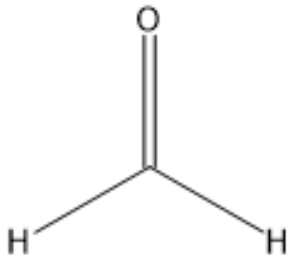
BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Formalin

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor : 722 / MENKES / Per / IX / 88 bahan tambahan yang dilarang digunakan ke dalam makanan salah satunya adalah formalin. Formalin merupakan cairan jernih yang tidak berwarna dengan bau menusuk, uapnya merangsang ke bagian selaput lendir, hidung dan tenggorokan dan rasa membakar. Selain itu menurut Peraturan BPOM No 11 Tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan penggunaan formalin dilarang ada dalam makanan, karena dapat mengakibatkan keracunan pada tubuh manusia, yaitu rasa sakit perut yang akut disertai muntah-muntah, timbulnya depresi susunan syaraf atau kegagalan peredaran darah (Eryani, R. D., 2022).

Formalin memiliki berat molekul sebesar 30,03 dengan rumus molekul CH_2O dengan struktur yang dapat dilihat pada gambar 2.1. Formalin dapat bercampur dengan air dan alkohol, tetapi tidak bercampur dengan kloroform dan eter (Lasaiba & Kotala, 2015)**.** Di dalam formalin mengandung sekitar 37% formaldehid dalam air, biasanya ditambah methanol hingga 15% sebagai pengawet (Eryani, 2022). Formalin memiliki nama lain yaitu formaldehida yang umumnya memiliki sifat kimia yang sama dengan aldehida lainnya. Formaldehida merupakan elektrofil sehingga dapat digunakan dalam reaksi substitusi aromatik elektrofilik dan alkena.



Gambar 2. 1 Struktur Formalin

Formalin dikenal sebagai bahan pembunuh hama (desinfektan) dan banyak digunakan dalam industri. Formaldehida yang lebih dikenal dengan nama formalin ini adalah salah satu zat tambahan makanan yang dilarang. Meskipun sebagian banyak orang sudah mengetahui terutama produsen bahwa zat ini berbahaya jika digunakan sebagai pengawet, namun penggunaannya bukannya menurun namun malah semakin meningkat dengan alasan harganya yang relatif murah dibanding pengawet yang tidak dilarang dan dengan kelebihan. Ketika formalin melebihi ambang batas dan masuk ke dalam tubuh manusia, maka akan menyebabkan gangguan pada organ dan sistem manusia. Efek ini dapat terjadi dalam jangka pendek atau dalam jangka panjang, baik melalui inhalasi, kontak langsung, atau konsumsi. Formalin dapat bereaksi cepat dengan lapisan lendir saluran pencernaan dan saluran pernafasan. tubuh akan cepat teroksidasi membentuk asam format terutama di hati dan sel darah merah. Pemakaian pada makanan dapat mengakibatkan keracunan pada tubuh manusia, yaitu rasa sakit perut yang akut disertai muntah-muntah, timbulnya depresi susunan syaraf atau kegagalan peredaran darah (Eryani, R. D., 2022).

2.2 Daun Jati Muda

Tanaman jati mempunyai nama ilmiah yaitu *Tectona grandis L.f*. Tanaman ini tergolong tanaman yang menggugurkan daunnya pada musim kemarau di bulan November sampai dengan bulan Januari. Setelah gugur, daun akan tumbuh kembali pada bulan Januari atau Maret. Daun jati berbentuk bulat dan melengkung dengan ujung meruncing, yang memiliki panjang 20 sampai 50 cm dan lebar 15 sampai 40 cm, serta mempunyai bulu di permukaannya. Daun jati muda biasanya berwarna hijau kecokelatan, sedangkan daun jati tua berwarna hijau abu-abu tua (Siwi et al., 2022). Daun jati muda telah lama dimanfaatkan secara tradisional oleh sebagian masyarakat Indonesia (khususnya di Pulau Jawa) yaitu sebagai penawar rasa sakit, pewarna kain, berbagai kerajinan tangan, bahkan beberapa masakan lokal seperti gudeg. Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, sampel daun jati muda memiliki klasifikasi ilmiah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyta*

Kelas : *Angiospermae*

Sub-kelas : *Dicotyledoneae*

Ordo : *Verbenales*

Famili : *Verbenaceae*

Genus : *Tectona*

Spesies : *Tektona grandis L.f.*

(Nugroho, 2020)



Gambar 2. 2 Daun jati muda
(Rosyida & Achadi W, 2014)

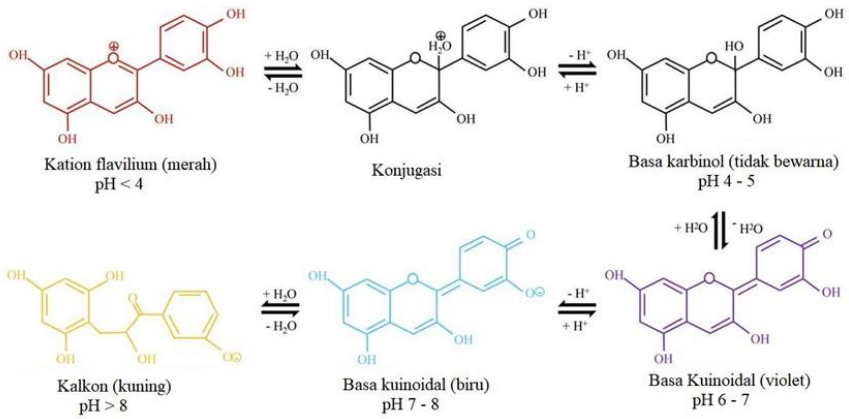
Daun jati muda seperti pada gambar 2.2 terbukti berkhasiat sebagai obat dan berperan sebagai pewarna alami sehingga memberi warna merah. Hal ini dikarenakan daun jati muda mengandung pigmen alami antosianin. Antosianin dari daun jati memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai pewarna alami pada makanan, minuman, dan tekstil. Selain itu, antosianin juga dapat dimanfaatkan dalam industri kosmetik dan farmasi.

2.3 Antosianin

Antosianin merupakan salah satu jenis senyawa organik yang dapat larut dalam pelarut polar dan memberikan warna jingga, merah, ungu, biru, serta hitam pada tumbuhan seperti bunga, buah, biji-bijian, sayuran, dan umbi-umbian (Prasetyo & Winardi, 2020). Bagi tumbuhan, antosianin memiliki banyak fungsi yang berbeda, misalnya sebagai antioksidan,

pelindung untuk melawan sinar UV, sebagai mekanisme pertahanan terhadap serangga, dan penting pada proses penyerbukan dan reproduksi.

Antosianin telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai pewarna alami pada makanan dan berbagai aplikasi lainnya. Antosianin telah digunakan untuk mewarnai makanan sejak zaman dahulu. Warna yang ditimbulkan oleh antosianin tergantung dari tingkat keasaman (pH) lingkungan sekitar, sehingga pigmen ini dapat dijadikan sebagai indikator alami untuk menentukan keasaman atau kebasaan suatu larutan. Perubahan struktur antosianin pada berbagai ph dapat dilihat dari gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Perubahan struktur antosianin pada berbagai Ph

(Ifadah et al., 2022)

Antosianin terdapat dalam lima bentuk kesetimbangan dalam larutan, yang sangat dipengaruhi oleh kondisi pH. Kelima bentuk tersebut yaitu kation flavilium, basa karbinol, kalkon, basa quinonoidal, dan quinonoidal anionik. Senyawa paling umum adalah ion flavilium, yang merupakan bentuk paling berwarna dan paling stabil pada pH < 4 (Warsita et al., 2024). Berdasarkan Surianti (2019) melaporkan bahwa pigmen warna antosianin yang terkandung dalam daun jati muda stabil berwarna merah pada pH 3. Kadar antosianin dalam daun jati muda dapat bervariasi tergantung pada beberapa faktor, seperti kondisi tumbuh, varietas tanaman, dan musim. Namun, secara umum, antosianin pada daun jati muda memang terkandung dalam jumlah yang cukup tinggi dibandingkan dengan daun

yang lebih tua. Pada penelitian yang telah dilakukan (Greeshma Murukan and Murugan. K., 2018) yaitu mengukur kadar antosianin pada berbagai bagian tanaman jati dan menemukan bahwa daun jati muda memiliki kandungan antosianin tertinggi, yaitu 6,4 mg/g. Kadar ini bisa berbeda tergantung pada teknik ekstraksi yang digunakan dan pelarut yang dipilih.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan zat dalam campuran menggunakan pelarut yang sesuai dengan karakteristik senyawa yang diinginkan (Anam et al., 2014). Ekstraksi biasa digunakan untuk memisahkan dua zat berdasarkan perbedaan kelarutan, pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak senyawa yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ada beberapa jenis metode ekstraksi, salah satunya yaitu metode maserasi, metode ini merupakan metode yang paling cocok digunakan dalam pembuatan tes kit bahan alam.

Maserasi adalah metode ekstraksi yang sederhana, di mana serbuk simplisia direndam dalam pelarut yang sesuai pada suhu kamar selama beberapa hari (Agustina et al., 2018) . Proses ini tidak memerlukan peralatan yang rumit, sehingga mudah untuk diterapkan dalam skala kecil atau laboratorium sederhana. Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat dari simplisia yang tidak tahan dengan pemanasan. Metode ini tidak melibatkan pemanasan, sehingga sangat efektif untuk mengekstrak senyawa yang sensitif terhadap panas.

Dalam pembuatan test kit, seperti yang dilakukan dengan menggunakan ekstrak antosianin dari daun jati, stabilitas senyawa aktif sangat penting untuk memastikan hasil pengujian yang akurat. Proses ekstraksi antosianin dapat dilakukan menggunakan berbagai pelarut, seperti aquades, metanol, dan etanol (Achmad & Sugiarto, 2020). Namun, penggunaan pelarut metanol sangat berbahaya dan dapat mengakibatkan efek toksik dalam sistem pangan, maka digunakan pelarut aquades atau etanol.

2.5 Validasi Metode

Validasi metode adalah proses yang bertujuan untuk memastikan bahwa sebuah metode analisis atau eksperimental dapat memberikan hasil yang akurat, reliabel, dan reproducible. Menurut SNI ISO 17025 Laboratorium pengujian harus melakukan validasi metode uji jika menggunakan metode yang tidak baku, metode yang didesain atau dikembangkan oleh laboratorium, metode baku yang digunakan di luar ruang lingkup yang dimaksudkan, metode baku yang dimodifikasi, serta metode baku untuk menegaskan dan mengkonfirmasi bahwa metode tersebut telah sesuai untuk penggunaan yang dimaksudkan.

Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode antara lain ketepatan (akurasi), ketelitian (presisi), selektivitas (spesifitas), linearitas, batas deteksi (LOD), batas kuantisasi (LOQ), ketangguhan dan rentang (Sahriawati et al., 2020). Proses ini bukan suatu proses tunggal, namun merupakan salah satu bagian dari prosedur analisis yang tidak dapat dipisahkan.

Validasi metode untuk pengujian secara kualitatif dan kuantitatif berbeda. Pada pengujian secara kualitatif parameter metode validasi yang harus dipenuhi yaitu selektivitas. Selektivitas merupakan salah satu parameter utama dalam validasi metode analisis kualitatif karena memastikan bahwa metode yang digunakan memiliki kemampuan untuk secara teliti dan akurat mengukur hanya satu jenis zat tertentu, meskipun terdapat berbagai komponen lain dalam matriks sampel (Pratiwi et al., 2019). Matriks merupakan cemaran, pengotor atau pengganggu, baik sengaja atau tidak sengaja berada dalam suatu komponen (Shita, 2016).

Uji selektivitas dapat dilakukan secara pengamatan visual yaitu dilihat perubahan warna yang terjadi dan dapat dikonfirmasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan melihat perbedaan panjang gelombang antara kontrol negatif dan kontrol positif. Dalam spektrofotometri UV-Vis, panjang gelombang maksimum mencerminkan posisi serapan tertinggi cahaya oleh suatu senyawa, yang sangat bergantung pada struktur elektronik

dan sistem konjugasi senyawa tersebut. Interaksi antosianin dengan formalin diduga menyebabkan perubahan struktur kimia, seperti pembentukan ikatan baru atau perubahan distribusi elektron, sehingga menimbulkan pergeseran λ maks. Pergeseran ini dapat berupa *bathochromic shift*, yaitu geseran atau perubahan λmaks ke arah yang lebih besar. Penyebab terjadinya peristiwa ini adalah adanya perubahan struktur molekul, misalnya adanya auksokrom atau adanya pergantian pelarut. Atau juga bisa terjadi pergeseran *hypsochromic shift,* yaitu geseran atau perubahan λmaks ke arah yang lebih kecil, tergantung sifat reaksi yang terjadi (Trisna, A. P. 2018).

2.6 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis yang menggunakan panjang gelombang UV (200-400 nm) dan sinar tampak (400-800 nm) sebagai rentang serapan untuk mendeteksi suatu senyawa. Pada umumnya alat yang digunakan adalah spektrofotometer. Jenis senyawa yang dapat diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis adalah senyawa yang mempunyai gugus kromofor dan auksokrom (Sahumena et al., 2020). Kromofor adalah molekul atau bagian dari molekul yang kuat menyerap cahaya dalam rentang UV-Vis, seperti heksana, aseton, asetilena, benzena, karbonil, dan karbon dioksida. Sedangkan auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung satu pasang elektron bebas yang terikat secara kovalen yang melekat pada kromofor, sehingga meningkatkan penyerapan sinar UV-tampak pada kromofor (misalnya gugus hidroksi, amina, halida, alkoksi, dll.) (Suhartati, 2017).

Prinsip spektrofotometri UV-Vis adalah mengukur jumlah cahaya yang diserap atau ditransmisikan oleh molekul dalam suatu larutan (Susanti, 2010). Ketika cahaya dengan panjang gelombang tertentu melewati suatu larutan, maka sebagian energi cahaya akan diserap, sebagian dipantulkan dan sebagian akan diteruskan. Interaksi antara senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak, dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul senyawa organik. Bagian molekul yang paling cepat

bereaksi dengan sinar tersebut adalah elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron non ikatan (elektron bebas). Sinar ultraviolet dan sinar tampak merupakan energi, yang apabila mengenai elektron-elektron tersebut maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat yang lebih tinggi, eksitasi elektron-elektron ini direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai dengan jenis elektron-elektron yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Semakin mudah elektron-elektron bereksitasi maka semakin besar panjang gelombang yang diabsorpsi, semakin banyak elektron yang bereksitasi maka semakin tinggi absorben yang dihasilkan.

Penentuan kualitatif dari hasil analisis spektrofotometri UV-Vis yaitu berdasarkan puncak yang dihasilkan oleh spektrum unsur tertentu pada panjang gelombang tertentu. Sedangkan Pengukuran kuantitatif dari hasil analisis spektrofotometri UV-Vis yaitu sebaliknya, didasarkan pada nilai serapan yang ditentukan dari spektrum dengan adanya senyawa pembentuk kompleks yang sesuai dengan unsur yang dianalisis (Yanlinastuti et al., 2016).

Adapun yang hukum yang melandasi pengukuran spektrofotometer ini dalam penggunaannya adalah hukum Lambert-Beer, yaitu bila suatu senyawa monokromatis dilewatkan melalui suatu media yang transparan, maka intensitas cahaya yang ditransmisikan sebanding dengan tebal dan kepekaan media larutan yang digunakan, berdasarkan persamaan berikut (Fatimah & Yanlinastuti, 016).

A = log I/Io atau **A = a.b.c (I)**

Dimana:

A = absorbansi

a = koefisien serapan molar

b = tebal media cuplikan yang dilewati sinar (kuvet)

c = konsentrasi unsur dalam larutan cuplikan

Io = intensitas sinar mula-mula

I = intensitas sinar yang diteruskan