasi jenis senyawa target spesifik (Pravdova, *dkk.* 2002), teknik perlakuan sampel (Buldini, *dkk.* 2002), dan metode analisis yang diperlukan untuk penentuan senyawa target (Steven dan Lehotay, 2002). Untuk itu diperlukan instrumen analisis sederhana dan serbaguna yang dapat memberikan informasi akurat terhadap kehadiran senyawa-senyawa penyusun makanan dan minuman dengan cepat.

Kebutuhan akan instrumen analisis yang sensitif, akurat dan cepat untuk kontrol kualitas makanan dan minuman sangat mendesak karena keberadaan senyawa bahan pengawet di dalam makanan secara berlebihan akan dapat mengakibatkan berbagai jenis penyakit (Vadas, 2003, Mahajan, *dkk.*, 2010). Telah diketahui adanya korelasi positif antara kadar senyawa pengawet dengan penyakit (Singh, *dkk.*, 2010). Metode analisis yang dipergunakan untuk menentukan bahan pengawet diantaranya metode kolorimetri dan metode spektrofotometri (Voravuthikunchai, *dkk.*, 2010). Umumnya penentuan senyawa pengawet adalah didasarkan reaksi gugus fungsi yang terdapat di dalam bahan pengawet dengan zat kimia tertentu (indikator) yang dapat menghasilkan senyawa berwarna yang dapat ditentukan dengan UV-Vis (Martin, *dkk.* 2003, Singh, *dkk.* 2004, Brahim, *dkk.* 2001). Permasalahan utama analisis spektrofotometri adalah pengukuran yang kurang sensitif karena sulit memilih senyawa kimia pengabsorpsi yang tepat. Zat atau senyawa kimia pengabsorpsi kebanyakan bersifat karsinogenik sehingga tidak aman bagi pengguna di laboratorium. Permasalahan lain adalah pendeteksian yang kurang selektif karena pengukuran spektrofotometri memberi respon terhadap senyawa pengganggu terutama senyawa berwarna dan senyawa organik yang mengakibatkan hasil analisis cenderung kurang akurat, sehingga informasi yang salah akan berakibat fatal bagi terapi pasien. Teknik analisis secara spektrofotometri pada umumnya sangat lambat dan proses pelaksanaannya juga sangat kompleks, yaitu melalui tahapan perlakuan sampel dengan menggunakan zat-zat kimia mahal sebelum dianalisis menggunakan instrumen optik. Teknik analisis dengan menggunakan kromatografi sangat sensitif, akan tetapi waktu analisis cukup lama, membutuhkan instrumen yang relatif mahal, biaya analisis tinggi, dan harus dikerjakan oleh orang yang sangat terampil. Biaya perawatan (*running cost*) instrumen juga sangat tinggi (mahal) sehingga tidak

ekonomis untuk dipergunakan sebagai instrumen analisis untuk analisis kualitas makanan dan minuman.

Untuk mengatasi permasalahan di atas, maka dibutuhkan instrumen analisis dengan menggunakan sensor kimia, karena memiliki daya analisis sangat sensitif dan selektif, hasil analisis akurat, prosedur analisis sederhana karena penentuan umumnya dilakukan tanpa perlakuan sampel, dan dengan biaya analisis yang relatif rendah. Untuk kehadiran senyawa pengawet di dalam makanan dan minuman sangat diperlukan instrumen analisis yang sensitif, selektif, cepat dan dengan biaya analisis murah untuk menghindari bahaya yang lebih fatal bagi kesehatan. Untuk memenuhi kriteria ini, maka instrumen analisis dengan menggunakan sensor kimia merupakan salah satu alternatif yang baik untuk dikembangkan, sehingga pembuatan rancang bangun sensor kimia seperti yang direncanakan dalam usulan penelitian ini sangat tepat untuk dilakukan. Hal inilah yang mendorong peneliti mengajukan penelitian dengan judul **Pengembangan Sensor Kimia Untuk Monitoring Bahan Pengawet di Dalam Makanan dan Minuman.**

2.2. Bahan Pengawet Makanan dan Minuman

Bahan pengawet makanan adalah bahan (senyawa) yang ditambahkan ke dalam makanan dan minuman yang bertujuan untuk mencegah atau menghambat terjadinya kerusakan makanan oleh kehadiran organisme (Endrikat, *dkk.*, 2010; Davletshina, *dkk.*, 2003). Tujuan umum pemberian bahan pengawet ke dalam makanan dan minuman adalah untuk memelihara kesegaran dan mencegah kerusakan makanan atau bahan makanan (Abrams dan Atkinson, 2003; Rodríguez-Martín, *dkk.*, 2010; Giatrakou, *dkk.*, 2010; Sørensen, *dkk.*, 2010). Beberapa pengawet makanan dan minuman yang diizinkan berdasarkan Permenkes No.722/1988 adalah berupa senyawa kimia seperti asam benzoat, asam propionat, asam sorbat, belerang dioksida, etil p-hidroksi benzoat, kalium benzoat, kalium bisulfit, kalium meta bisulfit, kalsium nitrat, kalium nitrit, kalium propionat, kalium sorbat, kalium sulfit, kalsium benzoat, kalsium propionat, kalsium sorbat, natrium benzoat, metil-p-hidroksi benzoat, natrium bisulfit, natrium metabisulfit, natrium nitrat, natrium nitrit, natrium propionat, natrium sulfit, nisin, dan propil-p-hidroksi-benzoat. Senyawa pengawet lain yang dipergunakan sebagai bahan pengawet makanan dan minuman dan diduga memiliki efek terhadap kesehatan apabila terdapat di dalam makanan dan minuman dalam jumlah di atas ambang batas diperlihatkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Beberapa senyawa pengawet makanan dan minuman serta pengaruhnya terhadap kesehatan manusia (<http://www.membuatblog.web.id/2010/08/bahan-pengawet-pada-makanan.html>)

No	Bahan Pengawet	Produk Pangan	Pengaruh terhadap Kesehatan
1	Ca-benzoat	Sari buah, minuman ringan, minuman anggur manis, ikan asin	Dapat menyebabkan reaksi merugikan pada asmatis dan yang peka terhadap aspirin
2	Sulfur dioksida (SO ₂)	Sari buah, <i>cider</i> , buah kering kacang kering, sirup, acar	Dapat menyebabkan pelukaan lambung, mempercepat serangan asma, mutasi genetik, kanker dan alergi
3	K-nitrit	Daging kornet, daging kering, daging asin, pickel daging	Nitrit dapat mempengaruhi kemampuan sel darah untuk membawa oksigen, menyebabkan kesulitan bernafas dan sakit kepala, anemia, radang ginjal, muntah
4	Ca- / Na-propionat	Produk roti dan tepung	Migrain, kelelahan, kesulitan tidur
5	Na-metasulfat	Produk roti dan tepung	Alergi kulit
6	Asam sorbat	Produk jeruk, keju, pickel dan salad	Pelukaan kulit
	Natamysin	Produk daging dan keju	Dapat menyebabkan mual, muntah, tidak nafsu makan, diare dan pelukaan kulit
7	K-asetat	Makanan asam	Merusak fungsi ginjal
8	BHA	Daging babi segar dan sosisnya, minyak sayur, <i>shortening</i> , kripik kentang, pizza beku, instant teas	Menyebabkan penyakit hati dan kanker.

Tabel 2.2. Beberapa senyawa kimia pengawet dan aditif yang berbahaya bagi kesehatan manusia (<http://www.traditionaloven.com/articles/122/dangerous-food-additives-to-avoid>)

No	Kode	Nama pengawet	Pengaruh pada kesehatan		
			Hyperactivit	Asthma	Cancer
1	102 & E102	Tartrazine (food color)	H	A	C
2	104 & E104	Quinoline Yellow (food color)	H	A	C
3	107 & E107	Yellow 2G (food color)	H	A	C
4	110 & E110	Sunset Yellow (Yellow food color #6)	H	A	C
5	120 & E120	Carmines, Cochineal (food color)	H	A	-
6	122 & E122	Azorubine, Carmoisine (food color)	H	A	C
7	123 & E123	Amaranth (Red food color #2)	H	A	C
8	124 & E124	Ponceau, Brilliant Scarlet (food color)	H	A	C
9	127 & E127	Erythrosine (Red food color #2)	H	A	C
10	E128	Red 2G (Red food color)	H	A	C
11	129 & E129	Allura Red AC (food color)	H	A	C
12	E131	Patent Blue (food color)	H	A	C
13	132 & E132	Indigotine, Indigo Carmine (food color)	H	A	C
14	133 & E133	Brilliant Blue (food color)	H	A	C
15	142 & E142	Acid Brilliant Green, Green S, Food Green (food color)	H	A	-
16	143	Fast Green (food color)	-	A	-
17	150 & E150	Caramel (food color)	H	-	-
18	151 & E151	Activated Vegetable Carbons, Brilliant Black (food color)	H	A	C
19	154	Food Brown, Kipper Brown, Brown FK (food color)	H	A	C
20	155 & E155	Chocolate Brown HT, Brown HT (food color)	H	A	C
21	160b & E160b	Bixin, Norbixin, Annatto Extracts (yellow,	H	A	-

		red to brown natural colors)			
22	E173	Aluminium (preservatives)	-	-	C
23	E180	Latol Rubine, Pigment Rubine (preservatives)	H	A	C
24	200 & E200-203	Potassium & Calcium Sorbates ,Sorbic Acid (preservatives)	H	A	-
25	210 & E210	Benzoic Acid (preservatives)	H	A	C
26	211 & E211	Sodium Benzoate (preservatives)	H	A	-
27	212 & E212	Potassium Benzoate (preservatives)	-	A	-
28	213 & E213	Calcium Benzoate (preservatives)	-	A	-
29	E214	Ethyl Para Hydroxybenzoate (preservatives)	-	A	-
30	E215	Sodium Ethyl Para Hydroxybenzoate (preservatives)	-	A	-
31	216 & E216	Propyl P Hydroxybenzoate, Propylparaben (preservatives)	-	A	-
32	E217	Sodium Propyl P Hydroxybenzoate (preservatives)	-	A	-
33	220 & E220	Sulphur Dioxide also Sulfur dioxide (preservatives)	H	A	-
34	221 & E221	Sodium Sulfito or Sodium Sulphite (preservatives)	-	A	-
35	222	Sodium Bisulfito or Sodium Bisulphite (preservatives)	-	A	-
36	223 & E223	Sodium Metabisulfito or Sodium Metabisulphite (preservatives)	-	A	-
37	224 & E224	Potassium Metabisulphite or Potassium Metabisulfito (preservatives)	-	A	-
38	225 & E225	Potassium Sulfito or Potassium Sulphite (preservatives)	-	A	-
39	E226	Calcium Sulfito or Calcium Sulphite (preservatives)	-	A	-
40	E227	Calcium Hydrogen Sulphite or Calcium Hydrogen Sulfito (preservatives)	-	A	-
42	E230	Diphenyl, Biphenyl (preservatives)	-	-	C
43	E231	Orthophenyl Phenol (preservatives)	-	-	C
44	E236	Formic Acid (preservative)	-	-	C
45	E239	Hexamine, Hexamethylene Tetramine (preservatives)	-	-	C
46	249 & E249	Potassium Nitrate (preservative)	-	A	C
47	250 & E250	Sodium Nitrite (preservative)	H	A	C
48	251 & E251	Sodium Nitrate (preservative)	H	-	C
49	252 & E252	Potassium Nitrate (preservative)	H	-	C
50	260 & E260	Acetic Acid, Glacial (preservatives)	-	A	-
51	280 to 283	Calcium or Potassium or Sodium Propionates, Propionic Acid (preservatives)	H	A	-
52	310 & E310	Propyl Gallate (Synthetic Antioxidant)	-	A	C
53	311 & E311	Octyl Gallate (Synthetic Antioxidant)	-	A	-
54	312 & E312	Dodecyl Gallate (Synthetic Antioxidant)	-	A	-
55	319 & E319	TBHQ, Tert Butylhydroquinone (Synthetic Antioxidants)	H	A	-
56	320 & E320	Butylated Hydroxyanisole (BHA) (Synthetic Antioxidants)	H	A	C
57	321 & E321	Butylated Hydroxytoluene (BHT) or Butylhydroxytoluene (Synthetic Antioxidants)	H	A	C
50	330 & E330	Citric Acid (NOT DANGEROUS naturally occurring e330 & 330 citric acid additive – can contain sulfites and mold,	-	-	-

		explained earlier in the article next to this table printable version link.)			
59	407 & E407	Carrageenan (Thickening & Stabilizing Agent)	-	A	C
60	413 & E413	Tragacanth (thickener & Emulsifier)	-	A	-
61	414 & E414	Acacia Gum (Food Stabilizer)	-	A	-
62	416	Karaya Gum (Laxative, Food Thickener & Emulsifier)	-	A	-
63	421 & E421	Mannitol (Artificial Sweetener)	H	-	-
64	430	Polyxyethylene Stearate (Emulsifier)	-	-	C
65	431	Polyxyl Stearate (Emulsifier)	-	-	C
66	E432 - E435	Polyoxyethylene Sorbitan Monostearate (Emulsifiers Gelling Stabilisers Thickeners Agents)	-	-	C
67	433 - 436	Polysorbate (Emulsifiers)	-	-	C
68	441 & E441	Gelatine (Food Gelling Agent)	-	A	-
69	466	Sodium CarboxyMethyl Cellulose	-	-	C
70	507 & E507	Hydrochloric Acid (Hydrolyzing Enhancer & Gelatin Production)	-	-	C
71	518 & E518	Magnesium Sulphate (Tofu Coagulant)	-	-	C
72	536 & E536	Potassium Ferrocyanide (Anti Caking Agent)	-	A	-
73	553 & E553 & E553b	Talc (Anti Caking, Filling, Softener, Agent)	-	-	C
74	620 - 625	MSG Monosodium Glutamate, Glutamic Acid, all Glutamates (Flavour Enhancers)	H	A	C
75	627 & E627	Disodium Guanylate (Flavour Enhancers)	H	A	-
76	631 & E631	Disodium Inosinate 5 (Flavour Enhancers)	-	A	-
77	635 & E635	Disodium Ribonucleotides 5 (Flavour Enhancers)	-	A	-
78	903 & E903	Camauba Wax (used in Chewing Gums, Coating and Glazing Agents)	-	-	C
79	905 & 905 a,b,c	Paraffin and Vaseline, White Mineral Oil (Solvents, Coating and Glazing, Anti Foaming Agents, Lubricant in Chewing Gums)	-	-	C
80	924 & E924	Potassium Bromate (Agent used in Bleaching Flour)	-	-	C
81	925 & E925	Chlorine (Agent used in Bleaching Flour, Bread Enhancer and Stabiliser)	-	-	C
82	926	Chlorine Dioxide (Bleaching Flour and Preservative Agent)	-	-	C
83	928 & E928	Benzoyl Peroxide (Bleaching Flour and Bread enhancer Agent)	-	A	-
84	950 & E950	Potassium Acesulphame (Sweetener)	-	-	C
85	951	Aspartame (Sweetener)	H	A	-
86	952 & E952	Cyclamate and Cyclamic Acid (Sweeteners)	-	-	C
87	954 & E954	Saccharine (Sweetener)	-	-	C
88	1202 & E1202	Insoluble Polyvinylpyrrolidone Insoluble (Stabiliser and Clarifying Agent added to Wine, Beer, Pharmaceuticals)	-	-	C
89	1403	Bleached Starch (Thickener and Stabiliser)	-	A	-

Penambahan bahan pengawet pada produk pangan perlu menjadi perhatian karena informasi ilmiah yang diperoleh dari pengaruh senyawa pengawet makanan ini masih ada yang diragukan keamanannya (Giesova, dkk., 2004; Bevilacqua, dkk.,

2010). Beberapa bahan pengawet dan zat tambahan yang dimasukkan ke dalam makanan yang sudah digolongkan sebagai senyawa yang dapat mengurangi kesehatan manusi dan sebaiknya dihindari dari makanan dirangkum pada Tabel 2.2. Ada juga bahan pengawet yang tidak diperbolehkan ditambahkan ke dalam makanan dan minuman, namun masih dipergunakan secara ilegal seperti formalin yang digunakan untuk mengawetkan tahu dan mie basah. Pengawet formalin sering dikenal dengan nama formal, morbicid, methanol, formic aldehyde, methyl oxide, oxymethylene, methyl aldehyde, oxomethane, formalin, oxomethane, karsan, methylene glycol, paraforin, polyoxymethylene glycols, superlysoform, tetraoxymethylene dan trioxane. Formalin dapat menyebabkan kanker paru-paru, gangguan pada jantung, gangguan pada alat pencernaan, gangguan pada ginjal.

Formalin mampu membunuh organisme sehingga lazim dipergunakan untuk pembersih lantai, kapal, gudang dan pakaian; Pembasmi lalat dan berbagai serangga lain; Bahan pada pembuatan sutra buatan, zat pewarna, cermin kaca dan bahan peledak. Dalam dunia fotografi biasanya digunakan untuk pengeras lapisan gelatin dan kertas; Bahan untuk pembuatan produk parfum; Bahan pengawet produk kosmetika dan pengeras kuku; Bahan untuk insulasi busa; Pencegah korosi untuk sumur minyak dan Bahan perekat untuk produk kayu lapis (plywood). Telah diketahui bahaya yang diakibatkan oleh formalin pada kesehatan, yaitu dalam jangka pendek (akut), bila tertelan formalin maka mulut, tenggorokan dan perut terasa terbakar, sakit menekan, mual, muntah dan diare, dapat terjadi pendarahan, sakit perut hebat, sakit kepala, hipotensi, (tekanan darah rendah), kejang, tidak sadar hingga koma. Disamping itu formalin juga menyebabkan kerusakan jantung, hati, otak, limpa, pankreas, sistem saraf pusat dan ginjal. Efek jangka panjang (kronik) bila mengkonsumsi bahan makanan yang mengandung formalin adalah timbul iritasi pada saluran pernafasan, muntah, sakit kepala, rasa terbakar pada tenggorokan, dan rasa gatal di dada. Pada hewan percobaan dapat menyebabkan kanker sedangkan pada manusia diduga bersifat karsinogen (menyebabkan kanker). Senyawa lain yang sering didapati di dalam makanan dan minuman secara ilegal adalah boraks yang dapat mengakibatkan gangguan pada kulit, gangguan pada otak, gangguan pada hati (Min dan Yoon, 2010).

2.3. Analisis Menggunakan Sensor Kimia dan Biosensor

Pengembangan sensor kimia dan biosensor dengan menggunakan senyawa kimia dan komponen biologi untuk penentuan analit sangat menarik dalam kimia analisis dan sangat tepat untuk penentuan sampel makanan dan minuman. Prinsip dasar biosensor adalah mengintegrasikan komponen senyawa kimia dan komponen biologi aktif dengan *transducer* untuk menghasilkan signal elektronik yang dapat diukur (Hall, 1991). Sensor kimia dan biosensor merupakan instrumen analisis yang sangat penting karena mempunyai daya analisis selektif dan sensitif terhadap analit sehingga dapat menentukan kadar senyawa pada konsentrasi sangat rendah. Peralatan ini mempunyai kelebihan dalam kesederhanaan penganalisisan karena penentuan biasanya dilakukan tanpa perlakuan sampel sehingga mudah dilakukan oleh orang yang kurang terampil. Disain instrumen dengan deteksi elektrokimia sangat sederhana dan handal, bila dirangkaikan dengan komponen biologi aktif pada transduser akan menjadikan penganalisisan menjadi sangat selektif, sensitif dan akurat (Vo-Dingh dan Cullum, 2000). Komponen-komponen biologi yang dapat dipergunakan untuk pengembangan biosensor diantaranya enzim (Liang dan Yang, 2000; Karube dan Nomura, 2000), mikroorganisme (Konig, *dkk.* 1999), jaringan tanaman dan hewan (Campanella, *dkk.* 1990; Wijesuriya dan Rechnitz, 1993). Sel dan kultur jaringan tanaman yang terdapat pada kelapa (Lima, *dkk.* 1997), kentang (Takemoto, *dkk.* 1997), asparagus (Oungpipat, *dkk.* 1995), jeruk (Horie dan Rechnitz, 1995), bayam (Qin, *dkk.* 1999), kedelai (Bassi dan McGrath, 1999) dan apel (Cummings, *dkk.* 1998) mengandung enzim yang dapat digunakan sebagai komponen biosensor.

Sensor kimia dan biosensor dapat diintegrasikan dengan deteksi elektrokimia karena mempunyai kelebihan dalam hal sensitifitas, selektifitas dan linieritas pengukuran. Penentuan secara amperometri didasarkan pada pengukuran arus (i) dalam sel elektrokimia, sedangkan pengukuran potensiometri didasarkan pada pengukuran potensial (E) di dalam reaksi redoks (Skoog dan Leary, 1992). Deteksi amperometri mempunyai kelebihan dalam sensitifitas dan selektifitas penganalisisan sehingga penentuan secara elektrokimia masih didominasi oleh metode amperometri (Albert, *dkk.* 2000). Metode potensiometri sangat menarik terutama dalam hal lebar skala linieritas pengukuran sehingga dapat menentukan senyawa konsentrasi rendah sampai tinggi, serta menggunakan peralatan sederhana dan murah, misalnya pH

meter yang dapat di jangkau oleh hampir semua laboratorium (Situmorang, *dkk* 1998). Akan tetapi, penentuan potensiometri dapat menjadi lebih handal bila menggunakan elektroda ion selektif (ISE).

Untuk meningkatkan sensitifitas dan stabilitas biosensor diperlukan teknik immobilisasi agar komponen biologi sangat dekat terhadap transduser. Beberapa metode yang dipergunakan untuk mengimmobilisasi komponen biologi diantaranya adsorpsi, pengikatan fisik (*entrapment*), pengikatan secara kimia (*crosslinking and self-assembly*) dan secara elektrokimia (Cosnier, 1999). Teknik immobilisasi di atas akan dipergunakan pada disain biosensor yang direncanakan dalam usulan penelitian ini. Pemilihan matriks dalam disain biosensor sangat penting karena berhubungan dengan stabilitas biosensor, dapat berupa polimer atau gel (Yao dan Takashima, 1998). Untuk menghasilkan lapisan matriks dengan keterulangan tinggi maka sangat baik bila menggunakan polimer yang dibuat melalui elektropolimerisasi, karena teknik polimerisasi elektrokimia dapat menghasilkan lapisan tipis yang homogen dengan ketebalan sama dan merata (Emr dan Yacynych, 1995).

2.6. Hipotesis Penelitian

Hipotesis kerja pelaksanaan penelitian pengembangan sensor kimia untuk monitoring bahan pengawet di dalam makanan dan minuman adalah sebagai berikut:

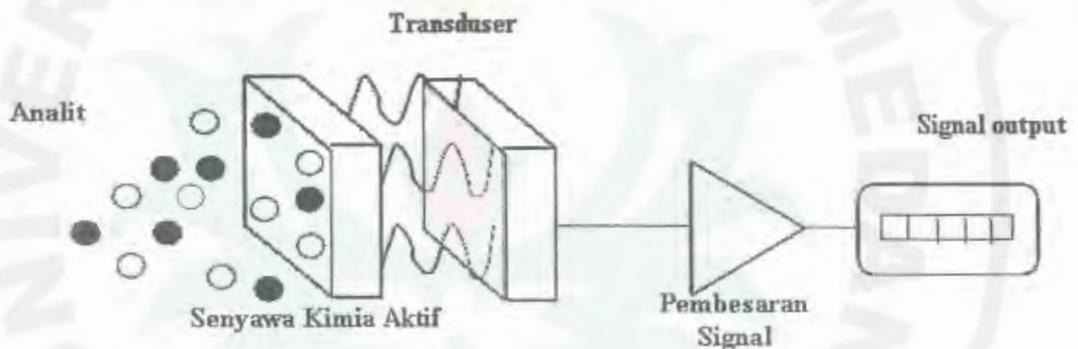
- (1) Rancang bangun sensor kimia dapat dibuat menjadi instrumen analisis yang sensitif, selektif, akurat, dan cepat terhadap senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit di dalam sampel makanan dan minuman.
- (2) Rancang bangun sensor kimia tunggal yang baik dan handal dapat dibuat melalui integrasi antara sel (kuvet) dengan deteksi spektrofotometri (UV-Vis) untuk penentuan kadar senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit yang terkandung di dalam sampel makanan dan minuman.
- (3) Komponen senyawa kimia aktif dapat diintegrasikan di dalam sel (kuvet) sehingga menjadi transduser sensor untuk penentuan kadar senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrat di dalam makanan dan minuman dalam deteksi spektrofotometri.
- (4) Instrumen analisis dapat dimodifikasi menjadi prototipe sensor kimia untuk penentuan beberapa jenis senyawa pengawet benzoat, formalin dan nitrit yang terdapat di dalam sampel makanan dan minuman.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian adalah berupa eksperimental murni di laboratorium. Rancangan penelitian untuk pembuatan rancang bangun sensor kimia yang direncanakan dalam usulan penelitian ini terdiri atas: (a) Rancang bangun sensor tunggal dalam sistem statik seperti diperlihatkan pada Gambar 3.1, dan (b) Rancang bangun multi sensor dalam sistem statik seperti diperlihatkan pada Gambar 3.2.



Gambar 3.1. Rancang bangun sensor kimia dalam sistem statis yang terdiri atas: analit, senyawa kimia aktif, transduser terdiri atas komponen elektronik, amplifikasi signal, dan signal prosesor (Power Lab) pada mikrokomputer.

3.2. Prosedur Penelitian dan Pembuatan Sensor Kimia

Penelitian pada tahun pertama adalah pembuatan sensor tunggal dalam sistem statik melalui tahapan antara lain: pembuatan disain sensor kimia tunggal, optimisasi, dan aplikasi. Disain sensor kimia dibuat dengan cara mengintegrasikan komponen senyawa kimia aktif dengan sel (kuvet) dalam deteksi spektrofotometry. Sel dibuat dengan memodifikasi kuvet sehingga komponen aktif dirangkaikan dengan deteksi spektrofotometry dalam sistem statik. Untuk mendapatkan kondisi percobaan optimum dilakukan optimisasi dengan menggunakan larutan standard baku dengan variasi jenis buffer dan pH, kondisi fisiologi (matriks), kondisi fisik dan kondisi kimia. Sifat-sifat sensor dikarakterisasi melalui uji stabilitas dalam kondisi fisik dan kondisi kimia, mengetahui pengaruh variasi perlakuan, dan mengukur umur sensor kimia dalam beberapa kondisi. Selektifitas sensor kimia terhadap zat pengganggu (*interference*) juga dipelajari dan disesuaikan dengan senyawa pengawet yang dianalisis. Optimisasi dilakukan untuk mendapatkan kondisi percobaan optimum

dengan menggunakan rancangan percobaan *experimental design*, dan selanjutnya data dianalisis menggunakan *STATISTICA soft ware*. Data hasil penelitian akan diolah menggunakan *EXCELL soft ware*, data akan disajikan dalam bentuk tabel, grafik dan model sensor. Sensor kimia selanjutnya diaplikasikan untuk penentuan kadar pengawet benzoat, formalin dan nitrat di dalam sampel makanan dan minuman. Selanjutnya prosedur pada masing-masing tahapan penelitian dijelaskan berikut ini.

3.2.1. Sensor Kimia Penentuan Pengawet Benzoat

Bahan kimia yang dipegunakan dalam penelitian ini adalah tyramine, asam benzoat, kalsium klorida, kalium iodida, natrium karbonat, natrium hidroksida dan senyawa lain yang digunakan dalam analisis. Peralatan yang dipergunakan diantaranya diantaranya ekstraktor, potentiostat (BAsE), potensiometer (Keithley), PowerLab 20D (ADInstrumen, Australia), elektroda Ag/AgCl, elektroda W, dan gelas-gelas kimia. Bahan kimia lain yang digunakan adalah Natrium benzoat, HCl, H₂SO₄, kolesterol, fruktosa, glukosa, asam asorbat, NaCl, larutan asam kromatofat (Larutan jenuh lebih kurang 0,5 % dari asam 1,8-dihidroksinaftalena-3,6-disulfonat dalam asam sulfat 80 % v/v), formaldehida, asam sulfat, asam fosfat, KH₂PO₄.10H₂O, asam klorida, natrium hidroksida, glutaraldehid, aseton, dietil eter, metil asetat, natrium klorida, natrium nitrit, natrium disulfat, albumin, metanol, asam askorbat, air suling (akuades). Larutan standar 50 ppm natrium benzoat dibuat dengan cara melarutkan 0.0125 gram natrium benzoat di dalam larutan 250 mL 1mM HCl menghasilkan.

Matriks polimer dibuat dengan cara elektropolimerisasi monomer tyramin menjadi polimer polityramin pada permukaan elektroda W. Elektropolimerisasi dilakukan secara voltametri siklik (CV) pada kecepatan skan 0,5 V/detik dengan potensial berada pada -0.01 V dan +1.6 V *versus* Ag/AgCl di dalam larutan 0,1 M tyramin (pH 6,0). Larutan tyramin dibuat dengan cara melarutkan tyramin di dalam di dalam buffer fosfat pH 6,0 dengan mengikuti prosedur yang dikembangkan oleh Situmorang, dkk, (1998). Elektropolimerisasi dilakukan secara siklik voltametri (CV) sebanyak 3 kali *sweep cycle*. Selanjutnya elektroda dibilas dengan larutan buffer fosfat (0,01 M, pH 6,0) untuk menghilangkan monomer yang tidak bereaksi, lalu disimpan di dalam buffer (4 °C) selama satu malam. Sebelum elektroda digunakan, elektroda dikondisikan terlebih dahulu di dalam larutan buffer fosfat

(0,01 M, pH 6,0) paling sedikit selama 5 menit, kemudian elektroda siap untuk dipergunakan.

Peralatan yang dipergunakan diantaranya diantaranya ekstraktor, PowerLab 20D (ADInstrument, Australia), Spektrofotometer UV-Vis (Perkin Elmer, Lamda 25), dan gelas-gelas kimia. Pembuatan rancang bangun instrumen spektrofotometer UV dilakukan dengan mengintegrasikan Spektrofotometer dan kuvet dengan PowerLab 20D untuk pengambilan data secara otomatis. Sistem UV terlebih dahulu dioptimasi menggunakan larutan standar natrium benzoat pada berbagai kondisi parameter percobaan. Kurva kalibrasi larutan standar benzoat diukur pada λ 229.65 nm. Prosedur analisis sampel dilakukan pada kondisi optimum sama seperti pada larutan standar seri. Untuk perlakuan sampel, sebanyak 20 mL Sampel minuman dimasukkan kedalam beaker gelas dan dipanaskan untuk menghilangkan CO₂, kemudian disaring, lalu dipipet sebanyak 2 mL dan masukkan kedalam beaker 50 mL, dilanjutkan dengan penambahan 10 mL HCl 1mM, lalu diukur absorbansinya pada λ 229.89 nm. Penghitungan kadar pengawet benzoat di dalam sampel dilakukan menggunakan kurva kalibrasi larutan standar.

3.2.2. Sensor Kimia Penentuan Pengawet Formaldehid

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis, kuvet, neraca analitik, penangas, dan alat-alat gelas yang biasa dijumpai di laboratorium kimia. Pembuatan larutan baku formaldehid dibuat secara seri pada konsentrasi 0-10 $\mu\text{g/mL}$ dengan mengencerkan dari baku dengan konsentrasi 20 $\mu\text{g/mL}$, kemudian ditambahkan 3 mL larutan asam kromatropat, dipanaskan didalam penangas air yang mendidih selama 15 menit, kemudian diencerkan dengan air sampai tanda pada labu 10 mL. Larutan asam kromatropat dibuat dengan melarutkan 500 mg asam kromatropat dalam H₂SO₄ 80% hingga 100 mL. Larutan asam sulfat 80% dibuat dengan mengencerkan 83 mL H₂SO₄ (p) dalam aquades hingga 100 mL. Larutan asam fosfat 10% dibuat dengan mengencerkan 12 mL asam fosfat 85% dalam aquades hingga 100 mL. Larutan buffer fosfat dibuat dengan menimbang 0,1360 g KH₂PO₄.10H₂O kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL, dituangi air suling sampai volume $\frac{1}{4}$ labu, dan homogenkan, kemudian ditambah lagi air suling sampai tanda batas. pH larutan divariasikan menggunakan NaOH 0,01 M dan HCl 0,01 M. Larutan Larutan 0,1 M NaNO₂ dibuat dengan melarutkan 6,8995 g

NaNO_2 ke dalam akuades pada labu ukur 1000 mL dan diencerkan sampai tanda batas.

Sejumlah 20 gram sampel yang telah dihomogenkan ditimbang seksama, dimasukkan kedalam labu destilasi uap, ditambahkan 100 mL air dan 5 mL asam fosfat 10%, didestilasi perlahan-lahan. Kemudian destilat ditampung dalam erlenmeyer yang telah berisi 10 mL air, destilat inilah yang digunakan untuk analisis kadar formaldehida pada sampel ikan asin dan tahu secara sensor kimia dengan menggunakan metode spektrofotometri. Spektrofotometri untuk penentuan kadar formaldehida di dalam ikan asin dan tahu dilakukan secara spektrofotometri untuk mendapatkan kadar formaldehida, diantaranya penentuan panjang gelombang maksimum, linearitas formaldehida, penentuan pH optimum, waktu kerja formaldehida baku, dan pengaruh senyawa pengganggu. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mereaksikan 1 mL larutan baku formaldehida 0,2 $\mu\text{g/mL}$ dengan 3 mL asam kromatrat kemudian dilakukan perlakuan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit kemudian diencerkan dengan air suling pada labu ukur 10 mL, setelah terbentuk warna violet maka diukur serapannya pada panjang gelombang 500-600 nm. Penentuan linearitas formaldehida dilakukan dengan mereaksikan 1 mL larutan baku formaldehida dengan konsentrasi masing-masing 0,2;0,4;0,8;1,2;1,6;2 $\mu\text{g/mL}$ dengan 3 mL asam kromatrat kemudian dilakukan perlakuan pemanasan pada suhu 100 °C selama 15 menit kemudian diencerkan dengan air suling pada labu ukur 10 mL, setelah terbentuk warna violet maka diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebelumnya. Penentuan pengaruh pH terhadap analisis formaldehida dilakukan dengan menggunakan larutan buffer pH sebagai pelarut. Pengaruh buffer sebagai pelarut dilihat dari panjang gelombang maksimum yang diberikan masing-masing buffer pH dan kurva kalibrasi yang dihasilkan. Penentuan panjang gelombang maksimum dan kurva kalibrasi diukur dengan menggunakan 1 mL larutan baku formaldehida dengan konsentrasi masing-masing 0,2;0,8;1,4;2,5;8;10 $\mu\text{g/mL}$ kemudian direaksikan dengan 3 mL asam kromatrat lalu dilakukan perlakuan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit kemudian diencerkan dengan buffer pH 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 pada labu ukur 10 mL, setelah terbentuk warna violet maka diukur serapannya pada panjang gelombang 500-700 nm.

Penentuan waktu kerja dilakukan dengan mereaksikan 1 mL larutan baku formaldehida 4 $\mu\text{g/mL}$ dengan 3 mL asam kromatofat kemudian dilakukan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit dan diencerkan menggunakan buffer pH optimum pada labu ukur 10 mL, setelah itu diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya dengan interval waktu 1-20 menit. Waktu kerja optimum diperoleh dari harga absorbansi yang tertinggi. Penentuan kurva kalibrasi formaldehida dilakukan dengan mereaksikan 1 mL larutan baku formaldehida dengan konsentrasi masing-masing 0,2;0,4;0,8;1,2;1,6;2 $\mu\text{g/mL}$ dengan 3 mL asam kromatofat kemudian dilakukan perlakuan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit kemudian ditepatkan dengan buffer pH optimum pada labu tentu ukur 10 mL, setelah terbentuk warna violet maka diukur serapannya panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya pada buffer pH optimum. Penentuan pengaruh zat pengganggu terhadap formaldehida dilakukan dengan mereaksikan 1 mL larutan standar formaldehida 5 $\mu\text{g/mL}$ dengan beberapa zat pengganggu dalam analisis formaldehida dalam ikan asin dan tahu yaitu senyawa yang berasal dari golongan aldehyd, keton, eter, ester, asam askorbat. Serta garam-garam dan protein dengan konsentrasi 5 $\mu\text{g/mL}$, lalu ditambah 3 mL asam kromatofat kemudian dilakukan perlakuan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit kemudian ditepatkan dengan buffer pH pada labu ukur 10 mL, dibiarkan selama 15 menit. Setelah terbentuk warna violet maka diukur serapannya pada panjang gelombang maksimumnya kemudian bandingkan dengan panjang gelombang dari formaldehida tanpa pengganggu. Penentuan kadar formaldehida dilakukan bila semua parameter-parameter sebelumnya telah ditentukan, prosedur pengukuran sampel dilakukan sama halnya dengan larutan baku pada metode kurva kalibrasi. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan instrumen Spektrofotometer Lambda 25 Perkin Elmer pada panjang gelombang maksimum, serta waktu kerja optimum. Sehingga akan diperoleh harga absorbansi masing-masing sampel.

3.2.3. Sensor Kimia Penentuan Pengawet Nitrit

Pereaksi yang digunakan pada penelitian ini adalah larutan asam asetat, larutan NED, dan larutan asam sulfanilat. Larutan NED dibuat dengan cara dilarutkan 0,2592 g N-(1 naftil) etilendiamin dihidroklorida ke dalam 10 mL asam asetat 15% v/v. Larutan asam sulfanilat dibuat dengan cara dilarutkan 0,6927 g asam sulfanilat di dalam 100 mL asam asetat 15% v/v. Larutan induk baku natrium nitrit

dibuat dengan cara serbuk natrium nitrit dikeringkan pada suhu 110°C selama satu jam, kemudian didinginkan dalam desikator. Ditimbang 100 mg natrium nitrit yang telah dikeringkan dan didinginkan, kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100 mL secara kuantitatif dan dilarutkan dengan air suling, lalu ditepatkan volumenya sampai tanda batas ($C = 1000,0 \mu\text{g/mL}$) (LIB I). Dipipet 10 mL LIB I ke dalam labu ukur 100 mL dan ditepatkan dengan akuades ($C = 100,0 \mu\text{g/mL}$) (LIB II). Larutan asam asetat 15% (v/v) dibuat dengan cara diencerkan 37,5 mL asam asetat glasial dengan air suling dalam labu ukur 250 mL. Larutan buffer fosfat dibuat dengan menimbang 0,1360 g $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ kemudian dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas dalam labu ukur 100 mL. pH larutan buffer divariasikan menggunakan NaOH 0,01 M dan HCl 0,01 M. Larutan nitrit dibuat dengan melarutkan 0,0035 g natrium nitrit dalam akuades pada labu ukur 10 mL dan diencerkan sampai tanda batas. Larutan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 5 mM dibuat dengan melarutkan 0,0165 g $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dalam akuades pada labu ukur 10 mL dan diencerkan sampai tanda batas. Larutan Glukosa 5 mM dibuat dengan melarutkan 0,0090 g glukosa dalam akuades pada labu ukur 10 mL dan diencerkan sampai tanda batas. Larutan Na_2CO_3 5 mM dibuat dengan melarutkan 0,0053 g Na_2CO_3 dalam akuades pada labu ukur 10 mL dan diencerkan sampai tanda batas. Larutan 5 mM asam askorbat dibuat dengan melarutkan 0,0088 g asam askorbat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) dalam akuades pada labu ukur 10 mL dan diencerkan sampai tanda batas.

Spektrofotometri untuk penentuan kadar natrium nitrit di dalam daging dilakukan prosedur optimisasi dalam metode spektrofotometri untuk mendapatkan kadar pengawet natrium nitrit dalam makanan yang akurat diantaranya penentuan panjang gelombang optimum, waktu kerja nitrit, linearitas konsentrasi nitrit, pengaruh buffer pH, dan pengaruh senyawa pengganggu. Dipipet 80 μL LIB II dan dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 0,5 mL pereaksi asam sulfanilat dan dicukupkan dengan akuades hingga tanda batas lalu dikocok. Setelah 5 menit, dipipet 2,5 mL larutan lalu dimasukkan ke dalam kuvet berukuran 10 mm ditambahkan 50 μL pereaksi NED dengan pipet mikro dan dibiarkan selama 5 menit. Diukur serapannya pada panjang gelombang 450-600 nm ($C = 0,8 \mu\text{g/mL}$). Dipipet masing-masing 10, 30, 50, 80, 100, 300, 500, 800, 1000, 1300, dan 1500 μL larutan induk baku II dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL (masing-masing mengandung 0,1 ; 0,3 ; 0,5 ; 0,8 ; 1,0 ; 3,0 ; 5,0 ; 8,0 ; 10 ; 13 ; dan 15 ppm) lalu ditambahkan 0,5 mL larutan asam sulfanilat dan dicukupkan dengan akuades hingga

tanda batas lalu dikocok. Setelah 5 menit, dipipet 2,5 mL larutan lalu dimasukkan ke dalam kuvet berukuran 10 mm ditambahkan 50 μL pereaksi NED dengan pipet mikro dan dibiarkan selama 5 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebelumnya. Penentuan pengaruh pH terhadap analisis natrium nitrit dilakukan dengan menggunakan larutan buffer pH sebagai pelarut. Pengaruh buffer sebagai pelarut dilihat dari panjang gelombang maksimum yang diberikan masing-masing buffer pH dan linearitas yang dihasilkan. Penentuan panjang gelombang maksimum diukur dengan menggunakan larutan nitrit standar 0,8 mg/L dengan cara memipet 80 μL larutan induk baku II dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan 0,5 mL larutan asam sulfanilat dan dicukupkan dengan larutan buffer pH 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 hingga tanda batas lalu dikocok. Setelah 5 menit, dipipet 2,5 mL larutan lalu dimasukkan ke dalam kuvet berukuran 10 mm ditambahkan 50 μL pereaksi NED dengan pipet mikro dan dibiarkan selama 5 menit. Diukur serapannya pada panjang gelombang 450-600 nm. Pada penentuan linearitas dipipet masing-masing 10, 30, 50, 80, 100, 300, 500, 800 μL larutan induk baku II dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL (masing-masing mengandung 0,1 ; 0,3 ; 0,5 ; 0,8 ; 1,0 ; 3,0 ; 5,0 ; 8,0 ppm) lalu ditambahkan 0,5 mL larutan asam sulfanilat dan dicukupkan dengan larutan buffer pH 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 hingga tanda batas lalu dikocok. Setelah 5 menit, dipipet 2,5 mL larutan lalu dimasukkan ke dalam kuvet berukuran 10 mm ditambahkan 50 μL pereaksi NED dengan pipet mikro dan dibiarkan selama 10 menit. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh pada masing-masing buffer pH. Dipipet 80 μL LIB II dan dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 0,5 mL pereaksi asam sulfanilat dan dicukupkan dengan buffer pH optimum hingga tanda batas lalu dikocok. Setelah 5 menit, dipipet 2,5 mL larutan lalu dimasukkan ke dalam kuvet berukuran 10 mm ditambahkan 50 μL pereaksi NED dengan pipet mikro dan diukur absorbansinya pada menit ke 1, 3, 5, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, dan 30 pada panjang gelombang yang telah diperoleh sebelumnya ($C = 0,8 \mu\text{g/mL}$). Waktu kerja optimum diperoleh dari harga absorbansi yang tertinggi. Dipipet masing-masing 10, 30, 50, 80, 100, 300, 500, 800 μL larutan induk baku II dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL (masing-masing mengandung 0,1 ; 0,3 ; 0,5 ; 0,8 ; 1,0 ; 3,0 ; 5,0 ; 8,0 ppm) lalu ditambahkan 0,5 mL larutan asam sulfanilat dan dicukupkan dengan larutan buffer pH yang optimum hingga tanda batas lalu dikocok. Setelah 5 menit, dipipet 2,5 mL larutan lalu dimasukkan ke dalam kuvet berukuran 10 mm ditambahkan 50 μL

pereaksi NED dengan pipet mikro dan dibiarkan selama waktu kerja yang diperoleh. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh pada buffer pH optimum.

Penentuan senyawa pengganggu dilakukan dengan mereaksikan Natrium Nitrit dengan zat-zat pengganggu dalam analisa natrium nitrit dalam daging olahan seperti: glukosa, vitamin C (Asam Askorbat), kolesterol, Na_2CO_3 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, dan NaCl .

Natrium Nitrit dengan konsentrasi 5 mM diambil 50 μL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian direaksikan dengan masing-masing senyawa pengganggu sebanyak 50 μL dengan konsentrasi yang sama yakni 5 mM, kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan asam sulfanilat dan dicukupkan dengan menggunakan larutan buffer pH yang telah ditentukan. Setelah 5 menit, dipipet 2,5 mL larutan lalu dimasukkan ke dalam kuvet berukuran 10 mm ditambahkan 50 μL pereaksi NED dengan pipet mikro dan dibiarkan selama 10 menit. kemudian diukur panjang gelombang maksimumnya kemudian bandingkan dengan panjang gelombang dari natrium nitrit tanpa pengganggu.

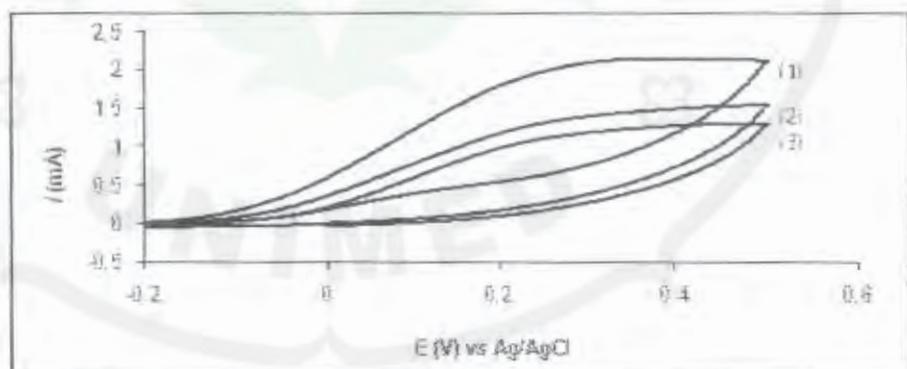
Aplikasi spektrofotometri untuk penentuan kadar natrium nitrit pada daging olahan dilakukan sebagai berikut. Sampel dihaluskan dengan blender, 5 g sampel kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass*, ditambahkan akuades panas (80°C) hingga volume larutan 50 mL, dipanaskan di atas penangas air selama 30 menit sambil diaduk-aduk, kemudian disentrifugasi selama 20 menit dan diambil filtratnya. Filtrat sampel inilah yang akan digunakan untuk analisis kadar natrium nitrit pada sampel daging olahan secara sensor kimia dengan menggunakan metode spektrofotometri. Setelah kondisi optimum untuk masing-masing parameter yang telah dilakukan sebelumnya, dilakukan penentuan kadar natrium nitrit di dalam daging olahan. Dengan mengkalkulasikan pada kurva standar maka diketahui konsentrasi natrium nitrit dalam sampel daging olahan. Sampel dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 5 g lalu dilarutkan dalam \pm 50 mL akuades panas, diletakkan di penangas air selama 30 menit, didinginkan pada suhu kamar kemudian larutan disentrifugasi kemudian diambil filtratnya. Filtrat inilah yang digunakan sebagai sampel dalam analisis.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pembuatan Sensor Kimia Penentuan Benzoat

Sensor kimia berupa elektroda W/Pty/Mod vs Ag/AgCl telah berhasil dibuat dengan mengintegrasikan deteksi potensiometri untuk dipergunakan pada penentuan asam benzoat di dalam sampel makanan dan minuman. Prosedur penelitian yang telah dilakukan dalam pembuatan sensor untuk penentuan asam benzoat secara potensiometri diantaranya adalah pembuatan matrik polimer polytiramin (Pty) ditempelkan secara elektrokimia pada permukaan elektroda logam wolfram (W) dilanjutkan dengan immobilisasi senyawa aktif (Mod) pada permukaan elektroda secara *crosslink*. Bentuk elektropolimerisasi tyramin di dalam larutan menjadi polityramin secara siklik potrametri diperlihatkan pada Gambar 1. Immobilisasi senyawa aktif pada matriks polityramin di permukaan elektroda W dilakukan menggunakan EDC dan NHS sebagai *crosslinking agent* menghasilkan elektroda modifikasi (W/Pty/Mod).



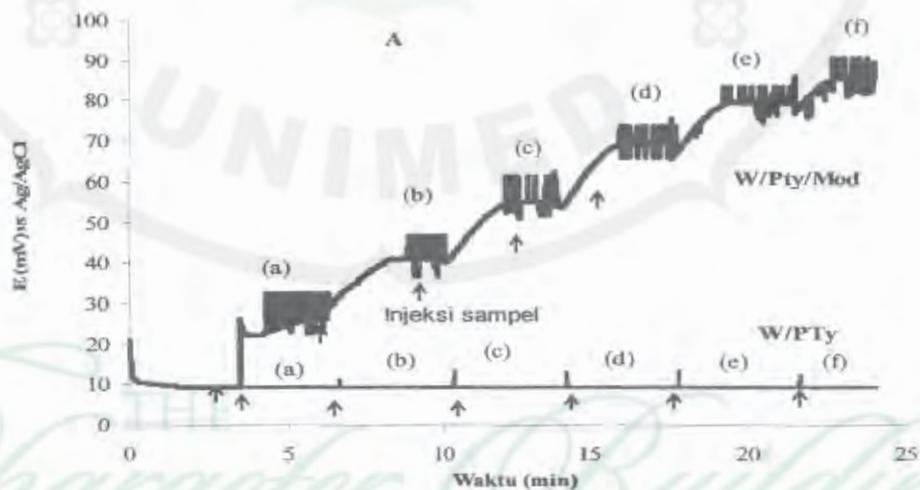
Gambar 4.1. Voltammogram CV untuk elektrodposisi polityramin pada elektroda W pada 0.50 V per detik pada 0,1 M tyramin dilarutkan dalam buffer fosfat (0,01M, pH 6,0) untuk pembuatan elektroda W/Pty/Mod.

Prinsip analisis penentuan asam benzoat dalam deteksi potensiometri adalah berdasarkan reaksi selektif asam benzoat pada elektroda modifikasi yang memberikan potensial redoks. Karena reaksi yang dihasilkan dari reaksi asam benzoat secara potensiometri sangat rendah, maka dilakukan pendeteksian menggunakan redoks mediator yang berfungsi untuk memperbesar (amplifikasi) potensial elektroda yang terbentuk sehingga dideteksi secara potensiometri dapat diamati dengan baik dalam powerLab. Pengujian respon sensor terhadap pengawet dilakukan dengan menggunakan larutan asam benzoat standar. Penggunaan wolfram sebagai bahan

dasar elektroda kerja adalah didasari oleh sensitifnya elektroda wolfram terhadap perubahan pH, sehingga sangat baik untuk digunakan sebagai elektroda kerja, terutama setelah diintegrasikan dengan komponen aktif sehingga memberikan respon sensitif dalam penentuan secara potensiometri (Situmorang, dkk., 2001).

4.2. Respon Sensor Kimia Penentuan Benzoat Deteksi Potensiometri

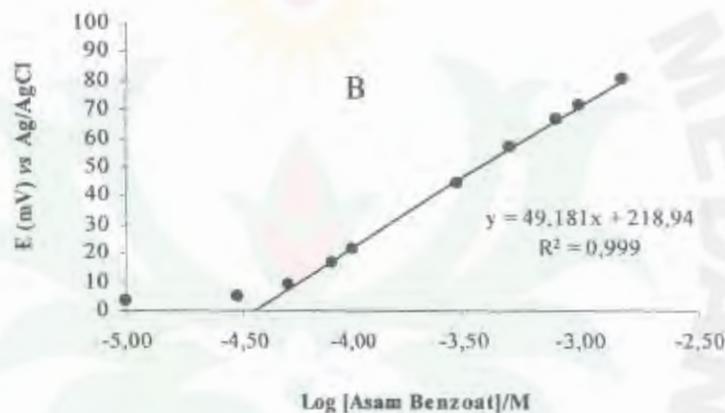
Respon sensor elektrokimia terhadap asam benzoat dalam deteksi potensiometri menunjukkan hasil yang menggembirakan. Potensial elektroda meningkat secara linier terhadap konsentrasi asam benzoat yang ditambahkan ke dalam sel elektrokimia. Respon biosensor terhadap asam benzoat sangat cepat, yaitu tiga menit per-sampel. Signal potensiometri memberikan harapan dalam penentuan asam benzoat, sehingga pada tahap penelitian ini pengembangan sensor penentuan asam benzoat lebih banyak diarahkan untuk deteksi potensiometri. Beberapa percobaan sedang dan akan dilakukan untuk menjadikan sensor penentuan asam benzoat bekerja lebih baik, terutama untuk mengatasi drifting yang dihasilkan dari reaksi redoks seperti terlihat dalam respon sensor asam benzoat pada Gambar 4.2. Potensial elektroda semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi asam benzoat di dalam larutan. Kurva kalibrasi larutan standar asam benzoat diperlihatkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.2. Respon sensor benzoat terhadap asam benzoat standar: (a) 0,1 mM, (b) 0,3 mM, (c) 0,5 mM, (d) 0,8 mM, (e) 1,0 mM, (f) 1,5 mM asam benzoat, menggunakan sensor W/Pty/Mod vs Ag/AgCl.

Kurva kalibrasi larutan standar asam benzoat pada Gambar 4.3 menunjukkan bahwa linieritas pengukuran sensor berada pada skala konsentrasi 0,05 – 1,5 mM asam benzoat, slope 49,18 mV/perdekade konsentrasi asam benzoat, dan batas deteksi 0,01 mM asam benzoat. Hasil yang diperoleh pada tahap awal penelitian ini sangat

menggembirakan dalam pengembangan sensor asam benzoat. Pengembangan lebih lanjut sedang dilakukan, yaitu perbaikan sensitifitas dan selektifitas penentuan menggunakan sensor asam benzoat secara potensiometri. Pada saat ini sedang dilakukan optimisasi menggunakan larutan standard baku asam benzoat terhadap beberapa parameter seperti pengaruh buffer dan pH, variasi kondisi matriks polytyramin, uji stabilitas, uji selektifitas (*interference*) dan parameter lain untuk aplikasi penentuan kadar bahan pengawet asam benzoat di dalam sampel makanan dan minuman.



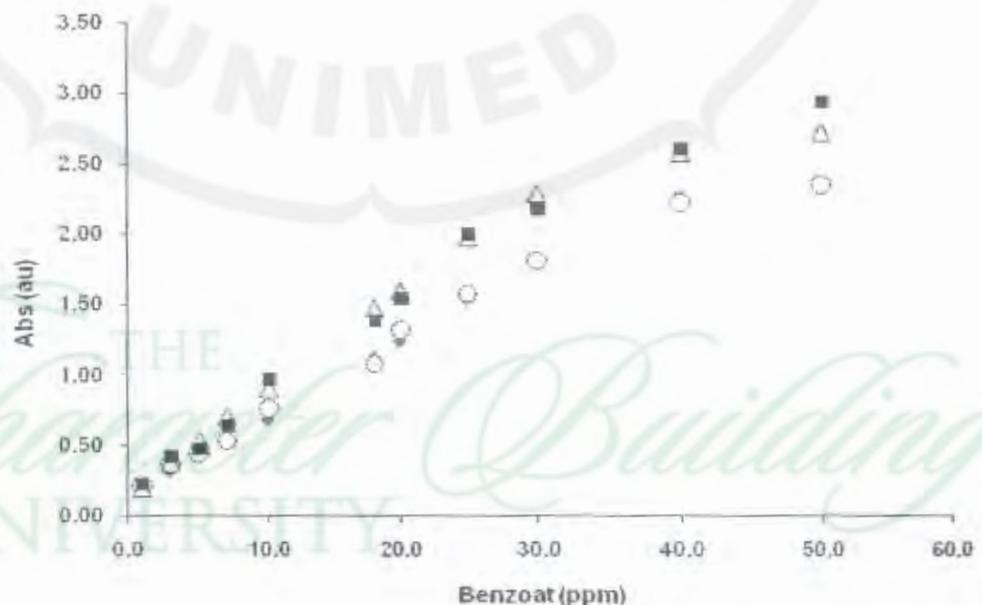
Gambar 4.3. Kurva kalibrasi larutan asam benzoat yang dianalisis menggunakan sensor W/Pty/Mod vs Ag/AgCl dalam deteksi potensiometri

Sensor yang dikembangkan ini mempunyai prospek baik untuk digunakan dalam analisis asam benzoat dalam sampel makanan dan minuman sebagai target penelitian ini. Akan tetapi, pada tahap ini sensor dalam deteksi potensiometri masih dalam pengembangan dan belum diperoleh kondisi optimum sehingga belum dapat diaplikasikan dalam penentuan benzoat di dalam sampel. Pada waktu yang bersamaan, pengembangan sensor kimia dalam deteksi spektrofotometri dalam deteksi ultraviolet (Spektrofotometri UV) juga dikembangkan, dan dijelaskan dalam pembahasan berikut ini.

4.3. Sensor Kimia Penentuan Benzoat Dalam Deteksi Spektrofotometri UV

Sensor kimia untuk penentuan pengawet benzoat telah berhasil dikembangkan melalui integrasi sel (kuvet), sumber sinar (double beam), detektor ultraviolet (UV), dan powerlab sebagai pencacah data dijelaskan secara terperinci pada Sinaga, *dkk*, (2012), dan oleh alasan tertentu maka disain sensor kimia penentuan benzoat tidak diikutsertakan dalam tulisan ini. Sensor kimia hasil pengembangan dapat

dipergunakan untuk penentuan asam benzoat. Untuk mendapatkan deteksi yang optimum pada penentuan benzoat telah dilakukan optimasi variasi pelarut, diantaranya melihat respon dan sensitifitas sensor kimia pada kondisi asam, netral dan basa. Pengujian terhadap signal sensor kimia dilakukan menggunakan 10 ppm benzoat standar yang dilarutkan dalam variasi pelarut, berturut-turut di dalam 1 mM HCl, H₂SO₄, NaOH, dan pada kondisi netral menggunakan aquadest. Sensor kimia menunjukkan respon panjang gelombang optimum bervariasi, yaitu diperoleh berturut-turut pada suasana larutan asam (HCl, λ 229,65 dan H₂SO₄, λ 229,83), netral (H₂O, λ 223,79), dan basa (NaOH, λ 223,71), yang diikuti dengan perbedaan dalam absorbansi pendeteksian. Pergeseran dalam perubahan panjang gelombang optimum juga disertai dengan terjadinya variasi dalam absorbansi (au) walau menggunakan larutan standar benzoat konsentrasi sama. Hal ini disebabkan oleh perubahan kromofor pada kondisi larutan yang berbeda menghasilkan panjang gelombang deteksi yang berbeda. Selanjutnya respon sensor kimia diuji menggunakan larutan standar benzoat untuk melihat sensitifitas dan linearitas pengukuran pada masing-masing kondisi larutan yang berbeda. Kurva kalibrasi larutan standar benzoat pada variasi jenis larutan diperlihatkan pada Gambar 1, dan deskripsi hasil pengukuran dirangkum pada Tabel 4.1.



Gambar 4.4. Kurva kalibrasi larutan standar benzoat di dalam sensor kimia pada variasi pelarut: (■) 1 mM HCl, (Δ) 1 mM H₂SO₄, (◆) netral H₂O, dan (○) 1 mM NaOH.

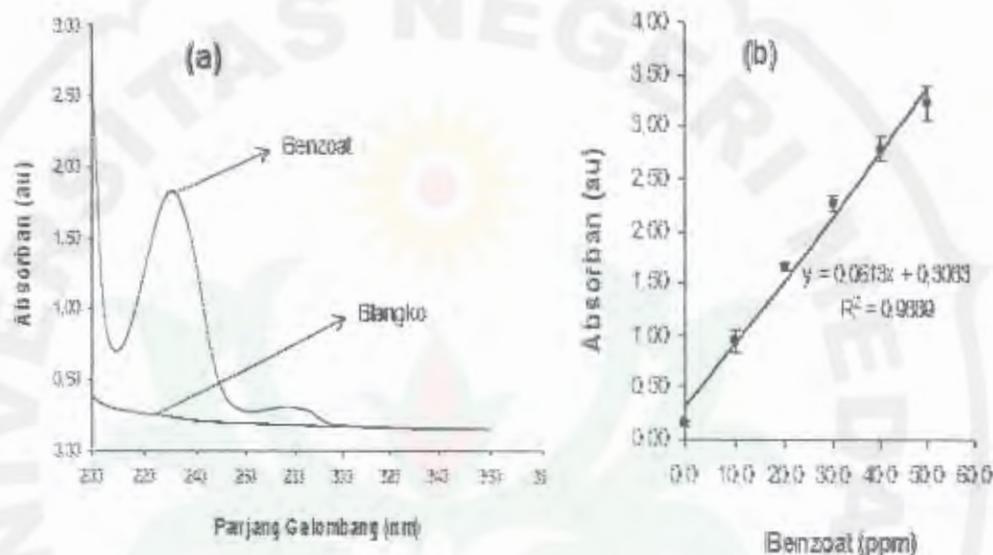
Dari hasil terlihat bahwa sensitivitas dan linearitas sensor kimia bervariasi menggunakan pelarut yang berbeda. Dari hasil terlihat bahwa sensor kimia memberikan skala linearitas yang paling lebar dan disertai dengan sensitivitas paling tinggi pada suasana asam. Pada suasana asam, skala linearitas pengukuran sensor kimia menggunakan HCl (0,05 – 40 ppm benzoat) lebih lebar dibandingkan dengan bila menggunakan pelarut H₂SO₄ (0,10 – 35 ppm benzoat) dan juga diikuti dengan sensitivitas yang lebih tinggi menggunakan HCl (0,061 au/ppm benzoat) bila dibandingkan menggunakan H₂SO₄ (0,060 au/ppm benzoat), sedangkan skala linearitas pengukuran sensor kimia dalam suasana netral dan basa, relatif sama (0,10 – 30 ppm benzoat) tetapi dengan sensitivitas yang berbeda, yaitu sensitivitas sensor kimia pada suasana netral (0,054 au/ppm benzoat) lebih tinggi dibanding sensitivitas sensor kimia pada suasana basa (0,052 au/ppm benzoat). Dengan demikian, respon sensor kimia paling baik diperoleh dalam suasana asam sehingga pengukuran larutan standar dan sampel dilakukan menggunakan 1 mM HCl karena penggunaan kondisi asam ini juga dapat meningkatkan selektifitas sensor kimia.

Tabel 4.1. Kurva kalibrasi larutan standar benzoat di dalam sensor kimia pada variasi pelarut: (■) 1 mM HCl, (Δ) 1 mM H₂SO₄, (♦) netral H₂O, dan (O) 1 mM NaOH.

No	Jenis dan kondisi pelarut	λ maks (nm)	Linearitas	Slop (Abs, au/ppm)	Batas Deteksi
1	1 mM HCl	229,65	0,05 – 40 ppm	0,061	0,01 ppm
2	1 mM H ₂ SO ₄	229,83	0,10 – 35 ppm	0,060	0,05 ppm
3	netral H ₂ O	223,79	0,10 – 30 ppm	0,054	0,10 ppm
4	1 mM NaOH	223,71	0,10 – 30 ppm	0,052	0,10 ppm

Pengukuran respon sensor kimia terhadap benzoat dilakukan setelah kondisi optimum diperoleh. Bentuk signal sensor kimia penentuan benzoat diperlihatkan pada Gambar 4.5a, dan kurva kalibrasi standar benzoat ditunjukkan pada Gambar 4.5b. Dari respon sensor kimia yang ditunjukkan pada Gambar 2a terlihat bahwa penentuan benzoat optimum pada λ 229,65 nm yang ditunjukkan dari absorbansi yang sangat tinggi untuk senyawa benzoat dan pada larutan blangko tidak ditemukan signal pada panjang gelombang yang sama. Hasil ini meyakinkan bahwa respon

sensor kimia adalah berasal dari signal untuk kehadiran benzoat di dalam larutan. Pengukuran standar benzoat pada variasi konsentrasi dilakukan pada λ 229,65 nm dan diperoleh kurva kalibrasi yang merupakan plot antara rata-rata absorbansi terhadap konsentrasi benzoat untuk empat kali pengukuran ditunjukkan pada Gambar 2b.



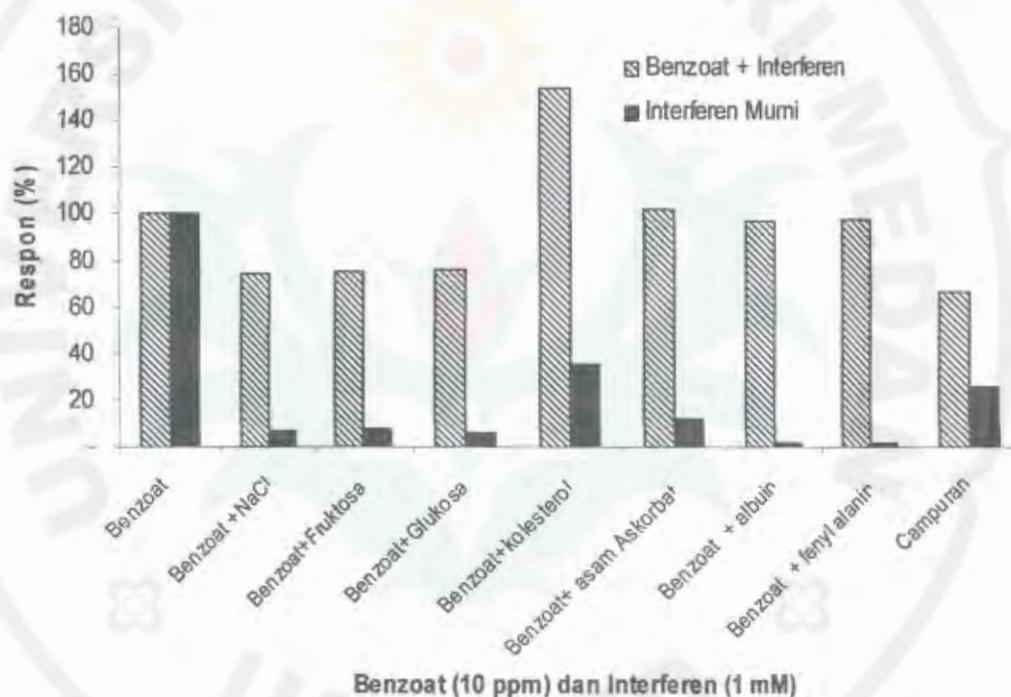
Gambar 4.5. Respon sensor kimia penentuan pengawet benzoat dalam deteksi spektrofotometri UV: (a) Signal hasil pengukuran 10 ppm benzoat dalam 1 mM HCl pada λ 200 – 380 nm, dan (b) Kurva kalibrasi larutan standar 1-50 mM benzoat diukur pada λ 229,65 nm (plot merupakan rata-rata dan SD 4 ulangan).

Sensor kimia menunjukkan linearitas yang cukup baik, yaitu berada pada skala konsentrasi 0,05 – 40 ppm benzoat, dengan slop 0,0613 au/ppm benzoat, dan batas deteksi berada pada 0,01 ppm benzoat. Skala linearitas ini sudah mencukupi untuk penentuan pengawet benzoat di dalam sampel minuman karena dalam prosedur penentuan benzoat di dalam sampel masih dilakukan pengenceran 25 kali (1 mL sampel di dalam 25 mL larutan). Batas deteksi sensor kimia juga sangat memadai karena sudah dapat menentukan senyawa benzoat kadar rendah sampai kadar tinggi.

4.3.1. Respon Sensor Kimia Terhadap Senyawa Pengganggu

Beberapa senyawa kimia yang sering ditambahkan ke dalam makanan dan minuman dianalisis menggunakan sensor kimia untuk meyakinkan selektifitas sensor pada penentuan benzoat. Terhadap larutan standar 10 ppm benzoat ditambahkan masing-masing 1 mM senyawa senyawa pengganggu (interferen) yang diduga sering ditambahkan ke dalam makanan dan minuman seperti glukosa, fruktosa, kolesterol,

asam askorbat (vitamin C), beberapa jenis garam seperti NaCl, protein albumin, dan asam amino fenil alanin, dan campuran, selanjutnya dilakukan pengukuran pada panjang gelombang penentuan benzoat. Selanjutnya analisis senyawa murni masing-masing 1 mM senyawa interferen dan campurannya juga dilakukan. Selanjutnya respon sensor kimia diukur berdasarkan persentase (%) respon masing-masing dibandingkan terhadap respon 10 ppm benzoat murni, dan hasil pengukuran benzoat, benzoat dan interferen, dan interferen murni diperlihatkan pada Gambar 3.



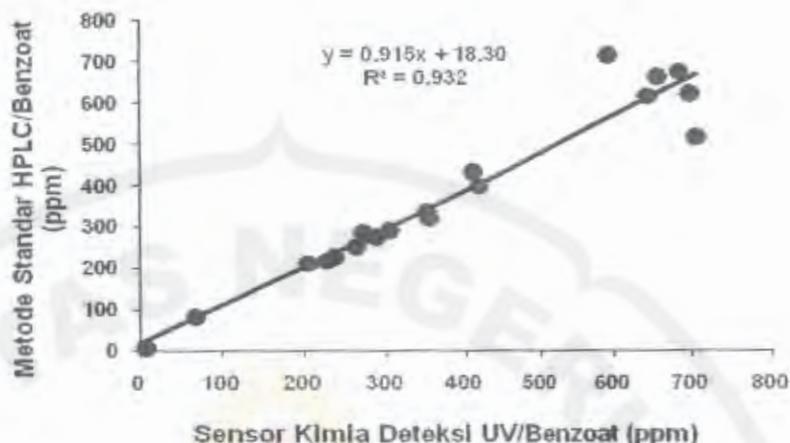
Gambar 4.6. Pengaruh interferen terhadap respon sensor kimia penentuan benzoat dan dalam deteksi spektrofotometri UV. Ke dalam 10 ppm benzoat ditambahkan 1 mM berbagai jenis interferen. Pengukuran dilakukan pada λ 229,65 nm, dan kondisi percobaan sama seperti pada Gambar 4.5.

Dari hasil yang ditunjukkan pada Gambar 3 terlihat bahwa beberapa senyawa interferen yang dianalisis memberikan respon yang kecil bila dibandingkan terhadap senyawa benzoat, dan hanya kolesterol yang memberikan respon yang tinggi (35%), sedangkan respon dari senyawa interferen lainnya (1-12%) dapat diabaikan. Dalam studi ini diketahui bahwa kehadiran senyawa pengganggu dalam kadar rendah tidak mengganggu sensor kimia dalam penentuan benzoat. Akan tetapi, kehadiran senyawa pengganggu kadar tinggi (1 mM interferen) dapat mempengaruhi pengukuran pada penentuan benzoat. Apabila senyawa pengganggu (1 mM) ditambahkan ke dalam 10 ppm benzoat diketahui kehadiran senyawa pengganggu dapat mengurangi dan meningkatkan hasil pengukuran senyawa benzoat, terutama pada senyawa kimia yang

memiliki kromofor, gugus fungsi dan ikatan rangkap memberi perubahan pada absorban penentuan benzoat. Senyawa pengganggu yang sangat potensial adalah senyawa kolesterol di dalam sampel yang dapat memberikan kontribusi peningkatan signal sensor kimia sampai 154% dibandingkan terhadap respon 10 ppm benzoat. Senyawa lain seperti glukosa, fruktosa dan albumin dalam konsentrasi tinggi (1 mM) dapat mengurangi signal sensor kimia penentuan benzoat menjadi 76-96% dibanding respon 10 ppm benzoat. Dapat dinyatakan bahwa sensor kimia dalam deteksi UV belum bebas dari pengaruh zat pengganggu. Namun demikian, karena dalam penentuan senyawa pengawet benzoat dilakukan dengan pengenceran sampai 25 kali maka prosedur tersebut sudah sekaligus menurunkan konsentrasi senyawa pengganggu potensial seperti kehadiran kolesterol di dalam sampel yang sangat mempengaruhi pada penentuan pengawet benzoat. Pada studi lanjut perlu dilakukan modifikasi instrumentasi agar dapat menentukan pengawet benzoat tanpa harus memisahkan senyawa pengganggu terlebih dahulu.

4.4.2. Penentuan Benzoat di Dalam Minuman

Sensor kimia hasil pengembangan diaplikasikan untuk penentuan asam benzoat di dalam minuman ringan. Dengan menggunakan prosedur yang dikembangkan di dalam penelitian ini, yaitu masing-masing sampel minuman ringan sebanyak 20 mL dimasukkan kedalam beaker gelas dan panaskan untuk menghilangkan gas CO₂ yang terkandung di dalamnya, dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring dan 10 menit pada suhu kamar, lalu sebanyak 1 mL sampel diencerkan menjadi 25 mL menggunakan 1 mM HCl, lalu dianalisis di dalam sensor kimia pada λ 229,65 nm. Sampel yang sama juga dianalisis secara prosedur standar menggunakan HPLC. Hasil analisis kadar benzoat di dalam berbagai jenis minuman ringan (A-V) menggunakan sensor kimia hasil pengembangan dan dibandingkan dengan metode standar HPLC diperlihatkan Pada Gambar 4. Kadar benzoat yang terdapat di dalam sampel minuman ringan bervariasi antara 7 – 700 ppm benzoat. Ada dua sampel yang tidak terdeteksi (ND) kadar benzoat dengan menggunakan sensor kimia, akan tetapi dapat dideteksi menggunakan metode standar HPLC. Diperoleh korelasi positif ($R^2 = 0,932$) dari hasil analisis menggunakan sensor kimia hasil pengembangan dengan metode standar HPLC, menandakan bahwa hasil analisis kadar benzoat yang diperoleh menggunakan sensor kimia sesuai dengan hasil yang diperoleh menggunakan metode standar HPLC.



Gambar 4.7. Analisis benzoat di dalam berbagai jenis minuman ringna menggunakan Sensor Kimia hasil pengembangan dan Metode Standar HPLC. Pengukuran sensor kimia dilakukan pada λ 229,65 nm, dan kondisi percobaan sama seperti pada Gambar 4.5.

Keberhasilan dalam pengembangan sensor kimia penentuan pengawet benzoat ini sudah memberikan arah yang baik dalam pengembangan instrumen analisis. Akan tetapi, beberapa kelemahan masih ditemukan dalam disain sensor kimia yang dikembangkan ini, terutama dalam rendahnya selektifitas deteksi untuk senyawa tertentu, dan juga terjadinya prosedur analisis yang dilakukan secara manual, yaitu sampel dianalisis satu-persatu sehingga membutuhkan waktu yang relatif lama. Dengan demikian, pengembangan lebih lanjut masih perlu dilakukan untuk meningkatkan selektifitas sensor kimia sehingga bebas dari senyawa pengganggu, dan memperbaiki kesederhanaan prosedur analisis menjadi otomatis sehingga sampel dapat dianalisis secara simultan tanpa membersihkan sel dan memungkinkan dilakukan analisis sampel dalam waktu relatif singkat. Instrumen analisis hasil pengembangan diharapkan akan dapat dipergunakan menjadi instrumen analisis standar di laboratorium, dan menjadi peralatan rutin dipergunakan untuk kontrol kualitas pengawet pada industri makanan dan minuman.

4.4. Sensor Kimia Penentuan Formaldehida Secara Spektrometry UV-Vis

Pengembangan sensor kimia penentuan formaldehida dalam deteksi spektrometry UV-Vis telah dikembangkan untuk penentuan pengawet formaldehida di dalam makanan dan minuman. Tahap pertama yang dilakukan adalah preparasi sampel, terutama sampel yang diduga mengandung pengawet formaldehida seperti ikan asin dan tahu. Sampel diambil secara random dari berbagai wilayah di kota

Medan. Sampel padat dipotong kecil-kecil dan ditimbang seksama sebanyak 20 gram, kemudian dimasukkan kedalam labu destilasi uap, ditambahkan 100 mL air dan 5 mL asam fosfat 10%, didestilasi perlahan-lahan. Destilat ditampung dalam erlenmeyer yang telah berisi 10 mL air suling, dan sampel hasil preparasi yang sudah didestilasi diperlihatkan pada Gambar 4.8. Destilat inilah yang siap untuk dianalisis dengan menggunakan metode spektrofotometri.

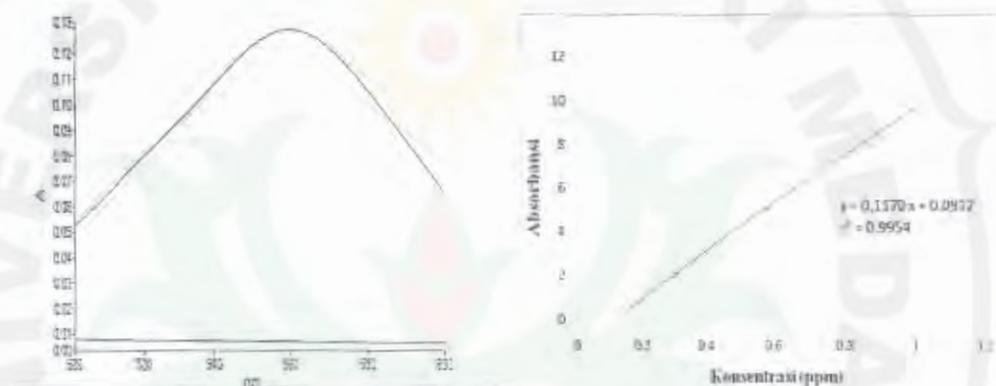


Gambar 4.8. Sampel formaldehida hasil destilasi dari 20 gram sampel yang telah dipreparasi di dalam pelarut air. Destilasi dilakukan secara perlahan di dalam labu destilasi uap yang mengandung 100 mL air dan 5 mL asam fosfat 10% dan destilat ditampung di dalam pelarut air

4.4.1. Pengukuran dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan larutan standar formaldehida pada konsentrasi 0,2 ppm, dengan rentang panjang gelombang antara 500-600 nm. Pemilihan rentang panjang gelombang tersebut didasarkan pada warna komplementer dari pengabsorpsi asam kromatofat yang memberikan warna violet. Hasil pengukuran serapan maksimum diperoleh pada panjang gelombang 560,20 nm dengan serapan tertinggi yaitu 0,12 A seperti diperlihatkan pada gambar 4.9a. Sebelum dipergunakan untuk menganalisis kadar formaldehida dalam sampel makanan, instrumen analisis terlebih dahulu dikalibrasi. Konsentrasi analit dapat terdeteksi dengan baik sehingga diperoleh persamaan garis linier yang akan menghasilkan daya analisis instrumen yang akurat. Kalibrasi dilakukan dengan cara variasi konsentrasi larutan standar formaldehida (0,2, 0,8, 1,4, 2, 5, 8, 10) ppm dengan menggunakan panjang gelombang 563,58 nm dan waktu kerja optimum 15 menit. Kurva kalibrasi yang diperoleh dapat dilihat ada gambar 4.9b. Tujuan dari

pembuatan kurva kalibrasi ini adalah mengetahui linearitas dan sensitifitas dari berbagai macam konsentrasi larutan standar yang diukur. Penentuan linearitas dan sensitifitas dilakukan dengan mengukur campuran yang terdiri dari larutan standar formaldehida dengan konsentrasi yang bervariasi yaitu (0,2, 0,8, 1,4, 2, 5, 10) ppm, senyawa pengikat formaldehida, dan senyawa pengkompleks yaitu asam kromatofat dan diukur pada panjang gelombang 560,20 nm. Hasil pengukuran yang diperoleh seperti diperlihatkan pada gambar 4.9b.



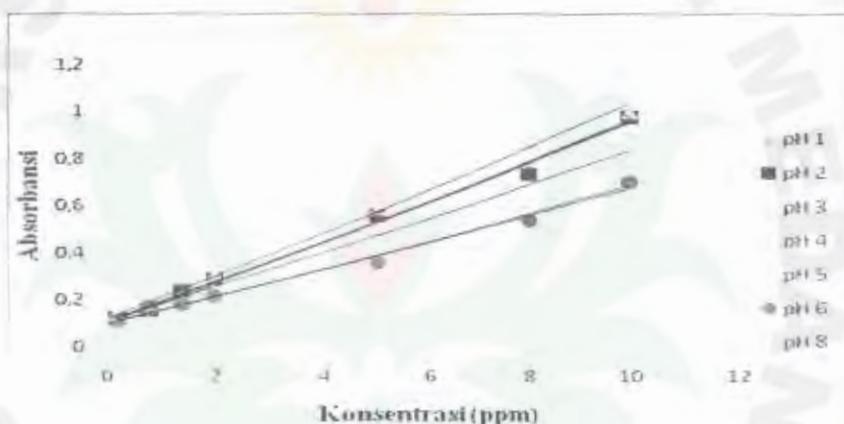
Gambar 4.9. (a) Respon sensor kimia penentuan formaldehida untuk analisis 5 ppm formaldehida secara spektrofotometri UV-Vis setelah perlakuan dengan asam kromatofat, (b) Kurva kalibrasi penentuan formaldehida dideteksi pada panjang gelombang maksimum 560,20 nm.

Dari kurva kalibrasi diperoleh konsentrasi yang membentuk garis linearitas adalah konsentrasi 0,2 sampai 2 ppm. Konsentrasi ini digunakan untuk membuat kurva kalibrasi dengan pH larutan buffer optimum. Dari kurva kalibrasi di atas dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan standar formaldehida maka semakin tinggi juga absorbansi yang diperoleh.

4.4.2. Pengaruh pH Larutan Buffer

Buffer berfungsi untuk menyediakan kekuatan ion di dalam larutan, mengontrol aktivitas ion yang sedang diukur, dan mengatur pH larutan yang baik. Buffer yang digunakan adalah buffer posfat 0,01 M dan divariasikan pada pH (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8) dan diperoleh pH yang optimum yaitu pada pH 3 dengan panjang gelombang 563,58 nm. Dengan menggunakan panjang gelombang optimum pada masing-masing pH, dibuat deret standar pada masing-masing pH untuk menentukan linearitas terbaik. Hasil yang diperoleh seperti yang diperlihatkan pada gambar 4.10. Dari hasil pengukuran dapat diketahui kondisi sampel yang terbaik terdapat pada kondisi asam yaitu pada pH 3, panjang gelombang maksimum 563,58 nm dengan

absorbansi 0,18 A. Sehingga Panjang gelombang maksimum dan pada kondisi pH 3 ini digunakan untuk analisis formaldehida pada sampel makanan. Penentuan formaldehida di dalam sampel dilakukan untuk melihat waktu yang sangat baik untuk terjadinya reaksi warna secara sempurna. Untuk membentuk senyawa 3,4,5,6-dibenzoxanthylum berwarna violet yang optimum perlu dilakukan variasi waktu kerja. Penentuan waktu kerja formaldehida baku secara spektrofotometri sinar tampak dilakukan pada variasi waktu 1-20 menit dengan melihat nilai absorbansi yang optimum.



Gambar 4.10. Pengaruh pH pada panjang gelombang maksimum masing-masing pH terhadap absorbansi larutan pada masing-masing konsentrasi untuk analisis (ppm) formaldehida secara spektrofotometri uv-vis setelah perlakuan dengan asam kromatofat

4.4.3. Pengaruh Zat Pengganggu

Pengaruh zat pengganggu terhadap analisis formaldehida dilakukan dengan cara 1 mL formaldehida 5 ppm, dicampurkan dengan masing-masing 5 ppm zat pengganggu direaksikan dengan 3 mL asam kromatofat kemudian dilakukan perlakuan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit kemudian diencerkan dengan buffer pH 3 pada labu tentu ukur 10 mL, setelah terbentuk warna violet maka diukur serapannya pada panjang gelombang 563,58 nm. Pengaruh zat pengganggu terhadap panjang gelombang dan absorbansi larutan diperlihatkan pada tabel di bawah ini. Dari Tabel 4.2 maka dapat diketahui bahwa senyawa pengganggu dari golongan aldehyd, keton, eter, ester, garam-garam, protein, alkohol, asam askorbat serta campuran, dapat mempengaruhi panjang gelombang dan absorbansi dari formaldehida. Hal ini terbukti bahwa panjang gelombang dan nilai absorbansi

formaldehida setelah penambahan zat pengganggu tidak sama serta tidak stabil. Dan senyawa pengganggu yang memberikan pengaruh paling besar adalah Asam Askorbat (Vitamin C) dengan pergeseran panjang gelombang sebesar 221,58 nm.

Tabel 4.2. Pengaruh zat pengganggu terhadap pergeseran panjang gelombang dan absorbansi

No.	Senyawa Pengganggu	λ Max (nm)	Absorbansi (A)
1.	Formaldehida + Glutaraldehyd	420.98	1.96
2.	Formaldehida + Aseton	562.99	0.24
3.	Formaldehida + Dietil Eter	563.82	0.24
4.	Formaldehida + Metil Asetat	563.13	0.18
5.	Formaldehida + NaCl	561.64	0.20
6.	Formaldehida + NaNO ₂	421.28	1.34
7.	Formaldehida + Na ₂ SO ₄	561.03	0.10
8.	Formaldehida + Albumin	342.00	0.24
9.	Formaldehida + Metanol	567.05	0.33
10.	Formaldehida + Asam Askorbat	280.09	0.16
11.	Campuran	342.00	10
12.	Formaldehida	563.58	0.18

4.4.4. Penentuan Kadar Formaldehida dalam Sampel

Penentuan kadar formaldehida dilakukan pada beberapa sampel makanan yaitu ikan asin dan tahu dari berbagai jenis. Pada tahap preparasi sampel, semua sampel ditimbang terlebih dahulu sebanyak 20 g sebelum dihomogenkan. Kemudian dilakukan destilasi pada sampel, tahap selanjutnya 1 mL destilat, dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 3 mL larutan asam kromotropat yang dibuat segar, Kemudian dipanaskan di dalam penangas air yang mendidih selama 15 menit. Lalu Ditepatkan menggunakan buffer pH optimum, Setelah terbentuk kompleks berwarna violet yang menunjukkan adanya kandungan formaldehida pada sampel, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum dan waktu kerja formaldehida yang telah diperoleh sebelumnya yaitu pada panjang gelombang 563,58 nm dan waktu kerja selama 15 menit. Setelah diperoleh absorbansi sampel maka selanjutnya adalah menghitung kadar formaldehida dalam sampel makanan yang dapat dilakukan

dengan cara mensubstitusikan absorbansi sampel ke persamaan regresi linear, maka akan diperoleh kadar formaldehida dalam sampel yang dapat dilihat pada Tabel 4.3.

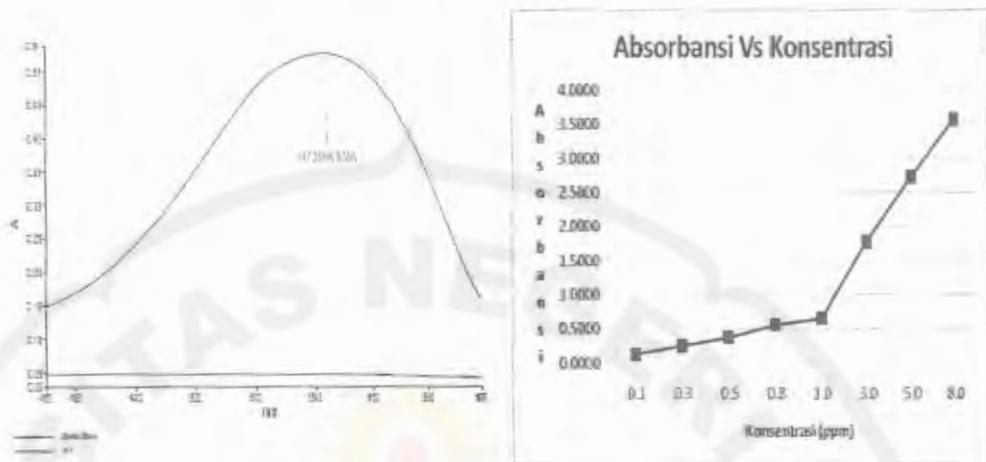
Tabel 4.3. Kadar formaldehida dalam sampel ikan asin dan tahu

No.	Nama Makanan	Kadar Formaldehida (ppm)
1	Ikan Asin Gembung Rebus	1.30
2	Ikan Asin Sale	37.7
3	Ikan Asin Kepala Batu	74.74
4	Ikan Asin Lidah	29.14
5	Tahu Medan Pajak Pagi	0.51
6	Tahu Medan Sentosa	0.08
7	Tahu Cina (Tofu) Udang	4.78
8	Tahu Cina (Tofu) Tanpa Merek	5.55
9	Tahu Cina (Tofu) Sutra	0.34
10	Ikan Asin Pari	29.74

Berbagai jenis ikan asin dan tahu yang dikonsumsi masyarakat dianalisis secara spektrofotometri seperti dirangkum dalam Tabel 4.3. Dari hasil analisis secara sensor kimia dengan metode spektrofotometri menunjukkan bahwa ikan asin kepala batu memiliki kandungan formaldehida tertinggi yaitu berada pada 74,74 ppm sementara kandungan formaldehida terendah yaitu pada Tahu Medan Sentosa berada pada 0,08 ppm. Hasil ini diperoleh dengan cara mensubstitusikan absorbansi sampel yang diperoleh ke dalam persamaan linear $y = 0,1170 x + 0,0912$, dengan harga $R^2 = 0,9954$ yang diperoleh dari kurva kalibrasi larutan standar.

4.4. Sensor Kimia Penentuan Nitrit Dalam Deteksi Spektrometry UV-Vis

Dari pengukuran dengan metode spektrofotometri diperoleh pengukuran panjang gelombang maksimum, waktu kerja optimum, penentuan linearitas pengukuran, pengaruh pH larutan buffer, dan pengaruh zat pengganggu. Penentuan panjang gelombang maksimum ini dilakukan dengan larutan standar natrium nitrit pada konsentrasi 0,8 ppm, dengan rentang panjang gelombang 450-600 nm. Pengukuran ini perlu dilakukan untuk membuat suatu deret standar. Hasil pengukuran maksimum diperoleh pada panjang gelombang maksimum 547.30 nm dengan serapan tertinggi yakni 0,55 seperti diperlihatkan pada gambar 4.11a.



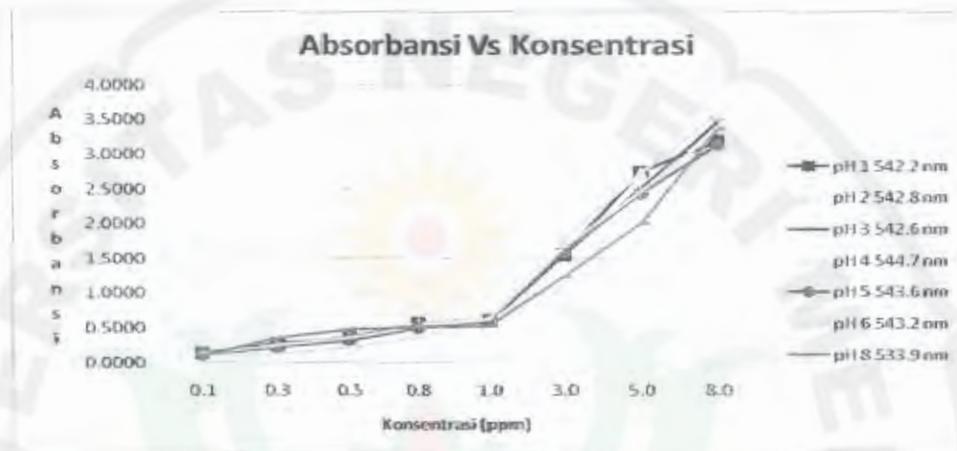
Gambar 4.11. (a) Panjang gelombang maksimum nitrit 0,8 $\mu\text{g/mL}$ secara spektrofotometri UV-Vis setelah mereaksikan Nitrit dengan senyawa pengikat yakni asam sulfanilat dan senyawa pengkompleks yakni NED, (b) Kurva linearitas larutan standar natrium nitrit pada panjang gelombang 547.30 nm setelah direaksikan dengan senyawa pengikat asam sulfanilat dan senyawa pengkompleks NED

Tujuan dari pembuatan kurva kalibrasi adalah mengetahui persamaan regresi linear dari berbagai macam konsentrasi larutan standar yang diukur. Dari hasil pengukuran berbagai larutan standar tersebut akan diperoleh persamaan regresi linear. Kurva kalibrasi yang diperoleh pada Gambar 4.11. Dari kurva kalibrasi diperoleh persamaan $y = bx + a$, yakni $y = 0,4520x + 0,1974$ dengan $R^2 = 0,9826$. Persamaan regresi linear ini selanjutnya digunakan pada penentuan kadar natrium nitrit pada sampel. Penentuan linearitas dan sensitifitas dilakukan dengan mengukur campuran yang terdiri dari larutan standar nitrit dengan konsentrasi yang bervariasi yaitu 0,1 ; 0,3 ; 0,5 ; 0,8 ; 1,0 ; 3,0 ; 5,0 ; 8,0 ; 10 ; 13 ; dan 15 ppm, senyawa pengikat asam sulfanilat, dan senyawa pengkompleks NED dan diukur setelah 5 menit pada panjang gelombang 547.3 nm. Hasil pengukuran yang diperoleh diperlihatkan pada Gambar 4.11b. Dari kurva kalibrasi diperoleh konsentrasi yang membentuk garis linearitas adalah konsentrasi 0,1 sampai 8 ppm. Konsentrasi ini digunakan untuk membuat kurva kalibrasi dengan pH larutan buffer optimum.

4.4.1. Pengaruh pH Larutan Buffer

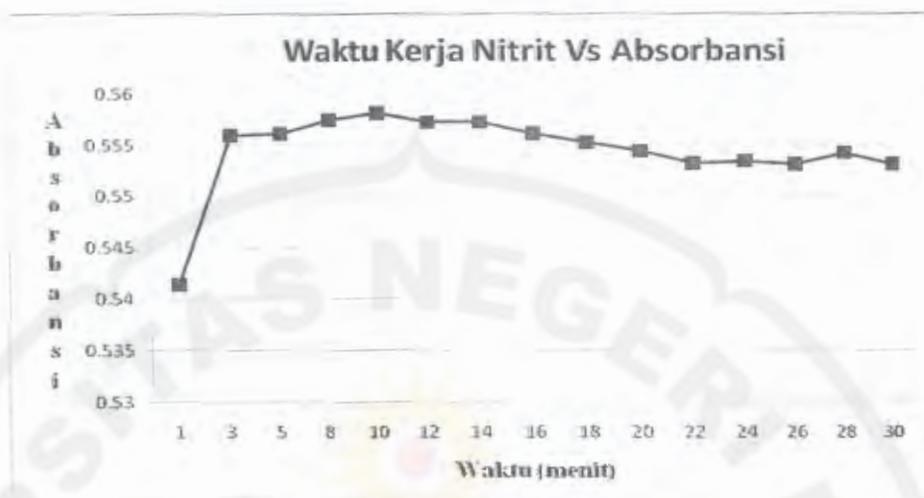
Buffer berfungsi untuk menyediakan kekuatan ion di dalam larutan, mengontrol aktivitas ion yang sedang diukur, dan mengatur pH larutan yang baik. Buffer yang digunakan adalah buffer posfat 0,01 M dan divariasikan pada pH (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8) dan diperoleh pH yang optimum yaitu pada pH 2 dengan panjang gelombang 542,75 nm yang memberikan nilai absorbansi 0,57. Dengan

menggunakan panjang gelombang optimum pada masing-masing pH, dibuat deret standar pada masing-masing pH untuk menentukan linearitas terbaik. Hasil yang diperoleh seperti diperlihatkan pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12. Pengaruh pH pada panjang gelombang maksimum masing-masing pH terhadap absorbansi larutan pada masing-masing konsentrasi. Nitrit dianalisis pada variasi konsentrasi 0,1; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0; 3,0; 5,0; dan 8,0 $\mu\text{g/mL}$ dengan mereaksikannya dengan senyawa pengikat yakni asam sulfanilat dan senyawa pengkompleks yakni NED dengan menggunakan pelarut buffer pH 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 8.

Dari hasil pengukuran diperoleh bahwa data linearitas terbaik adalah pH 2 dengan panjang gelombang 542,75 nm. Ion diazonium yang dihasilkan dari reaksi asam sulfanilat dengan nitrit akan bereaksi dengan n-(1-naftil)-etilendiamin dihidroklorida membentuk senyawa azo yang berwarna ungu kemerahan pada kondisi asam lemah yakni pada pH 2,0-2,5 (Grasshoof, 1976). Penentuan nitrit dalam sampel dengan menggunakan metode spektrofotometri melibatkan reaksi pembentukan warna. Untuk membentuk senyawa azo berwarna ungu kemerahan yang optimum perlu dilakukan variasi waktu kerja. Penentuan waktu kerja nitrit baku secara spektrofotometri sinar tampak dilakukan pada variasi waktu 1 - 30 menit dengan melihat nilai absorbansi yang optimum. Gambar 4.13 memperlihatkan pengukuran waktu kerja optimum pada konsentrasi nitrit 0,8 mg/L. Dari gambar 4.5 dapat dilihat waktu kerja yang optimum adalah pada menit ke 10 karena memberikan nilai absorbansi tertinggi yakni 0,5581 dengan demikian waktu yang digunakan untuk pengukuran kadar natrium nitrit pada sampel adalah 10 menit per sampel



Gambar 4.13. Penentuan Waktu Kerja Optimum dengan Menggunakan larutan standar nitrit 0,8 mg/L. Larutan nitrit 0,8 mg/L direaksikan dengan senyawa pengikat yakni asam sulfanilat dan senyawa pengkompleks yakni NED dengan pelarut buffer pH 2. Waktu kerja diukur pada waktu 1-30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 542,75 nm.

4.4.2. Pengaruh Zat Pengganggu

Pengaruh zat pengganggu terhadap analisis nitrit dilakukan dengan cara 50 μ L Natrium Nitrit 5 mM dicampurkan dengan masing-masing 50 μ L zat pengganggu 5 mM lalu ditepatkan dengan buffer pH 2 pada labu ukur volume 10 mL. Pengaruh zat pengganggu terhadap panjang gelombang dan absorbansi larutan diperlihatkan pada Tabel. 4.4. Dari hasil pengukuran diperoleh bahwa semua senyawa pengganggu yang ditambahkan memberikan pengaruh terhadap pengukuran serapan natrium nitrit, dan senyawa pengganggu yang memberikan pengaruh lebih besar adalah Asam Askorbat (Vitamin C) dengan pergeseran panjang gelombang sebesar 3,8 nm.

Tabel. 4.4. Pengaruh Zat Pengganggu Terhadap Pergeseran Panjang Gelombang dan Absorbansi

No.	Penambahan	Panjang Gelombang Maksimum (nm)	Absorbansi
1	NaNO ₂	542.75	1.23
2	NaNO ₂ + NaCl	538.11	1.16
3	NaNO ₂ + Na ₂ CO ₃	538.71	1.19
4	NaNO ₂ + Pb(NO ₃) ₂	538.21	1.17
5	NaNO ₂ + Glukosa	540.27	0.98
6	NaNO ₂ + Kolesterol	540.26	1.00
7	NaNO ₂ + Asam Askorbat	546.55	0.72

4.3.3. Penentuan Kadar Natrium Nitrit dalam Sampel

Sampel yang dianalisa merupakan daging olahan yaitu sosis, daging burger, dan bakso. Sampel digerus sampai halus, kemudian masing-masing sampel ditimbang sebanyak 5 g lalu dilarutkan dengan \pm 50 mL akuades panas (80° C). Selanjutnya larutan dipanaskan selama 30 menit untuk memastikan bahwa semua natrium nitrit yang terdapat dalam sampel telah larut dalam pelarut tersebut. Larutan tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan endapan dan filtrat dan untuk menjernihkan larutan, sehingga filtrat sampel siap untuk dianalisa dengan menggunakan metode spektrofotometri.



Gambar 4.14. Sampel daging olahan yang telah dipreparasi yang akan diukur secara spektrofotometri UV-Vis.

Dari pengukuran yang dilakukan diperoleh data bahwa sampel yang paling banyak mengandung pengawet natrium nitrit adalah Sosis C sebesar 101.26 ppm dan yang terendah daging burger I sebesar 2.43 ppm, sedangkan pada bakso dan sosis A tidak terdapat pengawet natrium nitrit. Pada sampel yang tidak mengandung natrium nitrit pada pengerjaannya tidak terbentuk warna ungu kemerahan setelah ditambahkan pengkompleks NED yang membuktikan bahwa tidak terdapat gugus NO_2^- pada sampel untuk diikat oleh asam sulfanilat.

Tabel 4.5. Kadar NaNO_2 (ppm) dalam Sampel Daging Olahan. Sampel hasil preparasi direaksikan dengan dengan senyawa pengikat asam sulfanilat dan senyawa pengkompleks NED, dilarutkan menggunakan buffer pH 2, diinkubasi selama 10 menit, dan diukur pada panjang gelombang 542,75 nm.

No.	Nama Sampel	Konsentrasi (ppm)
1	Sosis A	0
2	Sosis B	28.98
3	Sosis C	101.26
4	Sosis D	72.92
5	Sosis E	69.56
6	Sosis F	90.79
7	Sosis G	45.44
8	Bakso	0
9	Daging Burger I	2.43
10	Daging Burger II	85.00

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Pembuatan sensor kimia untuk penentuan benzoat telah berhasil dikembangkan. Sensor didisain melalui integrasi sel, detektor UV dan proses data yang kompak yang memberikan respon yang sensitif terhadap benzoat pada λ 229,65 nm. Sensor kimia menunjukkan linearitas yang cukup baik, yaitu berada pada skala konsentrasi 0,05 – 40 mM benzoat, dengan slop 0,0613 au/ppm benzoat, dan batas deteksi berada pada 0,01 ppm benzoat. Sensor telah diaplikasikan untuk penentuan pengawet benzoat di dalam berbagai jenis minuman ringan. Kadar benzoat yang terdapat di dalam sampel minuman ringan bervariasi antara 7 – 700 ppm benzoat. Hasil analisis menggunakan sensor kimia hasil pengembangan identik dengan hasil yang diperoleh menggunakan metode standar HPLC ($R^2 = 0,932$). Pengembangan disain sensor kimia masih perlu dilakukan untuk meningkatkan selektifitas dan kesederhanaan analisis sehingga dapat dipergunakan menjadi instrumen analisis rutin di laboratorium dan industri.

Optimisasi serta penentuan kadar formaldehida dalam sampel makanan dilakukan dengan metode spektrofotometri untuk penentuan formaldehida dalam sampel ikan asin dan tahu diperoleh kondisi optimum yaitu waktu kerja optimum 15 menit, pH larutan buffer optimum adalah pH 3, panjang gelombang maksimum 563,58 nm, serta kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linier $y = 0,1170 x + 0,0912$, dengan harga $R^2 = 0,9954$. Sampel makanan yang memiliki kadar formaldehida tertinggi adalah ikan asin kepala batu yaitu berada pada 74,74 ppm sementara kandungan formaldehida terendah yaitu pada Tahu Medan Sentosa berada pada 0,08 ppm. Dari hasil pengukuran terhadap zat-zat pengganggu, semua zat pengganggu memberikan pengaruh terhadap pengukuran formaldehida dalam analisis berupa pergeseran panjang gelombang dan absorbansinya. Asam askorbat (vitamin C) memberikan pengaruh paling besar dalam analisis yakni 0,12 pada panjang gelombang maksimum 280,09 nm. Penentuan formaldehida secara sensor kimia dengan metode spektrofotometri sangat sensitif dan akurat dengan linearitas pengukuran (0,2-10 ppm) formaldehida.

Dengan metode spektrofotometri dalam penentuan natrium nitrit dalam sampel daging olahan diperoleh kondisi optimum analisa yaitu waktu kerja optimum 10 menit, pH larutan buffer optimum adalah pH 2, panjang gelombang maksimum adalah 542,75 nm, linearitas pengukuran 0,1 – 8,0 µg/mL nitrit, serta dari kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,4520x + 0,1974$ dengan harga $R^2 = 0,9826$. Dari hasil pengukuran terhadap zat-zat pengganggu, semua zat pengganggu memberikan pengaruh terhadap pengukuran nitrit dalam analisa berupa pergeseran panjang gelombang dan absorbansinya. Asam askorbat (vitamin C) memberikan pengaruh lebih besar dalam analisis yakni 0,72A pada panjang gelombang maksimum 546.55 nm. Dari hasil pengukuran spektrofotometri kadar natrium nitrit yang terdapat dalam sampel masih memenuhi syarat yakni maksimal 125 mg/kg. Kadar natrium nitrit tertinggi terdapat pada sosis C sebesar 101.26 ppm dan kadar nitrit terendah terdapat pada daging burger I yakni 2.43 ppm, sedangkan pada sosis A dan bakso tidak terdapat pengawet natrium nitrit.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrams, S.A dan Atkinson, S.A, (2003), Calcium, magnesium, phosphorus and vitamin D fortification of complementary foods, *The Journal of Nutrition* **133(9)**: S2994-S2999.
- Albert, K.J.; Lewis, N.S.; Schauer, C.L.; Sotzing, G.A.; Stitzel, S.E.; Vaid, T.P. and Walt D.R., (2000), Cross-reactive chemical sensor arrays, *Chemical Reviews* **100**: 2595-2626.
- Bassi, A.S. dan McGrath, C. (1999), Carbon paste biosensor based on crude soybean seed hull extracts for phenol detection, *Journal of Agricultural & Food Chemistry* **47**: 322-326.
- Bevilacqua, A., Corbo, M.R., dan Sinigaglia, M., (2010), In Vitro Evaluation of the Antimicrobial Activity of Eugenol, Limonene, and Citrus Extract against Bacteria and Yeasts, Representative of the Spoiling Microflora of Fruit Juices, *Journal of Food Protection*, **73(5)**: 888–894.
- Botsoglou, N.; Fletouris, D.; Psomas, I. dan Mantis, A., (1998), Rapid gas chromatographic method for simultaneous determination of cholesterol and alpha-tocopherol in eggs, *Journal of AOAC International* **81**: 1177-1183.
- Brahim, S.; Narinesingh, D. dan Guiseppi-Elie, A., (2001), Amperometric determination of cholesterol in serum using a biosensor of cholesterol oxidase contained within a polypyrrole-hydrogel membrane, *Analytica Chimica Acta* **448(1-2)**: 27-36.
- Buldini, P.L.; Ricci, L. dan Sharma, J.L., (2002), Recent applications of sample preparation techniques in food analysis, *Journal Of Chromatography A* **975(1)**: 47-70.
- Campanella, L.; Cordatore, M.; Mazzei, F. dan Tomassetti, M., (1990), Determination of inorganic phosphate in drug formulations and biological fluids using a plant tissue electrode, *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* **8**: 711-716.
- Cosnier, S., (1999), Biomolecule immobilization on electrode surfaces by entrapment or attachment to electrochemically polymerized films. A review, *Biosensors & Bioelectronics* **14**: 443-456.
- Cummings, E.A.; Mailley, P.; Linquettemailley, S.; Eggins, B.R.; Mcadams, E.T. dan Mcfadden, S., (1998), Amperometric carbon paste biosensor based on plant tissue for the determination of total flavanol content in beers, *Analyst* **123**: 1975-1980.
- Damalas, C.A., (2011), Potential uses of turmeric (*Curcuma longa*) products as alternative means of pest management in crop production, *Plant Osmich Journal* **4(3)**:136-141.
- Davletshina, T.A., Shul'gina, L.V., Lazhentseva, L.Y., Blinov, Y.G. dan Pivnenko, T.N., (2003), Inhibitory Effect of an Antimicrobial Preparation from Lipids of Marine Fishes on Tissue and Microbial Enzymes, *Applied Biochemistry and Microbiology*, **39(6)**: 595–598.
- Eigenmann, P.A., dan Haenggeli, C.A., (2007), Food colourings, preservatives, and hyperactivity, *The Lancet* **370**: 1524-1525.

- Emr, S.A. and Yacynych, A.M. (1995), Use of polymer film in amperometric biosensors, *Electroanalysis* 7: 913-923.
- Endrikat, S., Gallagher, G., Pouillot, R.G., Quesenberry, H.H., Labarre, D., Schroeder, C.M., dan Kause, J., (2010), A Comparative Risk Assessment for *Listeria monocytogenes* in Prepackaged versus Retail-Sliced Deli Meat, *Journal of Food Protection*, 73(4): 612-619.
- Friedman, M dan Juneja, V.K., (2010), Review of Antimicrobial and Antioxidative Activities of Chitosans in Food, *Journal of Food Protection*, 73(9): 1737-1761
- Giatrakou, V., Ntzimani, A., dan Savvaiddis, I.N., (2010), Combined Chitosan-Thyme Treatments with Modified Atmosphere Packaging on a Ready-to-Cook Poultry Product, *Journal of Food Protection*, 73(4): 663-669.
- Giesova, M., Chumchalova, J., dan Plockova, M., (2004), Effect of food preservatives on the inhibitory activity of acidocin CH5 and bacteriocin D10, *Eur Food Res Technol* 218: 194-197.
- Hall, E.A.H., (1991), *Biosensor*, Prentice Hall. Englewood Cliffs, New Jersey.
- Horie, H. dan Rechnitz, G.A., (1995), Hybrid tissue enzyme biosensor for pectin, *Analytica Chimica Acta* 306: 123-127.
- Jin, T., Zhang, H., dan Boyd, G., (2010), Incorporation of Preservatives in Polylactic Acid Films for Inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and Extending Microbiological Shelf Life of Strawberry Puree, , *Journal of Food Protection*, 73(5): 812-818.
- Karube, I. dan Nomura, Y., (2000), Enzyme sensors for environmental analysis, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 10: 879-990.
- Konig, A.; Bachmann, T.T.; Metzger, J.W. dan Schmid, R.D., (1999), Disposable sensor for measuring the biochemical oxygen demand for nitrification and inhibition of nitrification in wastewater, *Applied Microbiology & Biotechnology* 51: 112-117.
- Liang, J.F.; Li, Y.T. dan Yang, V.C., (2000), Biomedical application of immobilized enzymes, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 89: 177-181.
- Lima, A.W.O.; Nascimento, V.B.; Pedrotti, J.J. dan Angnes, L., (1997), Coconut-based plant tissue reactor for biosensing of catechol in flow injection analysis, *Analytica Chimica Acta* 354 325-331.
- Mahajan, B.V.C. , Singh, K. dan Dhillon, W.S., (2010), Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on storage life and quality of pear fruits, *J Food Sci Technol* 47(3): 351-354.
- Martin, S.P.; Lamb, D.J.; Lynch, J.M. dan Reddy, S.M., (2003), Enzyme-based determination of cholesterol using the quartz crystal acoustic wave sensor, *Analytica Chimica Acta* 487(1): 91-100.
- Oungpipat, W.; Alexander, P.W. dan Southwellkeely, P., (1995), A reagentless amperometric biosensors for hydrogen peroxide determination based on asparagus tissue and ferrocene mediation, *Analytica Chimica Acta* 309: 35-45.
- Peris, M., (2002), Present and future of expert systems in food analysis, *Analytica Chimica Acta* 454(1): 1-11.

- Pravdova, V.; Boucon, C.; de Jong, S.; Walczak, B. dan Massart, D.L., (2002), Three-way principal component analysis applied to food analysis: an example, *Analytica Chimica Acta* **462(2)**: 133-148.
- Purba, J.; Sinaga, M, dan Situmorang, M., (2010), *Pengembangan Metode Potensiometri Dalam Sistem Flow Injeksi Analisis (FIA) Untuk Penentuan Logam Berat Dalam Sampel Lingkungan*, laporan penelitian FMIPA Unimed
- Qin, W.; Zhang, Z.J.; Peng, Y.Y. dan Li, B.X., (1999), Plant tissue based cheluminescence flow biosensor for oxalate, *Analytical Communication* **36**: 337-339.
- Rodriguez-Martin, A., Acosta, R., Liddell, S., Núñez, F., Benito, M.J., dan Asensio, M.A., (2010), Characterization of the novel antifungal chitosanase PgChP and the encoding gene from *Penicillium chrysogenum*, *Appl Microbiol Biotechnol* **88**: 519-528.
- Santiesteban-Lo'Pez, N.A., Rosales, M.N, Palou, N., dan Lo'Pez-Malo, A., (2009), Growth Response of *Escherichia coli* ATCC 35218 Adapted to Several Concentrations of Sodium Benzoate and Potassium Sorbate, *Journal of Food Protection*, **72(11)**: 2301-2307.
- Singh, A., Korasapati, N.R., Juneja, V.K. dan Thippareddi, H., (2010), Effect of Phosphate and Meat (Pork) Types on the Germination and Outgrowth of *Clostridium perfringens* Spores during Abusive Chilling, *Journal of Food Protection*, **73(5)**: 879-887.
- Singh, S.; Chaubey, A. dan Malhotra, B.D., (2004), Amperometric cholesterol biosensor based on immobilized cholesterol esterase and cholesterol oxidase on conducting polypyrrole films, *Analytica Chimica Acta* **502(2)**: 229-234.
- Situmorang, M. (2001), *Development of enzyme based biosensor by using electrodeposited polytyramine*, **Ph.D Thesis**, The University of New South Wales, Australia
- Situmorang, M. dan Gooding, J.J., (2000), New biosensors for wine analysis, *ChemoSense* **2(4)**: 1-3.
- Situmorang, M. dan Nurwahyuni, I., (1996), Potensiometri penentuan glukosa dalam sistem flow injeksi analisis, *Indo Kimia* **2(3)**: 39-49.
- Situmorang, M. dan Nurwahyuni, I., (2001), Immobilisasi enzim dalam reaktor untuk penentuan kolesterol serum, *Majalah Kedokteran Nusantara* **34**: 84-89
- Situmorang, M.; Gooding, J.J. dan Hibbert, D.B., (1999), Immobilisation of enzyme throughout a polytyramine matrix: a versatile procedure for fabricating biosensors, *Analytica Chimica Acta* **394**: 211-223.
- Situmorang, M.; Gooding, J.J.; Hibbert, D.B. dan Barnett, D., (2002), The development of a pyruvate biosensor using electrodeposited polytyramine, *Electroanalysis* **14**: 17-21.
- Situmorang, M.; Gooding, J.J.; Hibbert, D.B. dan Barnett, D., (2001), Development of potentiometric biosensors using electrodeposited polytyramine as the enzyme immobilisation matrix, *Electroanalysis* **13**: 1469-1474.

- Situmorang, M.; Hibbert, D.B. dan Gooding, J.J., (2000), An experimental design study of interferences of clinical relevance of a polytyramine immobilized-enzyme biosensor, *Electroanalysis* **12**: 111-119.
- Situmorang, M.; Hibbert, D.B.; Gooding, J.J. dan Barnett, D., (1999), A sulfite biosensor fabricated using electrodeposited polytyramine: application to wine analysis, *Analyst* **124**: 1775-1779.
- Situmorang, M.; Lee, M.T.B.; Witzeman, K.; dan Heineman, W.R., (1998), Liquid chromatography with electrochemical detection (LC-EC): An experiment using 4-Aminophenol, *Journal of Chemical Education* **75**: 1035-1038.
- Situmorang, M.; Purba, J.; Nurwahyuni, I., dan Sinaga, M., (2003), Pembuatan Membran Elektroda Ion Selektif Melalui Sintesa Ionofor Azacrown, *Jurnal Penelitian Sainika* **3(2)**: 100-108
- Skoog, D. A. and Leary, J. J., (1992), *Principles of Instrumental Analysis*, 4th ed., Saunders College Publishers, New York.
- Sørensen, H.P., Madsen, L.S., Petersen, J., Andersen, T.P., Hansen, A.M., dan Beck, H.C., (2010), Oat (*Avena sativa*) Seed Extract as an Antifungal Food Preservative Through the Catalytic Activity of a Highly Abundant Class I Chitinase, *Appl Biochem Biotechnol* **160**: 1573-1584.
- Steven, S.J. dan Lehotay, J., (2002), Application of gas chromatography in food analysis, *Trends in Analytical Chemistry* **21(9-10)**: 686-697.
- Takemoto, D.; Furuse, K.; Doke, N. dan Kawakita, K., (1997), Identification of chitinase and osmotin-like protein as actin-binding proteins in suspension-cultured potato cells, *Plant & Cell Physiology* **38**: 441-448.
- Vadas, P., (2003), Food allergens and anaphylaxis, *Canadian Journal of Dietetic Practice and Research* **64(2)**: 1-5.
- Vo-Dinh, T. dan Cullum, B., (2000), Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostics, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **366**: 540-551.
- Voravuthikunchai, S.P., Dolah, S., dan Charemjiratraku, W., (2010), Control of *Bacillus cereus* in Foods by *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk. Leaf Extract and Its Purified Compound, *Journal of Food Protection*, **73(10)**: 907-1912.
- Wijesuriya, D.C. dan Rechnitz, G.A., (1993), Biosensors based on plant and animal tissues, *Biosensors & Bioelectronics* **8**: 155-160.
- Yao, T dan Takashima, K., (1998), Amperometric biosensor with a composite membrane sol-gel derived enzyme film and electrochemical generated poly(1,2-diaminobenzene) film, *Biosensors & Bioelectronics* **13**: 67-73.



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN

Jl. Willem Iskandar Psr.V – Kotak Pos No. 1589 – Medan 20221 telp. (061) 6613265, 6613276, 6618754,
Fax. (061) 6614002 – 6613319, Laman : www.Unimed.ac.id

SURAT PERINTAH MULAI KERJA (SPMK)

Nomor : 1021 /UN33.17/SPMK/2012

Tanggal : 12 Maret 2012

Ini hari Senin, tanggal dua belas bulan Maret tahun Dua ribu dua belas, kami yang bertandatangan dibawah ini :

Rinaldi, SE, M.Si : Berdasarkan Surat Keputusan Mendiknas R.I. Nomor : 14184/A.A3/KU/2012, tanggal 27 Pebruari 2012 tentang Pengangkatan Pejabat Pembuat Komitmen Belanja Modal, bertindak untuk dan atas nama Rektor untuk selanjutnya dalam SPMK ini disebut sebagai : **PIHAK PERTAMA.**

Marudut Sinaga, M.Si : Dosen FMIPA Universitas Negeri Medan ,dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Ketua Peneliti. Rekening pada Bank BNI Cabang Medan No. A/C : 0057671756 untuk selanjutnya dalam SPMK ini disebut sebagai : **PIHAK KEDUA.**

Kedua pihak secara bersama-sama telah sepakat mengadakan Perjanjian Kerja dengan ketentuan sebagai

PASAL 1
JENIS PEKERJAAN

PIHAK PERTAMA memberi Tugas kepada PIHAK KEDUA, dan PIHAK KEDUA menerima Tugas tersebut untuk melaksanakan Pekerjaan Penelitian Pengembangan Sensor Kimia Untuk Monitoring Bahan Pengawet Di Dalam Minuman dan Minuman yang menjadi tanggung jawab PIHAK KEDUA.

PASAL 2
DASAR PELAKSANAAN PEKERJAAN

Pekerjaan dilaksanakan oleh PIHAK KEDUA atas dasar ketentuan yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari anggaran yaitu :

1. Sesuai dengan proposal yang diajukan

2. Peraturan Menteri Keuangan No. 17 Tahun 2003, tentang Keuangan Negara.

3. Peraturan Menteri Keuangan No. 1 Tahun 2004, tentang Perbendaharaan Negara

4. Peraturan Menteri Keuangan No. 15 Tahun 2004, tentang Pemeriksaan Pengelolaan dan Tanggungjawab Keuangan Negara

PASAL 3
PENGAWASAN

Pelaksanaan Pengawasan dan Pengendalian Pekerjaan adalah Tim SPI Unimed dan Pejabat Pembuat Komitmen Dana Eks Pembangunan Unimed.

PASAL 4
NILAI PEKERJAAN

PIHAK PERTAMA memberi dana pelaksanaan pekerjaan yang disebut pada pasal 1 tersebut sebesar Rp. 40.000.000,- (Empat puluh juta rupiah) termasuk pajak-pajak yang dibebankan kepada dana DIPA Unimed T.A. Nomor : 0649/023-04.2.01/02/2012, tanggal 09 Desember 2011.



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN

UNIVERSITAS NEGERI MEDAN

Jl. Willem Iskandar Psr.V – Kotak Pos No. 1589 – Medan 20221 telp. (061) 6613265, 6613276, 6618754,
Fax. (061) 6614002 – 6613319, Laman : www.Unimed.ac.id

PASAL 5 CARA PEMBAYARAN

Dana pelaksanaan pekerjaan yang tersebut pada pasal 4 dilaksanakan secara bertahap, sebagai berikut:

Tahap I (Pertama) sebesar 40% X Rp. 40.000.000 = Rp. 16.000.000,- (Enam belas juta rupiah), dibayar setelah penyerahan Proposal dan Penandatanganan Surat Perintah Mulai Kerja (SPMK) oleh kedua belah pihak.

Tahap II (Kedua) sebesar 30%, x Rp. 40.000.000 = Rp. 12.000.000,- (Dua belas juta ribu rupiah), dibayar setelah PIHAK KEDUA menyerahkan Laporan Kemajuan Pekerjaan dengan Bobot minimal 75 %. Dan menyerahkan bukti setor pajak (SSP) yang telah divalidasi Bank.

Tahap III (Ketiga) sebesar 30% x Rp. 40.000.000 = Rp. 12.000.000,- (Dua belas juta rupiah), dibayar setelah PIHAK KEDUA menyerahkan Laporan Hasil Pekerjaan dengan Bobot 100%. Dan menyerahkan bukti setor pajak (SSP) yang telah divalidasi Bank.

PASAL 6 JANGKA WAKTU PELAKSANAAN

Jangka waktu pelaksanaan Pekerjaan sampai 100 % yang disebut pada pasal 1 perjanjian ini ditetapkan selama 234 hari kelender terhitung sejak tanggal 12 Maret s/d 31 Oktober 2012.

Tenggat Waktu Penyelesaian tersebut dalam ayat 1 Pasal ini tidak dapat dirubah oleh PIHAK KEDUA.

PASAL 7 LAPORAN

PIHAK KEDUA harus menyampaikan naskah artikel hasil penelitian ke Lembaga Penelitian (Lemlit) dalam bentuk Hard Copy dan Sofcopy dalam compact disk (CD) untuk diterbitkan pada Jurnal Nasional terakreditasi. Bukti pengiriman disertakan dalam laporan.

Setelah laporan akhir penelitian diselesaikan, PIHAK KEDUA melakukan diseminasi hasil penelitian melalui forum yang dikoordinasikan oleh Pusat Penelitian yang sesuai dan pembiayaannya dibebankan kepada PIHAK KEDUA.

Seminar Penelitian dilakukan di jurusan/program studi dengan mengundang dosen dan mahasiswa sebagai peserta seminar serta diketahui oleh Pusat Penelitian.

Hasil dan laporan pelaksanaan Seminar dimaksud disampaikan ke Lembaga Penelitian Unimed sebanyak 2 (dua) eksemplar.

Rekord seminar terbaik dari setiap jurusan wajib menyeminarkan hasil penelitian di Lembaga Penelitian Unimed.

PIHAK KEDUA menyampaikan Laporan Akhir Pelaksanaan Pekerjaan kepada PIHAK PERTAMA sebanyak 4 (empat) eksemplar yang akan didistribusikan kepada :

1. PIHAK PERTAMA sebanyak 1 (Satu) eksemplar (ASLI)

2. Kantor SPI Unimed sebanyak 1 (Satu) eksemplar.

3. Kantor LEMLIT 2 (Dua) Eksemplar

PIHAK KEDUA wajib menyampaikan Laporan Realisasi Penggunaan Dana Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian kepada PIHAK PERTAMA



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN

UNIVERSITAS NEGERI MEDAN

Jl. Willem Iskandar Psr.V – Kotak Pos No. 1589 – Medan 20221 telp. (061) 6613265, 6613276, 6618754,
Fax. (061) 6614002 – 6613319, Laman : www.Unimed.ac.id

PASAL 8 SANKSI

Jika PIHAK KEDUA tidak dapat menyelesaikan pekerjaan sesuai dengan jangka waktu pelaksanaan yang ditentukan dalam pasal 6 perjanjian ini, maka untuk setiap hari keterlambatan PIHAK KEDUA wajib membayar denda keterlambatan sebesar 1 %/00 perhari dengan maksimum denda sebesar 5 % dari nilai pekerjaan yang tertera pada pasal 4 .

Jika pelaksana Pekerjaan melalaikan kewajibannya baik langsung atau tidak langsung yang merugikan keuangan negara diwajibkan mengganti kerugian dimaksud.

PASAL 9 PENUTUP

Surat Perintah Mulai Kerja (SPMK) ini dibuat rangkap 4 (Empat) dengan ketentuan sebagai berikut :

- Salinan pada : Kantor Dana Eks Pembangunan Unimed.
- Salinan pada : Ketua Peneliti
- Salinan pada : Kantor Pelayanan dan Perbendaharaan Negara (KPPN) Medan.
- Salinan pada : Kantor SPI Unimed.

Surat Perintah Mulai Kerja (SPMK) ini diperbuat untuk diketahui dan dilaksanakan sebagaimana mestinya.

PIHAK KEDUA :
Ketua Peneliti

PIHAK PERTAMA :
Pejabat Pembuat Komitmen
Belanja Modal

Drs. Marudut Sinaga, M.Si
NIP. 1196302161996031001

Yon Rinaldi, SE. M.Si
NIP. 196705111991121001

THE
Character Building
UNIVERSITY