

**ANALISIS KORELASI FORMALIN DAN PROTEIN
PADA UDANG KELONG (*Penaeus indicus*)
DAN UDANG PUTIH (*Litopenaeus vannamei*)**

Alnilla Hartin¹, Sofia Anita², Tengku Abu Hanifah²,

¹Mahasiswa Program Studi S1 Kimia

²Bidang Kimia Analitik Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau

Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia

alnilla.jhartin@student.unri.ac.id

ABSTRACT

Shrimp is very easy to rot and has high protein. Formaline is commonly used to preservative food including sea food such as shrimp. As protein is splashed or bathed by formaline, the aldehyde from formaldehyde will bond the protein. The purpose of this study is to find out the correlation between formaline and protein in kelong shrimp (*Penaeus indicus*) and white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) at sell in some Pekanbaru wet market. Qualitative analysis of formaldehyde was done using calium permanganate and chromotrophic acid and quantitative analysis was done using High Performance Liquid Chromatography method which derived using 2,4-dinitrophenylhydrazine, meanwhile protein analysis was done using Kjeldahl method. The formaldehyde content from samples was in range of 10 to 30 mg/Kg for kelong shrimp and 7 to 10 mg/Kg for white shrimp. The protein content for kelong shrimp was in range of 5 to 9 % and 7 to 10 % for white shrimp. Study showed that there are no correlation between formaline and protein in both samples, kelong shrimp and white shrimp.

Keywords : formaline, High Performance Liquid Chromatography, shrimp.

ABSTRAK

Udang merupakan bahan pangan yang mudah membusuk dan memiliki kadar protein yang tinggi. Formalin sering digunakan untuk mengawetkan makanan, termasuk makanan laut seperti udang. Ketika makanan berprotein disiram atau direndam larutan formalin, maka gugus aldehida dari formalin akan mengikat unsur protein. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi formalin terhadap kadar protein pada udang kelong (*Penaeus indicus*) dan udang putih (*Litopenaeus vannamei*) yang dijual di beberapa pasar Tradisional Kota Pekanbaru. Analisis kualitatif formalin menggunakan pereaksi kalium permanganat dan asam kromatofat dan analisis kuantitatif menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* yang diderivatisasi menggunakan 2,4-dinitrofenilhidrazin, sedangkan analisis protein menggunakan metode Kjeldahl. Kandungan formalin berada dikisaran 10 – 30 mg/Kg untuk udang kelong dan 7 – 10 mg/Kg untuk udang putih. Kadar protein untuk udang kelong berada dikisaran 5 – 9 % dan 7 - 10 % untuk udang putih. Hasil penelitian

menunjukkan bahwa tidak terlihatnya korelasi antara formalin dan protein pada sampel udang kelong dan udang putih.

Kata kunci : formalin, *High Performance Liquid Chromatography*, udang.

PENDAHULUAN

Udang merupakan salah satu hasil perikanan yang memiliki prospek ekonomis yang tinggi karena digemari banyak orang. Di dalam udang terdapat vitamin A, vitamin B 1, zat kapur maupun fosfor (Sulistiyono, 2005). Darmono (1991) dalam Maharani *et al.*, (2009) menambahkan bahwa udang merupakan salah satu bahan makanan sumber protein hewani bermutu tinggi yang sangat digemari oleh konsumen dalam negeri maupun luar negeri karena memiliki rasa yang sangat gurih dan kadar kolesterolnya yang lebih rendah dari pada hewan mamalia. Kandungan protein pada udang yaitu sekitar 21%.

Udang termasuk jenis bahan pangan yang mudah rusak dan membusuk. Letak geografis kota Pekanbaru yang berada jauh dari laut akan membutuhkan waktu berhari-hari agar udang sampai di Pekanbaru. Hal tersebut menyebabkan nelayan dan pedagang menggunakan zat kimia berbahaya seperti formalin. Formalin jauh lebih murah dibanding pengawet lainnya dan juga mudah digunakan (Yuliarti, 2007).

Formaldehid mempunyai kemampuan untuk mengawetkan makanan karena gugus aldehida yang bersifat mudah bereaksi dengan protein membentuk senyawa *methylene* (-NCHOH). Dengan demikian, ketika makanan berprotein disiram atau direndam larutan formalin, maka gugus aldehida dari formaldehid akan mengikat unsur protein. Protein yang terikat tersebut tidak dapat digunakan oleh

bakteri pembusuk, sehingga makanan berformalin menjadi awet. Dengan adanya reaksi antara formaldehid dan protein melalui gugus amin dari protein, maka senyawa peptida akan semakin menurun.

Menurut IPCS (*International Programme on Chemical Safety*) Tahun 2006, lembaga khusus dari tiga organisasi PBB yaitu ILO, UNEP dan WHO yang peduli pada keselamatan penggunaan bahan-bahan kimia, menetapkan bahwa batas toleransi yang dapat diterima dalam tubuh maksimum 10 - 20 mg/Kg (Singgih, 2013).

Pada penelitian ini, pengujian awal untuk mengetahui adanya formalin pada udang kelong dan udang putih dilakukan dengan menggunakan asam komatofat dan larutan kalium permanganat. Pengujian selanjutnya untuk menghitung kandungan formalin pada udang digunakan metode HPLC dan untuk mengetahui kadar protein pada udang digunakan metode Kjeldahl. Sampel udang kelong diperoleh dari Pasar Bawah dan Pasar Pagi Arengka, sedangkan sampel udang putih diambil dari Pasar Bawah dan Pasar Pusat. Sampel diambil dari tiga pedagang berbeda yang dipilih secara acak.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (*Mettler* tipe AE 200), *hot plate* (*PMC 502 series*), HPLC (*Shimadzu LC solution*) detektor UV-Vis, kolom C-18,

alat destilasi, labu Kjeldahl, buret, Erlenmeyer, tabung reaksi, aluminium foil dan kertas saring.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang kelong dan udang putih, *aquadest*, larutan formaldehid (H_2CO) (E-merck), larutan asam kromatofat (E-merck), larutan asam fosfat (H_3PO_4) (E-merck), *methanol*, larutan dinitrofenilhidrazin (DNPH), larutan asam sulfat (H_2SO_4) pekat, larutan asam sulfat (H_2SO_4) 72%, larutan asam sulfat (H_2SO_4) 0,05 N, indikator bromokesol hijau, indikator metil merah, etanol 95%, larutan asam borat (H_3BO_3) 1%, natrium hidroksida (NaOH) 40%, tembaga sulfat ($CuSO_4$), kalium sulfat (K_2SO_4), kalium permanganat ($KMnO_4$), selenium dan diklorometan.

a. Preparasi sampel untuk analisis formalin (Suryadi, 2010)

Sampel udang kelong yang telah diberi kode dibersihkan dan dibuang kepalanya. Sampel dipotong dan dihaluskan menggunakan lumpang. Sampel ditimbang sebanyak ± 5 g dan ditambahkan 50 mL aqua demineralisasi (DM) kemudian dipanaskan pada suhu $96^\circ C$ selama 30 menit. Sampel disaring menggunakan kertas saring dan filtrat yang diperoleh akan digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Perlakuan yang sama dilakukan untuk sampel udang putih.

c. Analisis menggunakan asam kromatofat (SNI 01-2894-1992)

Filtrat sampel diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian asam kromatofat ditambahkan sebanyak 5 mL lalu dihomogenkan. Larutan yang telah

homogen dipanaskan menggunakan penangas air dengan suhu $100^\circ C$ selama 15 menit. Sampel yang mengandung formalin akan ditunjukkan dengan berubahnya warna larutan dari bening menjadi merah muda hingga ungu. Semakin ungu berarti kadar formalin semakin tinggi.

d. Analisis menggunakan larutan $KMnO_4$

Larutan $KMnO_4$ sebanyak 1 tetes dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diencerkan dengan 2 mL akuades. Kemudian filtrat sampel ditambahkan sebanyak 1 mL dan dilihat perubahan warna larutan yang terjadi. Sampel yang mengandung formalin ditunjukkan dengan berubahnya warna larutan $KMnO_4$ dari ungu pekat menjadi merah muda hingga bening.

e. Analisis kandungan formalin menggunakan HPLC (Li, 2007)

1. Derivatisasi formalin

Masing-masing filtrat sampel diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ke dalam tabung reaksi ditambahkan 0,5 mL larutan DNPH 0,1% dan 1 mL diklorometan lalu diaduk. Setelah terbentuk dua lapisan, fase diklorometan diambil dan fase airnya dihilangkan. Diklorometan diuapkan dan sisa penguapan dilarutkan dengan 1 mL metanol. Larutan kemudian disaring menggunakan filter membran $0,45 \mu m$ sebelum diinjeksikan.

2. Analisis HPLC

Analisis HPLC menggunakan instrumen seperangkat alat HPLC

dengan fase gerak metanol:air (60:40 v/v), laju alir 1,0 mL/menit, volume injeksi sebesar 20 μ L detektor UV-Vis pada panjang gelombang 355 nm menggunakan kolom C-18 dengan panjang 250 mm dan diameter 4,60 mm. Waktu analisis selama 15 menit.

f. Analisis protein (SNI 01-2891-1992)

Sampel yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 0,5 g dan dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl. Kemudian ditambahkan 0,5 g campuran selen dan 5 mL asam sulfat pekat. Semua bahan dalam labu Kjeldahl dipanaskan di dalam lemari asam selama \pm 40 menit hingga warna bahan menjadi hijau jernih. Sampel didiamkan hingga dingin dan ditambahkan akuades secara perlahan hingga volume total 50 mL. Larutan sampel dibasakan menggunakan larutan NaOH 40% dan dilakukan destilasi. Destilat ditampung menggunakan Erlenmeyer yang telah berisi 5 mL asam borat 1% yang telah dicampur dengan indikator campuran. Destilasi dilakukan hingga didapatkan destilat sebanyak 50 mL. Destilat yang diperoleh dititrasikan menggunakan H_2SO_4 0,05 N hingga dicapainya titik akhir titrasi yang ditandai dengan terbentuknya warna merah muda pudar.

g. Analisis Data

Analisis data dari hasil penentuan kandungan formalin dan kadar protein pada udang kelong (*Penaeus indicus*) dan udang putih (*Litopenaeus vannamei*) menggunakan HPLC dan Kjeldahl ditampilkan dalam bentuk tabel, grafik, diagram dan kurva kalibrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Hasil Penelitian

1. Hasil uji kualitatif formalin

Hasil pengujian formalin pada 12 sampel udang kelong dan udang putih yang dijual di pasar tradisional Kota Pekanbaru secara kualitatif teridentifikasi positif mengandung formalin pada kedua metode permanganometri dan asam kromatofat. Berubahnya warna ungu larutan $KMnO_4$ menjadi warna coklat saat ditambahkan filtrat sampel udang menunjukkan adanya kandungan formalin dalam sampel. Metode asam kromatofat menunjukkan hasil yang sama, dimana terjadi perubahan warna coklat asam kromatofat menjadi warna ungu yang menandakan adanya formalin pada sampel

2. Hasil uji kuantitatif formalin

Sampel yang dinyatakan positif pada pengujian kualitatif dilanjutkan dengan pengujian kuantitatif dengan menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Kandungan formalin yang terdapat dalam sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan tabel, kandungan formalin tertinggi pada udang putih terdapat pada sampel UPB 1 dengan nilai 9,7617 mg/Kg. Pada udang kelong, kandungan formalin tertinggi terdapat pada sampel UKPa 1 yaitu sebesar 30,0401 mg/Kg.

Tabel 1. Kandungan formalin pada udang putih dan udang kelong

Sampel	Kandungan (mg/Kg)
UPB 1	9,7617
UPB 2	9,4739
UPB 3	9,3184
UPP 1	7,1261
UPP 2	7,0824
UPP 3	7,5898
UKB 1	12,2362
UKB 2	13,9001
UKB 3	10,2162
UKPa 1	30,0401
UKPa 2	14,5119
UKPa 3	18,9289

Keterangan :

- UKB : Udang Kelong Pasar Bawah,
- UKPa : Udang Kelong Pasar Pagi Arengka
- UPP : Udang Putih Pasar Pusat
- UPB : Udang Putih Pasar Bawah

3. Analisis kadar protein

Hasil analisis kadar protein pada udang putih dan udang kelong menggunakan metode Kjeldahl dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis kadar protein pada udang putih dan udang kelong

Sampel	Kadar (%)
UPB 1	8,66
UPB 2	7,81
UPB 3	10,27
UPP 1	8,67
UPP 2	7,25
UPP 3	9,82
UKB 1	5,41
UKB 2	5,85
UKB 3	6,65
UKPa 1	8,56
UKPa 2	8,71
UKPa 3	9,39

Pada Tabel 2 didapatkan bahwa kadar protein pada udang putih berada disekitar 6 - 11%. Kadar protein tertinggi terdapat pada sampel UPB 3 yaitu sebesar 10,27% dan kadar protein terendah terdapat pada sampel UPP 2 yaitu sebesar 7,25%. Kadar protein dalam udang kelong berada disekitar 5 - 10%. Kadar protein tertinggi terdapat pada sampel UKPa 3 yaitu 9,39% sedangkan kadar protein terendah terdapat pada sampel UKB 1 yaitu 5,41%.

h. Pembahasan

1. Analisis formalin

Hal yang perlu diperhatikan dalam analisis kuantitatif dengan metode HPLC adalah pembuatan kurva standar formalin karena dari kurva standar tersebut akan didapatkan persamaan linier antara konsentrasi dan luas area formalin. Persamaan linier tersebut dapat digunakan sebagai penentu konsentrasi formalin dari luas area yang diperoleh. Hasil pengujian empat larutan standar formalin dengan konsentrasi bertingkat yaitu 0 ppm, 20 ppm, 60 ppm, dan 180 ppm menunjukkan persamaan grafik linier sebagai berikut $y = 70281x$.

Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa tidak ada perbedaan konsentrasi formalin antara sampel udang putih yang dijual di dalam satu pasar, baik untuk udang putih yang dijual di Pasar Bawah (UPB) maupun udang putih yang dijual di Pasar Pusat (UPP). Tidak adanya perbedaan ini disebabkan karena hanya terdapat satu distributor pada masing-masing pasar, dan udang juga berasal dari satu daerah. Survey pendahuluan yang telah dilakukan peneliti didapatkan bahwa udang putih Pasar Bawah berasal dari Medan dan udang putih Pasar Pusat

berasal dari Bagan Siapi-Api. Jauhnya jarak tempuh dari daerah asal ke tempat penjualan menyebabkan udang cepat membusuk sebelum didistribusikan, sehingga para nelayan berfikir untuk mencegah terjadinya pembusukan tersebut dengan menggunakan formalin yang lebih ekonomis dibandingkan dengan es batu untuk pengawetannya.

Perbedaan konsentrasi formalin yang terkandung pada udang kelong dan udang putih disebabkan karena minat pembeli terhadap udang kelong tidak begitu banyak apabila dibandingkan dengan udang putih. Udang kelong memiliki harga jual yang lebih mahal dan dibutuhkan waktu yang lebih lama agar udang habis terjual. Oleh karena itu, para pedagang akan menggunakan lebih banyak formalin agar udang kelong tetap awet dan tahan lebih lama sehingga para pedagang tidak mengalami kerugian yang lebih banyak. Survey pendahuluan yang dilakukan peneliti terhadap para pedagang didapatkan bahwa rata-rata harga jual untuk udang kelong adalah Rp. 100.000,-/Kg dan untuk udang putih adalah Rp 40.000,-/Kg.

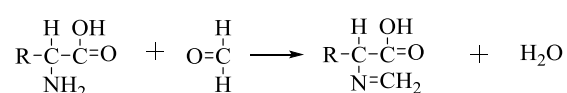
Menurut International Programme on Chemical Safety (IPCS) pada Tahun 2002, lembaga khusus dari tiga organisasi di PBB, yaitu ILO, UNEP, serta WHO menyatakan bahwa penggunaan formalin dalam makanan laut sebesar 10 - 20 mg/Kg tidak dapat dipertimbangkan sebagai sumber makanan. Berdasarkan hal tersebut, kandungan formalin yang diperoleh dari semua udang kelong yang dianalisis melebihi ambang batas yang diperbolehkan dengan kandungan tertinggi sebesar 30,0401 mg/Kg yaitu pada sampel UKPa 1. Sedangkan semua udang putih yang dianalisis tidak ada yang melebihi ambang batas aman

konsumsi formalin sebagai sumber makanan.

2. Analisis protein

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan, kadar protein udang putih rata-rata sebesar 7 – 10%. Sedangkan untuk kadar protein udang kelong rata-rata sebesar 5 – 9%. Kadar protein pada sampel udang putih dan udang kelong dapat dilihat pada Tabel 2.

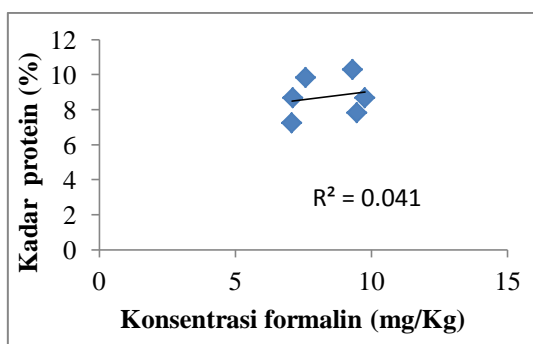
Menurut Djaeni (2008), kadar protein pada udang segar rata-rata adalah 21%. Sementara itu, kadar protein rata-rata udang dalam penelitian adalah 5 - 10%, jauh lebih kecil dibandingkan dari teori yang ada. Hal ini disebabkan karena formalin masuk ke dalam sel-sel udang dan mengikat unsur protein. Formalin mampu memodifikasi atau mendenaturasi protein dan asam nukleat melalui proses alkilasi antara gugus $-NH_2$ dan $-OH$ dari protein dan asam nukleat dengan gugus hidroksimetil dari formaldehid membentuk senyawa metilen ($-NCHOH$) sehingga kadar protein yang ada di dalam udang kelong dan udang putih akan berkurang. Semakin banyak formalin yang digunakan, maka semakin banyak juga protein yang terikat. Reaksi asam amino dengan formaldehid dapat dilihat pada Gambar 1 (Wikanta, 2011).



Gambar 1. Reaksi asam amino dengan formaldehid

Namun, pada penelitian ini tidak terlihat adanya korelasi kandungan formalin dan kadar protein di dalam sampel udang kelong dan udang putih. Ini dibuktikan dengan nilai koefisien

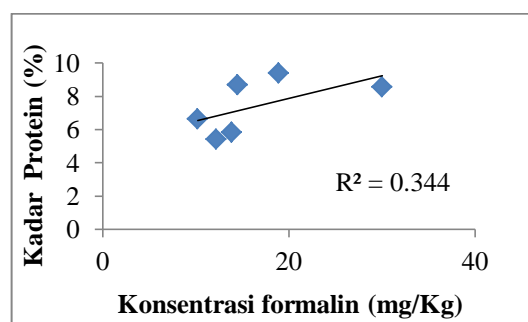
determinasi (R^2) yang jauh lebih kecil dari 1 dan dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3. Faktor yang menyebabkan tidak terlihatnya korelasi antara konsentrasi formalin dengan kadar protein yang ada di dalam sampel udang kelong dan udang putih adalah penentuan kadar protein yang digunakan adalah metode Kjeldahl yang mengakibatkan protein diukur berdasarkan jumlah nitrogen total yang ada di dalam sampel, sehingga ada kemungkinan molekul-molekul lain yang bukan protein tetapi mengandung nitrogen ikut terukur sebagai nitrogen total. Semakin banyak jumlah nitrogen yang terukur, maka semakin besar kadar protein yang terkandung dalam sampel tersebut (Hermiastuti, 2013). Faktor lainnya disebabkan karena proses penimbangan sampel dilakukan dalam keadaan basah dengan kadar air yang dimiliki berbeda tiap sampelnya, sehingga masing-masing sampel akan memiliki kadar protein yang berbeda pula. Semakin tinggi kadar protein maka semakin rendah kadar airnya (Buckle *et al.*, 1987).



Gambar 2. Hubungan konsentrasi formalin dan protein pada udang putih

Penelitian yang dilakukan oleh Sanger dan Montolalu (2008) menunjukkan bahwa perendaman cakalang selama 1 jam dalam formalin

telah mampu membuat formalin berikatan dengan protein pada daging ikan cakalang. Sotelo *et al.* (1995) menambahkan bahwa jembatan metilen yang membentuk ikatan silang (*crosslinks*) intra- dan intermolekuler akan menyebabkan polimerisasi dan penurunan kelarutan protein dan modifikasi sifat-sifat lain



Gambar 3. Hubungan konsentrasi formalin dan protein pada udang kelong

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa konsentrasi formalin yang terdapat pada udang putih untuk keenam sampel yang dianalisis berada dikisaran 7 - 10 mg/Kg dan konsentrasi formalin yang terdapat pada enam udang kelong yang dianalisis berada dikisaran 10 - 30 mg/Kg. Menurut standar *International Program on Chemical Safety* Tahun 2002, semua sampel udang kelong yang dianalisis melebihi ambang batas 10 - 20 mg/Kg, sedangkan semua sampel udang putih yang dianalisis tidak ada yang melebihi ambang batas. 3. Kadar protein yang terdapat pada udang putih untuk keenam sampel yang dianalisis berkisar antara 7 - 10% dan kadar protein yang terdapat pada udang kelong untuk keenam sampel berkisar antara 5 - 9%. Korelasi yang diperoleh antara kandungan formalin dan kadar protein

yang ada di dalam udang putih dan udang kelong adalah tidak linier.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ucapkan terima kasih disampaikan kepada pihak yang telah membantu terselesaikannya penelitian ini yaitu: Ibu Sofia Anita selaku pembimbing I dan Bapak T. Abu Hanifah selaku pembimbing II.

DAFTAR PUSTAKA

- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., and Wotton, M. 1987. Ilmu Pangan. Penerjemah Hari Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Djaeni, A. 2008. Ilmu Gizi untuk Mahasiswa dan Profesi. Jilid 1. Dian Rakyat, Jakarta.
- Hermiastuti, M. Analisis Kadar Protein dan Identifikasiasam Amino Pada Ikan Patin (*Pangasius djambal*). *Skripsi*. Universitas Jember, Jawa Timur.
- Li, J. 2007. Determination of Formaldehyde in Squid by High Performance Liquid Chromatography. *Jurnal Asia Pasific Nutrition*. 16: 127 - 130.
- Maharani, G., Sunarti., Triastuti., J. Juniastuti dan Tutik. 2009. Kerusakan dan Jumlah Hemosit Udang Windu (*Penaeus monodon Fab.*) yang Mengalami Zoothamniosis. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 1 (1): 21-29.
- Sanger, G. dan L. Montolalu. 2008. Metode Pengurangan Formalin pada Ikan Cakalang (Katsuwonus pelamis L). *Warta WIPTEK*. 32: 6-10
- Singgih, H. 2013. Uji Kandungan Formalin pada Ikan Asin Menggunakan Sensor Warna dengan Bantuan FMR (Formalin Main Reagent). *Jurnal ELTEK*. 1: 55-70.
- Sotelo, C.G., P.A. Santiago, I. Ricardo, dan M.G. Jose. 1994. Protein Denaturation in Frozen Stored Hake Muscle: The Role of Formaldehyde. *J. Food Chem*. 50: 267-275.
- Sulistiyono, E. 2005. Variasi Genetik Populasi Udang Putih (*Penaeus merguensis de Man*) di Juwana dan Banyuwangi Berdasarkan Data Elektroforesis Enzim. *Bioteknologi*. 1: 1-8.
- Suryadi, H., Maryati, K., dan Yuanki, M. 2010. Analisis Formalin dalam Sampel Ikan dan Udang Segar dari Pasar Muara Angke. *Jurnal Majalah Ilmu Kefarmasian*. VII (3).
- Wikanta. 2011. Perubahan Nilai Gizi Protein Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) Terkontaminasi Formalin. *Proceedings Seminar Nasional Kimia Unesa 19 Pebruari 2011*. ISBN: 978-979-028-378-7. Surabaya: B392-B396.
- Yuliarti, N. 2007. *Awas! Bahaya Di Balik Lezatnya Makanan*. Andi, Yogyakarta.