



**FABRIKASI STRIP TES BERBASIS REAGEN ASAM SULFANILAT DAN
-NAFTILAMIN UNTUK ANALISIS PENGAWET NITRIT PADA SAMPEL
SOSIS KALENG**

SKRIPSI

Oleh :

**Fika Nurihanah Zulfa
NIM 092210101083**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2013**



**FABRIKASI STRIP TES BERBASIS REAGEN ASAM SULFANILAT DAN
-NAFTILAMIN UNTUK ANALISIS PENGAWET NITRIT PADA SAMPEL
SOSIS KALENG**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk
menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh :

Fika Nurihanah Zulfa

NIM 092210101083

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2013

PERSEMBAHAN

Dengan segenap ketulusan hati, saya persembahkan karya tulis ini untuk :

1. Ibunda Umi Hanik dan ayahanda Hasbi yang senantiasa mendoakan, memberikan kasih sayang, perhatian, semangat, dan pengorbanan kepada saya hingga saat ini;
2. Adik dan saudara-saudaraku Fiko, Arinda, Alexa, Balqist, Silvi, Zia, Inez, Aufar, Mama Ida, Tante Ida serta keluarga besarku yang selalu mendoakan, memberikan semangat, canda tawa, dan kebahagiaan mulai dari kecil hingga saat ini;
3. Guru-guruku TK Muslimat Selok Besuki, MI Nurul Islam Selok Besuki, SMPN 2 Lumajang, SMAN 2 Lumajang, dan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember

MOTTO

**Jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu, dan sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat, kecuali bagi orang-orang yang khusyu'
(Q.S. Al-Baqarah 2:45)**

**Bersikaplah keras pada hidup, maka hidup akan bersikap lunak pada kita
(Anonim)**

**Everything will be okay in the end. If it's not okay, it's not the end
(Anonim)**

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fika Nurihanah Zulfa

NIM : 092210101083

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul *Fabrikasi Strip Tes Berbasis Reagen Asam Sulfanilat dan -Naftilamin untuk Analisis Pengawet Nitrit pada Sampel Sosis Kaleng* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Oktober 2013

Yang menyatakan,



Fika Nurihanah Zulfa

NIM 092210101083

SKRIPSI

FABRIKASI STRIP TES BERBASIS REAGEN ASAM SULFANILAT DAN -NAFTILAMIN UNTUK ANALISIS PENGAWET NITRIT PADA SAMPEL SOSIS KALENG

Oleh

Fika Nurihanah Zulfa
NIM 092210101083

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D.

Dosen Pembimbing Anggota : Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “*Fabrikasi Strip Tes Berbasis Reagen Asam Sulfanilat dan - Naftilamin untuk Analisis Pengawet Nitrit pada Sampel Sosis Kaleng*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Rabu, 25 September 2013

tempat : Fakultas Farmasi

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing I,



Prof. Drs. Bambang Kuswandi., M.Sc., Ph.D.

NIP 196902011994031002

Dosen Pembimbing II,



Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt

NIP 197806092005012004

Tim Penguji

Dosen Penguji I,



Lesty Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.

NIP 197604142002122001

Dosen Penguji II,



Ayik Rosita P., S.Farm., M.Farm., Apt

NIP 198102012006042001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



Lesty Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm

NIP 197604142002122001

Fabrikasi Strip Tes Berbasis Reagen Asam Sulfanilat dan -Naftilamin untuk Analisis Pengawet Nitrit pada Sampel Sosis Kaleng (Fabrication Test Strip Based On Sulfanilic Acid and -Naphtylamine Reagents For Analysing Nitrite as Preservative on Canned Sausage Sample)

Fika Nurihanah Zulfa

Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRACT

A nitrite sensor has been developed as test strip based on sulfanilic acid and -naphtylamine to determine concentration of nitrite in canned sausage. The test strip was fabricated by immobilized 3 μ L reagent mixture of sulfanilic acid and -naphtylamine at 1:1 volume ratio. The detection area of test strip was made from whatman paper which has size of 0,5x0,5 cm. The characterization results of test strip were: the response time at 7 minutes; test strip can be used for three weeks stored at chiller ($\pm 4^{\circ}$ C); the linearity in the concentration range of 50-227.3 ppm with coefficient correlation 0.998. This test strip has sensitivity of 0,127 mean RGB/ppm; while LOD was 12,862 ppm and LOQ was 42.873 ppm; the measurement of sensor response was interferenced by NaCl and protein with %interference >5% at 1:100 concentration ratio. Test strips have good precision (1.706%) and accuracy (97.396%). The concentration of nitrite on three samples tested could be accepted using test strip since the concentration below allowable limit (<125 mg/kg). Test strip needs comparison method to determine its validity.

Keywords: *-Naphtylamine, Canned Sausage, Nitrite, Sulfanilic Acid, Test Strip*

RINGKASAN

Fabrikasi Strip Tes Berbasis Reagen Asam Sulfanilat dan -Naftilamin Untuk Analisis Pengawet Nitrit Pada Sampel Sosis Kaleng; Fika Nurihanah Zulfa, 092210101083; 2013; 77 Halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Makanan kaleng merupakan salah satu produk pangan modern yang ditujukan untuk mengemas berbagai jenis makanan yang bersifat instan dan siap saji. Salah satu jenis makanan kaleng adalah sosis. Sosis didefinisikan sebagai produk makanan yang diperoleh dari campuran daging halus (mengandung daging tidak kurang dari 75%) dengan tepung atau pati dengan atau tanpa penambahan bumbu-bumbu dan tambahan makanan lain yang diizinkan dan dimasukkan ke dalam selubung sosis. Sosis sebagai produk olahan daging memiliki sifat mudah rusak, sehingga dalam penyimpanannya perlu ditambahkan pengawet. Pengawet yang sering digunakan adalah natrium atau kalium nitrit. Penggunaan pengawet nitrit dapat mencegah pertumbuhan *Clostridium botulinum*, menstabilkan warna daging, menunda ketengikan, dan berkontribusi dalam pemberian rasa. Berdasarkan aturan Permenkes Nomor 722/Menkes/Per/IX/88, batas maksimum penggunaan pengawet nitrit dalam daging olahan adalah 125 mg/kg. Hal ini berkaitan dengan efek samping yang dapat ditimbulkan oleh konsumsi nitrit yang berlebihan diantaranya dapat menimbulkan gangguan suplai oksigen akibat terbentuknya senyawa methemoglobin serta dapat membentuk senyawa nitrosamin yang bersifat karsinogenik.

Penentuan kadar nitrit dalam sosis kaleng telah banyak dilakukan dengan berbagai metode seperti spektrofotometri dan kromatografi. Kedua metode tersebut memiliki kekurangan dalam segi kepraktisan, biaya, dan tata laksana. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dikembangkan suatu teknologi yang dapat mendeteksi kadar nitrit dalam sosis kaleng secara cepat, mudah penggunaannya, dan ekonomis. Teknologi yang dikembangkan adalah sensor kimia berupa strip tes. Strip tes didefinisikan sebagai bentuk miniaturisasi dari suatu piranti analisis, yang hanya

mempunyai area deteksi yang kecil. Reagen yang digunakan untuk mendeteksi nitrit dan diimmobilisasi pada area deteksi strip tes adalah campuran reagen asam sulfanilat dan -naftilamin (1:1). Mekanisme reagen ini berdasarkan reaksi diazotasi antara asam nitrit dengan asam sulfanilat yang kemudian dikopling dengan -naftilamin untuk membentuk senyawa azo berwarna merah muda hingga kuning.

Fabrikasi strip tes dilakukan dengan mengimmobilisasi 3 μ L campuran reagen pada area deteksi yang berbahan kertas *whatman* dengan ukuran 0,5 x 0,5 cm. Strip tes kemudian dikeringkan \pm 15 menit pada suhu ruang. Untuk volume sampel yang diperkirakan akan terserap pada strip tes adalah 5 μ L, yang diperoleh dari hasil uji celup oleh 10 panelis.

Hasil karakterisasi strip tes sebagai sensor nitrit berbasis reagen asam sulfanilat dan -naftilamin meliputi: waktu respon strip tes adalah 7 menit; waktu pakai strip tes selama tiga minggu pada penyimpanan suhu *chiller* (\pm 4⁰C); linieritas strip tes terhadap standar nitrit berada pada rentang 50-227,5 ppm, dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,998, nilai X_p 21,673, V_{xo} 3,073%, dan persamaan regresi yang diperoleh adalah $y = 0,127x + 30,642$; batas deteksi (LOD) dari strip tes sebesar 12,862 ppm sedangkan batas kuantitasi (LOQ) sebesar 42,873 ppm; MSG tidak memberikan interferensi pada pengukuran, sedangkan NaCl dan Protein memberikan %interferensi > 5% pada perbandingan 1: 100 terhadap standar nitrit 50 ppm; metode strip tes sebagai sensor nitrit telah memenuhi parameter presisi dengan nilai RSD 1,706% (< 5,3%); strip tes juga memenuhi parameter akurasi dengan % *recovery* rata-rata sebesar 97,369% (90-107%); metode strip tes sebagai sensor nitrit dapat mendeteksi kadar nitrit dari tiga sampel yang diambil dari tiga supermarket di Jember, namun hasil pengukuran tidak dapat dibandingkan dengan metode spektrofotometri dikarenakan pengukuran absorbansi yang tidak konstan.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “*Fabrikasi Strip Tes Berbasis Reagen Asam Sulfanilat dan -Naftilamin untuk Analisis Pengawet Nitrit pada Sampel Sosis Kaleng*”. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada suri tauladan kita, Nabi Muhammad SAW dan para sahabat serta keluarganya. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Lesty Wulandari, S.Si.,Apt.,M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, Msc., PhD. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Yuni Retnaningtyas., S.Si., Apt., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan waktu, pikiran dan perhatiannya dalam membimbing dan memberikan solusi kepada penulis selama menjalankan penelitian ini;
3. Lesty Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm dan Ayik Rosita M.Farm., selaku tim penguji yang telah meluangkan waktunya untuk menguji skripsi ini;
4. Teknisi di Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi, Bu Wayan dan Mbak Hani serta pegawai-pegawai akademik Fakultas Farmasi Universitas Jember yang selalu mempermudah dalam setiap urusan yang berkaitan dengan kepentingan penelitian ini;
5. Kedua Orang Tua saya, Ibunda Umi Hanik dan Ayahanda Hasbi atas segala doa, kasih sayang, perhatian, pengorbanan, serta dukungan moral dan materiil yang selalu tercurahkan dengan ikhlas;
6. Sahabat-sahabat terbaik, Erni Nur Widyastuti, Rafida Triswardhani, Zulfa Rumailah, Deny Cahyaningtyas, Ernie Kusumawati, Laely Dwi Budiyaniti, Oky Christy, Andhy Isra' Biby, Putu Setia Pratama, dan Mas Lukman 2007.

7. Teman-teman seperjuangan, *Sensor Researcher and Friends*, Nanda, Anggih, Lail, Prisma, Sabrina, Anis, Titin, Dian, Dila, Grey, Rani, Athika, Bayu, Pram, Cecen, dan Tita.
8. Teman-teman kos Muslimah dan De Tobies Ujreng, Nadia, Dila, Risa, Retno, Anti, Andin, Tyas, Kumala, dan Dey.
9. Guru-guru di TK Muslimat Selok Besuki, MI Nurul Islam Selok Besuki, SMPN 2 Lumajang, SMAN 2 Lumajang, atas dedikasi dan ilmu yang telah diberikan dengan ikhlas sehingga saya bisa seperti saat ini;
10. Teman-teman seperjuangan angkatan 2009 di Fakultas Farmasi Universitas Jember, *The Niners*, atas segala kisah dan kasih yang indah hingga saat ini;
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu;

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat.

Jember, Oktober 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
ABSTRAK	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR PERSAMAAN	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Batasan Masalah	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan tentang Daging	5
2.1.1 Sosis.....	5
2.1.2 Bahan Pembuatan dan Komposisi Nutrisi Sosis	6
2.2 Tinjauan tentang Pengawet	7
2.2.1 Pengawet Nitrit	7

2.2.2 Fungsi Pengawet Nitrit	7
2.2.3 Efek Toksik Nitrit	8
2.3 Tinjauan tentang Metode Uji Nitrit (Uji Griess Ilosvay)	9
2.3.1 Asam Sulfanilat	10
2.3.2 -Naftilamin	11
2.4 Tinjauan tentang Sensor Kimia	12
2.4.1 Definisi Sensor Kimia	12
2.4.2 Mekanisme Sensor Kimia.....	12
2.4.3 Aplikasi Sensor Kimia.....	13
2.5 Tinjauan tentang Immobilisasi Reagen	14
2.5.1 Adsorpsi.....	14
2.5.2 <i>Entrapmen</i>	15
2.5.3 <i>Encapsulasi</i>	16
2.5.4 <i>Cross Linking</i>	16
2.5.5 Ikatan Kovalen.....	17
2.6 Tinjauan tentang Karakteristik Sensor Kimia	17
2.6.1 Waktu Respon dan Waktu Pakai	18
2.6.2 Linieritas	18
2.6.3 Sensitivitas.....	18
2.6.4 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)	19
2.6.5 Selektivitas (Interferensi)	19
2.6.6 Presisi	20
2.6.7 Akurasi	21
2.7 Tinjauan tentang Strip Tes (<i>Test Strip, MQuantTM</i>)	21
2.8 Tinjauan tentang Kertas <i>Whatman</i>	23
2.9 Tinjauan tentang Program <i>ImageJ</i>	23
2.10 Tinjauan tentang Spektrofotometer <i>UV-Vis</i>	25
BAB 3. METODE PENELITIAN	26
3.1 Jenis Penelitian.....	26

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.3 Definisi Operasional	26
3.4 Diagram Alur Penelitian	27
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	28
3.5.1 Alat	28
3.5.2 Bahan.....	28
3.6 Prosedur Penelitian	28
3.6.1 Preparasi Reagen dan Sampel.....	28
3.6.2 Desain dan Fabrikasi Strip Tes.....	29
3.6.3 Proses Immobilisasi Reagen.....	29
3.6.4 Optimasi Strip Tes.....	30
3.6.5 Karakteristik Strip Tes.....	31
3.7 Aplikasi Strip Tes pada Sampel Simulasi Dibandingkan dengan Spektrofotometer <i>UV-Vis</i>	34
3.8 Optimasi Metode Spektrofotometri	34
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1 Fabrikasi Strip Tes Berbasis Reagen Asam Sulfanilat dan -Naftilamin	36
4.2 Optimasi Strip Tes Berbasis Reagen Asam Sulfanilat dan -Naftilamin	37
4.2.1 Optimasi Volume Reagen pada Area Deteksi Strip Tes	37
4.2.2 Optimasi Volume Sampel Optimum	37
4.2.3 Optimasi Perbandingan Volume Campuran Reagen.....	39
4.3 Karakteristik Strip Tes	40
4.3.1 Waktu Respon	41
4.3.2 Waktu Pakai Strip Tes.....	42
4.3.3 Linieritas.....	43
4.3.4 Sensitivitas.....	45
4.3.5 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)	45

4.3.6 Selektivitas (Interferensi)	46
4.3.7 Presisi	48
4.3.8 Akurasi	50
4.4 Aplikasi Strip Tes pada Sampel Sosis Kaleng Dibandingkan dengan Pengukuran Menggunakan Spektrofotometer	51
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	55
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN.....	60

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur Nitrosamin.....	9
2.2 Mekanisme Reaksi antara Nitrit dengan Reagen <i>Griess Ilosvay</i>	10
2.3 Struktur Asam Sulfanilat.....	11
2.4 Struktur -Naftilamin	11
2.5 Skema Sensor Kimia	12
2.6 Teknik Adsorpsi	15
2.7 Teknik <i>Entrapment</i>	16
2.8 Teknik <i>Encapsulasi</i>	16
2.9 Teknik <i>Cross Linking</i>	17
2.10 Teknik Ikatan Kovalen	17
2.11 Desain Strip Tes	22
2.12 Program <i>ImageJ</i>	24
2.13 Cara Pembacaan Nilai <i>Mean RGB</i> pada Program <i>ImageJ</i>	25
2.14 Diagram Skematis Spektrofotometer <i>UV-Vis</i>	25
3.1 Diagram Alur Penelitian	27
3.2 Desain Strip Tes	29
4.1 Volume Reagen.....	37
4.2 Grafik Hasil Uji Celup	38
4.3 Grafik Perbandingan Δ <i>Mean RGB</i> Uji Celup dengan Berbagai Volume Standar	38
4.4 Kurva Kalibrasi Berbagai Perbandingan Volume Campuran Reagen	40
4.5 Waktu Respon Sensor	41
4.6 Kurva Linieritas	45
4.7 Kurva Linieritas Presisi.....	49
4.8 Kurva Linieritas Spektrofotometri	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi Nutrisi Sosis.....	7
2.2 Kriteria Penerimaan Studi Akurasi dan Presisi untuk Konsentrasi Analit yang Berbeda	22
4.1 Hasil Pengukuran $\Delta Mean RGB$ pada Penentuan Waktu Respon Sensor ...	41
4.2 Hasil Pengukuran Respon Strip Tes pada Suhu Ruang dan <i>Chiller</i>	42
4.3 Hasil Pengukuran $\Delta Mean RGB$ pada Uji Linieritas	44
4.4 Hasil Penentuan LOD dan LOQ	46
4.5 Hasil Pengukuran $\Delta Mean RGB$ Selektivitas	47
4.6 Hasil Pengukuran $\Delta Mean RGB$ Linieritas Presisi	48
4.7 Hasil Penentuan Presisi Sampel H	50
4.8 Hasil Pengukuran Akurasi.....	50
4.9 Hasil Penetapan Kadar Nitrit pada Tiga Merk Sampel Sosis Kaleng.....	51
4.10 Hasil Pengukuran Waktu Kerja Nitrit	52
4.11 Pengukuran Absorbansi Linieritas Spektrofotometri.....	53
4.12 Hasil Pengukuran Absorbansi Sampel dengan Berbagai Perlakuan	54

DAFTAR PERSAMAAN

	Halaman
2.1 Persamaan Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)	19
2.2 Persamaan untuk Nilai SD	20
2.3 Persamaan untuk Nilai CV	20
2.4 Persamaan % Perolehan Kembali (<i>% recovery</i>)	21

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perbandingan Volume Campuran Reagen	60
B. Uji Celup Strip Tes	64
C. Waktu Respon Sensor	65
D. Waktu Pakai Strip Tes	66
E. Linieritas	67
F. Penentuan dan Perhitungan LOD & LOQ	69
G. Perhitungan % Interferensi (Selektivitas)	70
H. Presisi dan Perhitungan	71
I. Akurasi dan Perhitungan	73
J. Aplikasi Strip Tes pada Sampel Sosis Kaleng	75
K. Foto Alat dan Bahan	77