

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Pengumpulan Sampel Tahu Putih

Penelitian ini menggunakan sampel tahu putih mentah yang diperoleh dari dua pasar tradisional, yaitu Pasar Gedhe Klaten dan Pasar Srago, yang berada di wilayah Kecamatan Klaten Tengah, Kabupaten Klaten, Jawa Tengah, dapat dilihat pada **Gambar 2** dan **Lampiran 3**. Dari Pasar Gedhe Klaten, sampel diperoleh dari tujuh pedagang tahu, masing-masing diberi kode (G1, G2, G3, G4, G5, G6, dan G7). Pengambilan sampel di Pasar Srago diperoleh dari tiga pedagang tahu yang diberi kode (S1, S2, dan S3). Sampel-sampel tersebut selanjutnya diidentifikasi secara kualitatif dan kuantitatif untuk mengetahui kandungan formalin pada sampel.

2. Uji Organoleptis Sampel Tahu Putih

Pengujian organoleptis mencakup tiga aspek utama, yakni aroma, tekstur, dan tampilan visual dari sampel tahu. Seluruh sampel diamati berdasarkan ketiga parameter tersebut selama tiga hari berturut-turut pada suhu ruang dan dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif. Pada hari pertama mulai tampak lendir pada permukaan tahu, serta perubahan aroma dari aroma khas kedelai menjadi aroma asam fermentasi. Pada hari kedua, mengalami perubahan warna dari putih menjadi kekuningan dan ditumbuhi jamur. Pada hari ketiga, seluruh sampel menunjukkan penguatan aroma fermentasi, perubahan warna kuning yang semakin jelas, serta pertumbuhan jamur di permukaan tahu. Hasil uji organoleptis dapat dilihat pada **Tabel 5** dan **Lampiran 5**.

Tabel 5. Hasil Uji Organoleptis Sampel Tahu Putih

Sampel	Hari	Aroma	Tekstur	Tampilan Visual	Keterangan
Kontrol (+)	1	Kimia	Tidak berlendir	Warna putih Tidak berjamur	Positif
	2	Kimia	Tidak berlendir	Warna putih Tidak berjamur	
	3	Kimia	Tidak berlendir	Warna putih Tidak berjamur	
Kontrol (-)	1	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Tidak berjamur	Negatif
	2	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Berjamur	
	3	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kekuningan Berjamur	
G1	1	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Tidak berjamur	Negatif
	2	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kekuningan Berjamur	
	3	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	
G2	1	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Tidak berjamur	Negatif
	2	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kekuningan Berjamur	
	3	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	
G3	1	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Tidak berjamur	Negatif
	2	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kekuningan Berjamur	
	3	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	
G4	1	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Tidak berjamur	Negatif
	2	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kekuningan Berjamur	
	3	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	
G5	1	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Tidak berjamur	Negatif
	2	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Berjamur	
	3	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	
G6	1	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Tidak berjamur	Negatif
	2	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kekuningan Berjamur	

Tabel 5. Hasil Uji Organoleptis Sampel Tahu Putih

Sampel	Hari	Aroma	Tekstur	Tampilan Visual	Keterangan
G7	3	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	Negatif
	1	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Tidak berjamur	
	2	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kekuningan Berjamur	
	3	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	
S1	1	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Tidak berjamur	Negatif
	2	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	
	3	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	
S2	1	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Tidak berjamur	Negatif
	2	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	
	3	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	
S3	1	Asam fermentasi	Berlendir	Warna putih Tidak berjamur	Negatif
	2	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	
	3	Asam fermentasi	Berlendir	Warna kuning Berjamur	

3. Uji Keseragaman Bobot Sampel Tahu Putih

Pengujian keseragaman bobot dilakukan dengan menghitung rata-rata bobot tahu, standar deviasi (SD), dan koefisien variasi (CV). Setiap sampel ditimbang ± 4 gram sebanyak tiga kali replikasi. Dari 10 sampel tahu putih yang diuji, diperoleh nilai rata-rata keseragaman bobot \pm CV sebagaimana terlampir pada **Tabel 6** dan **Lampiran 6**.

Tabel 6. Uji Keseragaman Bobot pada Sampel Tahu Putih

Sampel	Rata-Rata \pm CV (g)	Sampel	Rata-Rata \pm CV (g)
G1	4,015 \pm 0,431	G6	4,043 \pm 0,739
G2	4,020 \pm 0,203	G7	4,020 \pm 0,454
G3	4,023 \pm 0,471	S1	4,028 \pm 0,621
G4	4,023 \pm 0,373	S2	4,005 \pm 0,144
G5	4,013 \pm 0,314	S3	4,020 \pm 0,837

4. Uji Kualitatif Sampel Tahu Putih

1) Uji Tabung dengan Reagen

Identifikasi kualitatif terhadap sampel tahu putih dilakukan menggunakan empat jenis reagen yang dapat mendeteksi gugus aldehid, yaitu reagen KMnO_4 , Fehling A & B, Schiff, serta asam kromatofat. Hasil identifikasi menunjukkan seluruh sampel negatif dengan tidak adanya perubahan warna yang dibandingkan dengan kontrol positif. Hasil uji kualitatif dengan setiap reagen dapat dilihat pada **Tabel 7** dan **Lampiran 8**.

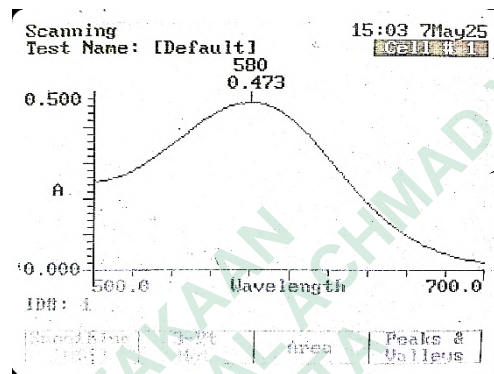
Tabel 7. Hasil Uji Kualitatif dengan Reagen

Sampel	Reagen			Asam Kromatofat	Keterangan
	KMnO_4	Fehling A & B	Schiff		
Kontrol Formalin (+)	Cokelat	Endapan merah	Ungu	Ungu	Positif
Kontrol Tahu (+)	Cokelat	Endapan merah	Ungu	Ungu	Positif
Kontrol (-)	Ungu	Tidak ada endapan merah	Bening	Bening	Negatif
G1	Ungu	Tidak ada endapan merah	Bening	Bening	Negatif
G2	Ungu kemerahan	Tidak ada endapan merah	Bening	Bening	Negatif
G3	Ungu	Tidak ada endapan merah	Bening	Bening	Negatif
G4	Ungu	Tidak ada endapan merah	Bening	Bening	Negatif
G5	Ungu	Tidak ada endapan merah	Bening	Bening	Negatif
G6	Ungu	Tidak ada endapan merah	Bening	Bening	Negatif
G7	Ungu	Tidak ada endapan merah	Bening	Bening	Negatif
S1	Ungu kemerahan	Tidak ada endapan merah	Bening	Bening	Negatif
S2	Ungu kemerahan	Tidak ada endapan merah	Bening	Bening	Negatif
S3	Ungu kemerahan	Tidak ada endapan merah	Bening	Bening	Negatif

2) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Standar Formalin

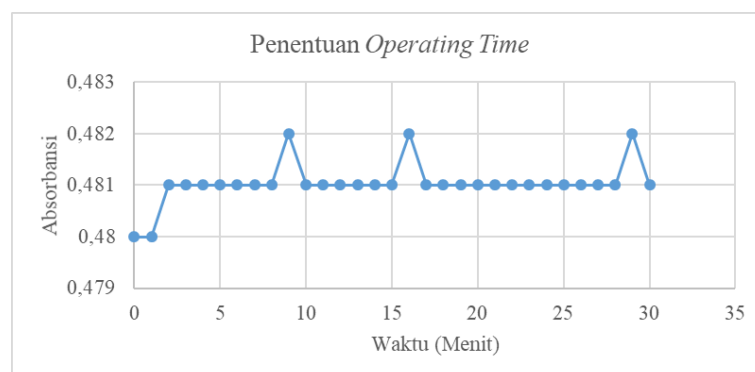
Penentuan panjang gelombang maksimum formalin dilakukan pada larutan formalin 60 ppm yang diukur pada rentang panjang gelombang 500-700 nm. Hasil pengukuran menunjukkan panjang gelombang maksimum formalin adalah 580 nm, dapat dilihat pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Panjang Gelombang Standar Formalin 60 ppm

b. Penentuan *Operating Time*

Penentuan *operating time* dilakukan dengan mengukur nilai absorbansi larutan formalin 60 ppm selama 30 menit pada panjang gelombang 580 nm. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa nilai absorbansi tetap stabil dari menit ke-17 hingga menit ke-28, dapat dilihat pada **Gambar 7** dan **Lampiran 9**.



Gambar 7. Penentuan *Operating Time* Standar Formalin

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Sampel

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum terhadap 10 sampel tahu putih menunjukkan beberapa sampel terdapat puncak serapan (*) pada rentang panjang gelombang 510-580 nm, dapat dilihat pada **Tabel 8** dan **Lampiran 10**. Kontrol positif menunjukkan puncak absorbansi sebesar 0,473 pada panjang gelombang 580 nm, sedangkan absorbansi beberapa sampel tersebut (*) berada di antara 0,02-0,05.

Tabel 8. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum pada Sampel

Sampel	Panjang Gelombang (nm)				Absorbansi			
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4
Standar formalin 60 ppm	580	-	-	-	0,473	-	-	-
Kontrol positif	581	-	-	-	0,304	-	-	-
Kontrol negatif	515	-	-	-	0,037	-	-	-
G1	569*	503	511	508	0,034*	0,024	0,013	0,017
G2	566*	561	505	512	0,038*	0,019	0,018	0,035
G3	574*	504	504	507	0,036*	0,026	0,015	0,024
G4	566*	551	504	503	0,043*	0,022	0,022	0,027
G5	574*	503	517	514	0,042*	0,032	0,018	0,012
G6	566*	571	509	515	0,039*	0,013	0,023	0,010
G7	572*	504	506	511	0,037*	0,003	0,023	0,009
S1	566*	505	505	508	0,048*	0,003	0,024	0,012
S2	512*	504	524	506	0,024*	0,016	0,019	0,013
S3	566*	507	565	505	0,033*	0,013	0,020	0,020

Keterangan: *=sampel yang diduga memiliki puncak serapan formalin

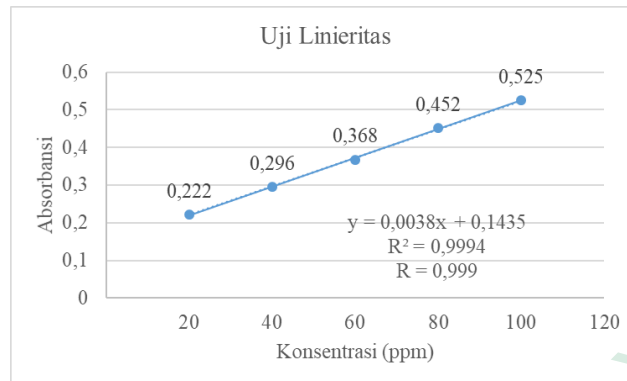
5. Validasi Metode Analisis

Dalam penelitian ini parameter validasi yang dipilih meliputi linieritas dan kisaran linier, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ.

a) Uji Linieritas dan Kisaran Linier

Pengujian linieritas dan kisaran linier menggunakan larutan formalin dengan konsentrasi berturut-turut 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm, masing-masing direplikasi sebanyak tiga kali. Kurva kalibrasi yang digunakan diperoleh dari rata-rata hasil replikasi, dengan persamaan regresi $y = 0,0038x + 0,1435$ dan nilai koefisien korelasi (r) = 0,999. Setiap

replikasi menunjukkan kisaran linier dengan nilai $r \geq 0,997$, sebagaimana ditampilkan pada **Gambar 8** dan **Lampiran 11**.



Gambar 8. Kurva Baku Uji Linieritas Standar Formalin

b) Uji Akurasi

Pengujian akurasi menggunakan sampel simulasi tahu formalin 40 ppm ditambahkan tiga konsentrasi standar formalin 20, 40, dan 60 ppm dengan tiap konsentrasi direplikasi tiga kali, kemudian dilakukan pembacaan sampel sebelum *dispiking* (*non spiking*) dan sesudah *dispiking* (*spike*) menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 580 nm. Hasil uji akurasi diperoleh %*Recovery* pada konsentrasi 20, 40, dan 60 ppm berurutan yaitu $97,807 \pm 5,529\%$, $98,684 \pm 2,494\%$, dan $101,023 \pm 2,564\%$, dapat dilihat pada **Tabel 9** dan **Lampiran 12**.

Tabel 9. Hasil Uji Akurasi

Kons Baku (ppm)	Kadar (ppm)			\bar{X} Kadar (ppm)			SD Baku (ppm)	RSD (%)	R' (%)
	Non Spike (NS)	Spike (S)	Baku (S-NS)	Non Spike	Spike	Baku			
20	41,711	59,868	18,158	41,009	60,570	19,561	1,081	5,529	97,807
	40,395	61,184	20,789						
	40,921	60,658	19,737						
40	40,921	81,447	40,526	41,447	80,921	39,474	0,985	2,494	98,684
	41,447	79,605	38,158						
	41,974	81,711	39,737						
60	39,868	101,447	61,579	40,921	101,535	60,614	1,554	2,564	101,023
	41,974	100,395	58,421						
	40,921	102,763	61,842						

c) Uji Presisi

Dalam penelitian ini, pengujian presisi dilakukan dengan menganalisis standar formalin 60 ppm sebanyak enam kali ulangan setiap hari selama tiga hari untuk menilai kestabilan metode secara *intraday* (dalam satu hari) dan *interday* (antar hari). Hasil uji presisi dari hari ke-1 hingga hari ke-3 diperoleh %RSD 1,206, dapat dilihat pada **Tabel 10** dan **Lampiran 13**.

Tabel 10. Hasil Uji Presisi

Hari ke-	Rata-Rata Kadar Harian (ppm)	Rata-Rata Kadar Keseluruhan (ppm)	SD (ppm)	RSD (%)
1	58,246			
2	57,588	58,377	0,704	1,206
3	59,298			

d) Uji LOD dan LOQ

Penentuan nilai batas deteksi atau *Limit of Detection* (LOD) dan batas kuantifikasi atau *Limit of Quantification* (LOQ) dalam penelitian ini didasarkan pada rata-rata dari kurva kalibrasi standar formalin pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Nilai simpangan baku (SD) yang diperoleh dari data tersebut digunakan dalam perhitungan LOD dan LOQ berdasarkan persamaan regresi linier $y = 0,0038x + 0,1435$.

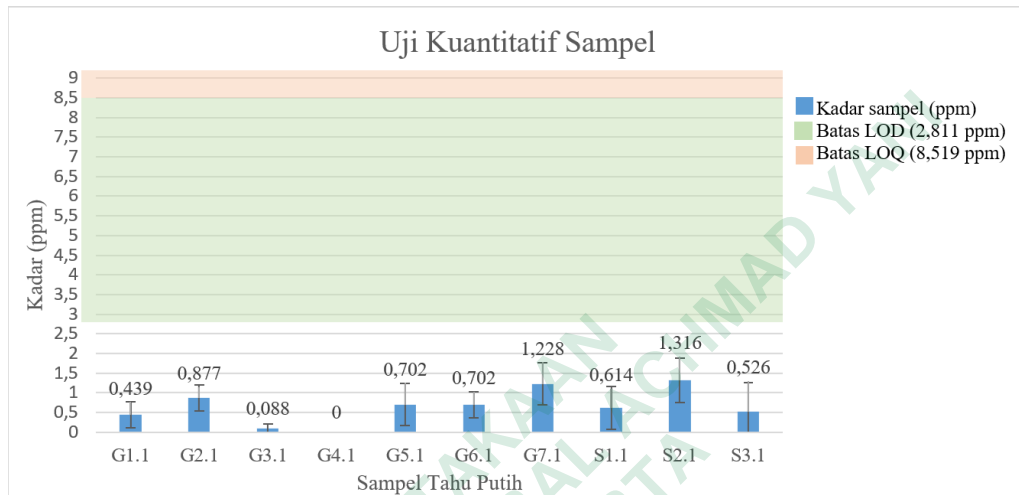
Tabel 11. Hasil Perhitungan LOD dan LOQ

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	y'	$(y'-y)$	$(y' - y)^2$	$\sum(y' - y)^2$
20	0,222	0,2195	0,002	0,00000469	
40	0,296	0,2955	0,000	0,00000003	
60	0,368	0,3715	-0,004	0,00001469	0,00004192
80	0,452	0,4475	0,005	0,00002025	
100	0,525	0,5235	0,002	0,00000225	
SD (ppm)				0,003237	
LOD (ppm)				2,811	
LOQ (ppm)				8,519	

Hasil pengujian menggunakan persamaan regresi linier $y = 0,0038x + 0,1435$, diperoleh *slope* (b) sebesar 0,0038 dan *intersep* (a) 0,1435. Nilai simpangan baku (SD) yang dihasilkan adalah 0,003237, nilai LOD sebesar 2,811 ppm, dan nilai LOQ sebesar 8,519 ppm, perhitungan dapat dilihat pada **Tabel 11** dan **Lampiran 14**.

6. Uji Kuantitatif Sampel Tahu Putih

Uji kuantitatif terhadap sampel tahu putih yang diduga mengandung formalin dilakukan dengan teknik *spiking*. Hasil uji kuantitatif diperoleh seluruh sampel tahu yang diduga mengandung formalin memiliki kadar di bawah LOD dan LOQ yang dapat dilihat pada **Gambar 9** dan **Lampiran 15**.



Gambar 9. Hasil Uji Kuantitatif Sampel

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi keberadaan formalin pada sampel tahu putih mentah yang diperoleh dari dua pasar tradisional di Kecamatan Klaten Tengah, yakni Pasar Gedhe Klaten dan Pasar Srago, dapat dilihat pada **Lampiran 3**. Sebanyak 10 sampel tahu putih dikumpulkan dari tujuh pedagang di Pasar Gedhe Klaten dan tiga pedagang di Pasar Srago. Seluruh sampel terlebih dahulu diamati secara organoleptis, kemudian dilanjutkan dengan identifikasi kualitatif menggunakan reagen KMnO_4 , Fehling A & B, Schiff, dan asam kromatofat, disertai penentuan panjang gelombang maksimum. Analisis kuantitatif dilakukan pada sampel yang diduga mengandung formalin sebagai lanjutan dari analisis kualitatif. Analisis tersebut dengan spektrofotometri UV-Vis untuk mengukur kadar formalin dalam tahu putih. Validasi metode untuk memastikan keandalan dan ketepatan metode spektrofotometri UV-Vis yang digunakan dalam pengujian kuantitatif pada formalin di dalam tahu putih dengan memenuhi kriteria meliputi linieritas dan kisaran linier, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ.

Pada tahap awal pengujian, dibuat tahu kontrol positif sebagai pembanding untuk uji organoleptis, identifikasi kualitatif, dan sampel simulasi pada uji akurasi dan presisi validasi metode. Pada pembuatan tahu, kacang kedelai direndam terlebih dahulu. Perendaman tersebut dilakukan untuk melunakkan struktur kedelai sehingga mudah untuk dihaluskan dan mempermudah pengupasan kulit kedelai (Muthahhar, 2021). Kacang kedelai yang sudah direndam, dicuci untuk membantu pelepasan kulit kedelai lebih mudah. Kedelai yang sudah dicuci dihaluskan untuk mempermudah ekstraksi protein dari kedelai. Perebusan kedelai yang sudah dihaluskan, dilakukan untuk mengurangi bau langu dan membantu proses denaturasi penggumpalan protein (Ramadhan, 2023), lalu diberi penambahan cuka untuk mengkoagulasi protein dari sari kedelai. Hasil koagulasi kedelai tersebut dicetak menjadi tahu, dapat dilihat pada **Lampiran 4**. Tahu tersebut direndam selama 24 jam dalam larutan formalin 40 ppm untuk dijadikan tahu kontrol positif dan pada kontrol negatif tahu tidak direndam formalin untuk dijadikan pembanding dalam uji organoleptis, kualitatif dan kuantitatif.

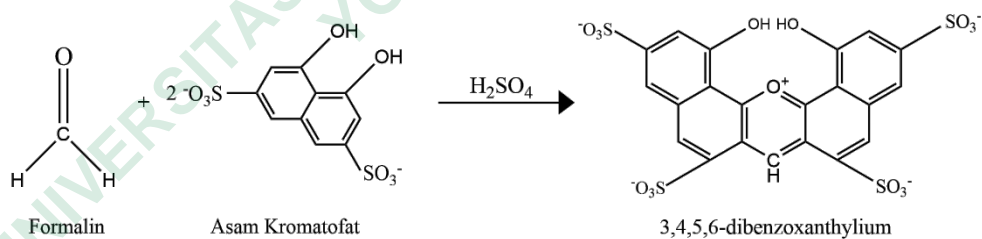
Sampel tahu putih yang diperoleh dari Pasar Gedhe Klaten dan Pasar Srago diamati secara organoleptis selama tiga hari pada suhu ruang, dengan parameter pengamatan mencakup aroma, tekstur, dan tampilan visual. Hasil sampel tahu dibandingkan dengan tahu kontrol positif terdapat perbedaan mencolok diamati antara kedua jenis tahu yang dapat dilihat pada **Lampiran 5** dan **Tabel 5**. Tahu kontrol positif menunjukkan karakteristik khas seperti aroma kimia, tekstur yang padat dan tidak berlendir, serta tampilan visual yang tetap baik seperti warna putih bersih tanpa pertumbuhan jamur hingga hari ketiga pengamatan. Perlambatan pertumbuhan jamur pada tahu disebabkan oleh keberadaan gugus aldehid dalam formalin yang bereaksi dengan protein tahu, membentuk ikatan silang yang memperkuat struktur tahu serta menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk yang menghasilkan senyawa asam (Rosita, 2022).

Hasil uji organoleptis pada seluruh sampel tahu menunjukkan tanda-tanda pembusukan. Dalam tiga hari, aroma tahu berubah dari khas kedelai menjadi asam fermentasi, teksturnya menjadi berlendir, dan warna putih aslinya menjadi kekuningan serta ditumbuhi jamur. Aroma asam dihasilkan dari proses hidrolisis lanjutan terhadap protein dan asam amino, yang membentuk berbagai senyawa gas. Lendir yang terbentuk merupakan hasil aktivitas mikroorganisme pembusuk, yang tumbuh karena tingginya kadar air dan protein dalam tahu. Lendir tersebut menyebabkan perubahan warna tahu, menjadikannya kusam hingga kekuningan. Perubahan warna juga dipicu oleh pertumbuhan kapang pada permukaan tahu, yang berkembang dengan cepat pada media yang tinggi protein (Widianto *et al.*, 2021). Kelemahan uji organoleptis bersifat subjektif dan tidak spesifik, maka diperlukan identifikasi kualitatif lanjutan menggunakan reagen kimia tertentu dan penentuan panjang gelombang maksimum untuk mendeteksi gugus aldehid pada tahu berformalin.

Identifikasi kualitatif formalin dilakukan menggunakan empat reagen berupa KMnO_4 , Fehling A & B, Schiff, serta asam kromatofat, dengan mengamati perubahan warna yang dihasilkan dan membandingkannya dengan kontrol positif (tahu berformalin) serta kontrol negatif (tahu tidak berformalin). Pada pengujian dengan reagen KMnO_4 reaksi yang terjadi mengubah larutan ungu menjadi cokelat,

pengujian menunjukkan tidak ditemukan perubahan warna pada seluruh sampel yang diuji sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat kandungan formalin dalam sampel tersebut, dapat dilihat pada **Tabel 7** dan **Lampiran 8**.

Pada tahap akhir identifikasi digunakan reagen asam kromatofat untuk mengkonfirmasi keberadaan formalin. Reagen ini bekerja dengan membentuk kompleks berwarna ungu setelah berinteraksi dengan formalin pada suasana asam, terutama saat proses dipercepat melalui pemanasan. Sebaliknya, jika warna sampel tetap bening, maka sampel dinyatakan negatif, reaksi formalin dengan asam kromatofat dapat dilihat pada **Gambar 11**. Asam kromatofat berbentuk serbuk cokelat yang setelah dilarutkan dalam asam sulfat 60% menghasilkan larutan berwarna kuning jernih. Penambahan asam sulfat untuk memberi suasana asam agar reaksi antara formalin dan asam kromatofat dapat berlangsung secara optimal (Puspita, 2023). Hasil uji terhadap seluruh sampel menunjukkan tidak adanya perubahan warna ungu, terdapat di **Tabel 7** dan **Lampiran 8**. Hasil uji organoleptis dan identifikasi kualitatif dengan keempat jenis reagen yang digunakan menunjukkan hasil negatif terhadap keberadaan formalin dalam sampel tahu, maka dilakukan konfirmasi lanjutan dengan penentuan panjang gelombang maksimum formalin menggunakan spektrofotometer UV-Vis.



Gambar 11. Reaksi Formalin dengan Asam Kromatofat
(digambarkan dari *Software Chemdraw* versi 22.0)

Penentuan panjang gelombang maksimum formalin dalam sampel tahu putih dilakukan dengan menetapkan panjang gelombang maksimum dan waktu *operating time* standar formalin. Penentuan panjang gelombang maksimum dan *operating time* untuk memperoleh kondisi pengukuran optimal, yaitu pada panjang gelombang di mana absorbansi larutan mencapai puncaknya (Apriliyani *et al.*, 2018) dan dalam rentang waktu saat absorbansi berada dalam keadaan stabil. Dari hasil penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan standar formalin 60

ppm, diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 580 nm, pada **Gambar 6**. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Fernandez *et al* (2018), yang menunjukkan bahwa reaksi formalin dengan reagen asam kromatofat memiliki panjang gelombang maksimum pada 580 nm. **Gambar 7** dan **Lampiran 9** menunjukkan hasil *operating time*, kestabilan absorbansi dari menit ke-0 hingga menit ke-30, dengan fluktuasi kecil yang terjadi sebelum menit ke-10, 20, dan 30. Sehingga pembacaan absorbansi formalin dilakukan pada panjang gelombang 580 nm dari menit ke-17 hingga ke-28 yang memiliki rentang stabil lebih lama. Hasil penentuan panjang gelombang formalin dari setiap sampel pada **Tabel 8** dan **Lampiran 10**, diperoleh beberapa sampel menunjukkan puncak serapan formalin pada rentang 510-580 nm dengan nilai absorbansi rentang 0,02-0,05. Hasil keseluruhan pengujian sampel dari pengamatan organoleptis, identifikasi kualitatif menggunakan reagen dan konfirmasi melalui penentuan panjang gelombang maksimum, maka diperlukan uji kuantitatif untuk memastikan keberadaan formalin pada sampel yang diduga mengandung formalin.

Sebelum dilakukan uji kuantitatif pada sampel tahu yang diduga mengandung formalin, maka perlu dilakukan validasi metode untuk memastikan ketepatan dan konsistensi dari metode analisis spektrofotometri UV-Vis yang digunakan sesuai parameter yang ditetapkan. Dalam penelitian ini, parameter yang divalidasi mencakup linieritas dan kisaran linier, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ karena ditujukan untuk menentukan pengotor atau pengganggu dari suatu produk (USP, 2024). Uji linieritas bertujuan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara respon instrumen (y) dan konsentrasi analit (x) membentuk kurva kalibrasi yang proporsional. Hasil uji linieritas diperoleh dari rata-rata persamaan regresi linier dari tiga kali replikasi dengan mempertimbangkan nilai r telah memenuhi kriteria linieritas yang disyaratkan. Dari hasil rata-rata linieritas tiga kali replikasi diperoleh persamaan $y = 0,0038x + 0,1435$ dengan nilai $r = 0,999$ yang memenuhi syarat linieritas yang baik ($r \geq 0,997$) (Suseno, 2021), dapat dilihat pada **Gambar 8** dan **Lampiran 11**. *Slope* (b) menunjukkan sensitifitas metode sebesar 0,0038 dan *intersep* (a) menunjukkan variabilitas metode sebesar 0,1435. Data ini selanjutnya digunakan sebagai dasar dalam perhitungan parameter validasi metode, termasuk

akurasi, presisi, LOD dan LOQ, serta perhitungan uji kuantitatif.

Uji akurasi dilakukan untuk memperoleh kedekatan hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya (Muslich *et al.*, 2020). Dua metode yang digunakan untuk menguji akurasi, yaitu metode penambahan baku (*standard addition method*) dan metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) (Umbingo *et al.*, 2015). Metode *spiking* merupakan salah satu metode pendekatan yang umumnya digunakan ketika melakukan uji akurasi. Metode *spiking* dilakukan dengan cara menambahkan analit dengan konsentrasi tertentu yang sudah diketahui ke dalam sampel dan dilihat nilai perolehan kembalinya (*%Recovery*) (Talu *et al.*, 2023). Pada penelitian ini metode *spiking* digunakan *spike* dengan tiga konsentrasi formalin yaitu 20, 40, dan 60 ppm dengan tiap konsentrasi direplikasi sebanyak tiga kali (Eurachem, 2025; ICH, 2023). Nilai perolehan kembali (*%Recovery*) teoritis yang baik untuk sampel dengan konsentrasi 10-100 ppm ditetapkan 90-107% (AOAC International, 2016). Dari hasil akurasi diperoleh *%Recovery* untuk konsentrasi 20, 40, dan 60 ppm secara berturut-turut yaitu 97,807%, 98,684%, dan 101,023%, sehingga dapat memenuhi syarat *%Recovery* teoritis yang dapat dilihat pada **Tabel 9** dan **Lampiran 12**.

Pedoman ICH (2023), mengklasifikasikan presisi ke dalam tiga tingkatan, yaitu *repeatability* (keterulangan), *intermediate precision* (presisi antara), dan *reproducibility* (ketertiruan). Dalam penelitian ini, uji presisi mencakup *repeatability (intraday)*, yang dilakukan dalam satu hari dengan kondisi konsisten, termasuk personel, peralatan, lokasi, dan waktu yang sama; serta *intermediate precision (interday)*, yang dilakukan pada hari lain yaitu hari kedua dan ketiga untuk menilai ketepatan metode pada kondisi yang bervariasi, seperti personel, peralatan, tempat, dan waktu yang berbeda. Uji presisi dilakukan selama tiga hari dengan batas penerimaan %RSD untuk konsentrasi 10-100 ppm mengacu pada nilai %RSD Horwitz ($\leq 8\%$) (Horwitz & Albert, 2006). Hasil uji presisi selama tiga hari diperoleh nilai %RSD 1,206% yang dapat memenuhi syarat %RSD yang baik, dapat dilihat pada **Tabel 10** dan **Lampiran 13**.

Batas deteksi atau *Limit of Detection* (LOD) merupakan konsentrasi analit terendah yang masih dapat dideteksi, meskipun belum tentu terkuantifikasi. Batas kuantifikasi atau *Limit of Quantification* (LOQ) merupakan konsentrasi terendah yang dapat diukur secara kuantitatif dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima sesuai metode (ICH, 2023). Dari persamaan regresi linier, diperoleh *slope* (b) sebesar 0,0038 untuk menghitung LOD menggunakan rumus $LOD = 3,3 \times (SD/Slope)$, diperoleh nilai LOD sebesar 2,8112 ppm. Perhitungan LOQ menggunakan rumus $LOQ = 10 \times (SD/Slope)$ menghasilkan nilai sebesar 8,519 ppm, dapat dilihat pada **Tabel 11** dan **Lampiran 14**. Hasil uji linieritas dan kisaran linier pada **Gambar 8** dan **Lampiran 11**, akurasi pada **Tabel 9** dan **Lampiran 12**, presisi pada **Tabel 10** dan **Lampiran 13**, serta LOD dan LOQ pada **Tabel 11** dan **Lampiran 14**, menunjukkan bahwa seluruh parameter telah memenuhi persyaratan dari USP (2024). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Saputra (2024), identifikasi formalin dengan spektrofotometri UV-Vis uji presisi hanya dilakukan *intraday* dan tidak dilakukan *interday*, serta menghasilkan nilai LOD sebesar 3,145 ppm, dan LOQ sebesar 9,530 ppm. Dengan demikian, metode analisis yang digunakan untuk pengujian kuantitatif telah tervalidasi dengan memenuhi berbagai kriteria validasi metode tersebut.

Metode spektrofotometri UV-Vis yang sudah tervalidasi dapat diterapkan dalam uji kuantitatif untuk memastikan kadar formalin pada sampel tahu putih yang diduga mengandung formalin. Larutan formalin tidak memiliki gugus kromofor, penambahan reagen asam kromatofat pada sampel tahu putih untuk membentuk kompleks berwarna ungu yang dapat diserap dan dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengujian kuantitatif pada sampel yang diduga mengandung formalin dilakukan dengan metode *spiking*, yaitu melalui penambahan larutan formalin 40 ppm ke dalam sampel. Kadar formalin dalam sampel tahu putih dihitung berdasarkan selisih kadar antara kadar sampel *spike* dan kadar standar formalin 40 ppm. Dari hasil analisis sampel yang diduga mengandung formalin diperoleh kadar formalin pada sampel berkisar 0-1,316 ppm yang berada di bawah nilai LOD (2,811 ppm) dan LOQ (8,519 ppm), sebagaimana terlampir pada **Gambar 9** dan **Lampiran 15**. Sehingga sampel yang diduga mengandung formalin

tersebut dikonfirmasi tidak mengandung formalin dengan uji kuantitatif.

Penelitian ini terbatas pada aspek sensitivitas metode deteksi formalin pada kadar yang sangat rendah, sehingga diperlukan konfirmasi dengan metode lain yang lebih spesifik. Penelitian ini mengusulkan pengembangan metode analisis yang lebih sensitif, meliputi pemilihan reagen atau metode HPLC. Penelitian yang dilakukan oleh Aldawsari (2025) dan Min *et al* (2023) menggunakan spektrofotometer UV-Vis namun dengan reagen yang berbeda, yaitu pararosanilin dan oksalildihidrazida. Hasilnya, pada reagen pararosanilin diperoleh nilai LOD 0,01 ppm dan LOQ sebesar 0,035 ppm. Sedangkan reagen oxalyldihydrazide diperoleh nilai LOD dan LOQ yang sama 0,03 ppm. Pada metode HPLC dengan kolom fluoresensi yang digunakan oleh Sebaei *et al* (2018) menunjukkan kemampuan mendeteksi residu formalin hingga 0,01 ppm dalam produk susu. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar dalam pengawasan keamanan pangan pada tahu putih di pasar tradisional Kecamatan Klaten Tengah.