

**PENGARUH KONSENTRASI ASETOASETANILIDA DAN
AMONIUM HIDROKSIDA PADA PENENTUAN FORMALIN
BERDASARKAN REAKSI HANTZSCH SECARA
SPEKTROFOTOMETRI LEMBAYUNG ULTRA**

SKRIPSI

Oleh
MASYRIFATUL JANNAH
0710923018-92



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

**PENGARUH KONSENTRASI ASETOASETANILIDA DAN
AMONIUM HIDROKSIDA PADA PENENTUAN FORMALIN
BERDASARKAN REAKSI HANTZSCH SECARA
SPEKTROFOTOMETRI LEMBAYUNG ULTRA**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Oleh
MASYRIFATUL JANNAH
0710923018-92



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH KONSENTRASI ASETOASETANILIDA DAN
AMONIUM HIDROKSIDA PADA PENENTUAN FORMALIN
BERDASARKAN REAKSI HANTZSCH SECARA
SPEKTROFOTOMETRI LEMBAYUNG ULTRA**

oleh
MASYRIFATUL JANNAH
0710923018-92

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Hermin Sulistyarti
NIP. 19640529 198802 2 001

Drs. Suratmo, M.Sc
NIP. 19630706 199002 1 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dr. Sasangka Prasetyawan, MS.
NIP. 19630404 198701 1 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Masyrifatul Jannah

NIM : 0710923018-92

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

“ Pengaruh Konsentrasi Asetoasetanilida dan Amonium Hidroksida Pada Penentuan Formalin Berdasarkan Reaksi Hantzsch Secara Spektrofotometri Lembayung Ultra“

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari tugas akhir yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam tugas akhir ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata tugas akhir yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Agustus 2011

Yang menyatakan,

(Masyrifatul Jannah)

NIM. 0710923018-92

Pengaruh Konsentrasi Asetoasetanilida dan Amonium Hidroksida pada Penentuan Formalin Berdasarkan Reaksi *Hantzsch* Secara Spektrofotometri Lembang Ultra

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida pada penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* secara spektrofotometri lembayung ultra. Jika jumlah molekul asetoasetanilida dan amonium hidroksida yang tersedia semakin banyak maka turunan dihidropiridin yang terbentuk juga semakin banyak. Variasi konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida yang digunakan antara lain 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08 M dan 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 M. Kinerja metode reaksi *Hantzsch* dilakukan dengan menentukan linearitas, limit deteksi, ketelitian dan ketepatan. Hasil dari optimasi konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida adalah 0,02 M dan 2,0 M. Metode analisis berdasarkan reaksi *Hantzsch* memberikan linearitas 0,5-8 ppm dengan nilai koefisien korelasi 0,9986, limit deteksi 0,6 ppm, ketelitian 93,5 % dan ketepatan 97 %.

Kata kunci : asetoasetanilida, formalin, reaksi *Hantzsch*, spektrofotometri lembayung ultra

The Influence of Acetoacetanilide and Ammonium Hydroxide Concentration in Determination of Formaline Based on *Hantzsch* Reaction by Ultra Violet Spectrophotometry

Abstract

This research has been done to find out the influence of acetoacetanilide and ammonium hydroxide concentration in determination of formaline based on *Hantzsch* reaction by ultra violet spectrophotometry. The more quantity of acetoacetanilide and ammonium hydroxide will be produced the higher dihydropyridine derivative. Variation concentrations of acetoacetanilide and ammonium hydroxide are 0.005; 0.01; 0.02; 0.04; 0.08 M and 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 M, respectively. The performance of *Hantzsch* reaction method was determined by linearity, limit of detection, precision and accuracy. The results of optimization acetoacetanilide and ammonium hydroxide concentration are 0.02 M and 2.0 M. The others optimum condition of *Hantzsch* reaction method showed linearity 0.5-8 ppm with correlation coefficient of 0.9986, limit detection of 0.6 ppm, precision of 93.5 % and accuracy of 97 %.

Keywords : acetoacetanilide, formaline, *Hantzsch* reaction, ultra violet spectrophotometry

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala limpahan karunia-Nya yang telah diberikan sehingga dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir dengan judul **Pengaruh Konsentrasi Asetoasetanilida dan Amonium Hidroksida pada Penentuan Formalin Berdasarkan Reaksi Hantzsch Secara Spektrofotometri Lembayung Ultra**. Penulisan tugas akhir ini merupakan salah satu syarat kelulusan dan memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang kimia di Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung selama pelaksanaan penelitian. Ungkapan terima kasih tersebut penulis sampaikan kepada:

1. Dr. Hermin Sulistyarti dan Drs. Suratmo, M.Sc selaku dosen pembimbing I dan II atas segala bimbingan, pengarahan dan kesabaran yang diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
2. M.Farid Rahman, S.Si., M.Si selaku dosen penasihat akademik yang telah memberikan bimbingan selama kuliah.
3. Dr. Sasangka Prasetyawan selaku Ketua Jurusan Kimia yang telah memberikan fasilitas kepada penulis untuk mengadakan penelitian di seluruh laboratorium kimia.
4. Bapak/Ibu dosen penguji, atas segala masukan dan saran yang diberikan kepada penulis untuk perbaikan naskah skripsi ini.
5. Kedua orang tua serta keluarga yang selalu mengiringi penulis dengan doa, perhatian, kasih sayang, dan nasehat, serta dukungan hingga terselesaikannya tugas akhir ini.
6. Semua teman-teman di jurusan Kimia dan segenap pihak atas doa dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu dengan kerendahan hati, penulis mengharap kritik dan saran guna perbaikan dan penyempurnaannya sehingga dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, Agustus 2011

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Formalin.....	4
2.2 Turunan Dihidropiridin.....	5
2.3 Reaksi <i>Hantzsch</i>	6
2.4 Asetoasetanilida	8
2.5 Mekanisme Reaksi <i>Hantzsch</i>	8
2.6 Amonium Hidroksida.....	10
2.7 Spektrofotometri	10
2.8 Kinerja Metode	12
2.8.1 Linieritas	12
2.8.2 Limit deteksi	13
2.8.3 Ketelitian dan ketepatan.....	13
2.9 Hipotesis	13

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.2 Bahan Penelitian	15

3.3	Alat Penelitian.....	15
3.4	Tahapan Penelitian.....	15
3.5	Cara Kerja.....	16
3.5.1	Preparasi larutan.....	16
3.5.2	Penentuan panjang gelombang maksimum turunan dihidropiridin.....	17
3.5.3	Penentuan pengaruh konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida.....	17
3.5.4	Kinerja metode.....	18
3.5.5	Perhitungan persamaan regresi dan koefisien korelasi.....	19
3.5.6	Perhitungan rata-rata nilai.....	20
3.5.7	Perhitungan standar deviasi.....	20
3.5.8	Perhitungan limit deteksi.....	20
3.5.9	Penentuan ketelitian dan ketepatan.....	21
3.6	Analisis Data.....	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1.	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	25
4.2	Optimasi Konsentrasi Asetoasetanilida.....	26
4.3	Optimasi Konsentrasi Amonium Hidroksida.....	28
4.4	Kinerja Metode Reaksi <i>Hantzsch</i>	29
4.4.1	Linearitas.....	29
4.4.2	Limit deteksi.....	30
4.4.3	Ketelitian dan ketepatan.....	31
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1.	Kesimpulan.....	33
5.2.	Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA.....		34
LAMPIRAN.....		38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Struktur turunan 1,4-dihidropiridin5
Gambar 2.2	Spektra dan kurva kalibrasi untuk penentuan formaldehida pada rentang konsentrasi 1-10 x 10 ⁻⁶ M6
Gambar 2.3	Reaksi <i>Hantzsch</i> secara umum6
Gambar 2.4	Struktur asetoasetanilida 8
Gambar 2.5	Pembentukan 1,3-dikarbonil..... 9
Gambar 2.6	Pembentukan ester enamin9
Gambar 2.7	Pembentukan 1,4-dihidropiridin 10
Gambar 2.8	Tingkatan energi elektronik dan transisi.....11
Gambar 4.1	Mekanisme reaksi <i>Hantzsch</i> menggunakan asetoasetanilida..... 24
Gambar 4.2	Grafik hubungan antara panjang gelombang dengan absorbansi turunan dihidropiridin 26
Gambar 4.3	Grafik hubungan antara konsentrasi asetoasetanilida dengan absorbansi turunan dihidropiridin 27
Gambar 4.4	Grafik hubungan antara konsentrasi amonium hidroksida dengan absorbansi turunan dihidropiridin 29
Gambar 4.5	Grafik rentang konsentrasi linear..... 30

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Beberapa turunan β -diketon dan nilai absorptivitas molar produknya.....7
Tabel 3.1	Perbandingan komposisi larutan standar formalin18
Tabel 4.1	Hasil pengukuran larutan formalin 3 ppm.....31
Tabel L.2.1	Data panjang gelombang maksimum vs absorbansi 41
Tabel L.2.2	Data absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi asetoasetanilida41
Tabel L.2.3	Data absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi amonium hidroksida42
Tabel L.2.4	Data linearitas42
Tabel L.2.5	Data absorbansi blanko.....42
Tabel L.3.1	Data perhitungan koefisien korelasi43
Tabel L.3.2	Data perhitungan persamaan regresi.....44
Tabel L.3.3	Data absorbansi blanko 45
Tabel L.3.4	Data penentuan ketelitian dan ketepatan46
Tabel L.4.1.1	Data absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi asetoasetanilida48
Tabel L.4.1.2	Data kuadrat absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi asetoasetanilida 48
Tabel L.4.1.3	Data kuadrat total absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi asetoasetanilida..... 49
Tabel L.4.1.4	Analisis ragam satu arah 51
Tabel L.4.1.5	Hasil uji BNT 52
Tabel L.4.2.1	Data absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi amonium hidroksida53
Tabel L.4.2.2	Data kuadrat absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi amonium hidroksida... 53
Tabel L.4.2.3	Data kuadrat total absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi amonium hidroksida55
Tabel L.4.2.4	Analisis ragam satu arah56
Tabel L.4.2.5	Hasil uji BNT57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Perhitungan dan Preparasi Larutan38
Lampiran 2	Data Hasil Penelitian41
Lampiran 3	Perhitungan Linearitas, LOD (<i>Limit of Detection</i>), Ketelitian dan Ketepatan serta absorptivitas molar43
Lampiran 4	Uji Statistik Penentuan Pengaruh Konsentrasi Asetoasetanilida dan Amonium Hidroksida Terhadap Turunan Dihidropiridin.....48



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan (MenKes) Nomor 1168/MenKes/PER/X/1999, formalin merupakan bahan kimia yang penggunaannya dilarang untuk produk makanan (Nuryasin, 2006). Jika formalin terkonsumsi dalam jangka pendek tidak menyebabkan keracunan, tetapi jika tertimbun di atas ambang batas dapat mengganggu kesehatan. Ambang batas yang aman adalah 1 mg/L (Kompas, 2005). Jika formalin terkonsumsi dalam jangka panjang, dapat terjadi kerusakan hati, ginjal, limpa, pankreas, dan otak. Keracunan akut formalin dapat menimbulkan vertigo dan perasaan mual dan muntah (Maulany, 2006). Selain itu formalin dapat membentuk mutasi gen karena kemampuannya bereaksi dengan makromolekul seperti DNA, RNA, dan protein sehingga dapat menimbulkan kanker, terutama kanker hidung dan tenggorokan (WHO, 2001).

Pada awalnya metode penentuan formalin beberapa di antaranya didasari oleh reaksi *Hantzsch* (Nash, 1953). Pada metode ini dilakukan analisis HCHO secara kolorimetri yaitu dengan mereaksikan HCHO dengan asetilaseton dalam amonia untuk membentuk produk berwarna kuning (3,5-diasetil-1,4-dihidrolutidina (DDL)). Namun, metode ini membutuhkan temperatur yang cukup tinggi sekitar 70-90° C untuk mencapai sensitivitas sampai level sub ppb. Belman (1963) menemukan metode fluorometri yang mampu mengukur formaldehida pada level 1 µg^L tetapi metode ini membutuhkan banyak waktu dan temperatur tinggi. Pada tahun 1968, Sawicki dan Carnes mengusulkan reagen untuk mendeteksi formaldehida secara fluourometri yaitu 5,5-dimetil-1,3-sikloheksanadiona (dimedone) dan 1,3-sikloheksanadiona (CHD). Kedua reagen ini mempunyai sensitivitas tinggi untuk mendeteksi HCHO tetapi reaksinya membutuhkan temperatur tinggi dan terlebih lagi CHD dapat bereaksi positif dengan H₂O₂ (Luke, 2005). Metode standar lain yang digunakan adalah spektrofotometri. Pemeriksaan formalin secara kualitatif dapat dilakukan dengan menambahkan asam kromotropat dalam asam sulfat pekat dengan pemanasan 95^oC

selama 15 menit akan terbentuk produk berwarna ungu (Helrich, 1990). Namun, metode ini juga berlangsung pada temperatur tinggi.

Metode penentuan formalin yang sudah dijelaskan masih mempunyai kelemahan yaitu memerlukan banyak waktu, temperatur tinggi dan masih kurang selektif. Oleh karena itu diperlukan suatu metode penentuan formalin yang tidak membutuhkan banyak waktu, bereaksi pada temperatur ruang dan mempunyai selektivitas yang tinggi. Menurut penelitian (Li *et al.*, 2007) terdapat suatu reagen baru berdasarkan reaksi *Hantzsch* yang dapat bereaksi tanpa pemanasan yaitu asetoasetanilida. Asetoasetanilida merupakan salah satu turunan β -diketon selain asetilaseton yang akan bereaksi dengan formaldehida dalam amonia membentuk produk reaksi *Hantzsch* yaitu turunan dihidropiridin. Asetoasetanilida memiliki nilai absorptivitas molar produk tertinggi di antara turunan β -diketon lainnya pada temperatur 25°C yaitu $6100 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ sehingga penggunaan asetoasetanilida dalam penentuan formalin tidak membutuhkan banyak waktu dan temperatur yang tinggi (Li *et al.*, 2008). Penggunaan asetoasetanilida juga memberikan selektivitas yang tinggi, asetoasetanilida tidak akan bereaksi positif dengan aldehida yang lain seperti asetaldehida dan benzaldehida. Selain itu turunan dihidropiridin yang terbentuk dapat dideteksi secara spektrofotometri dan fluorometri (Li *et al.*, 2007).

Berdasarkan penelitian Ihsan (2011) reaksi *Hantzsch* berlangsung optimum pada pH 7 selama 15 menit untuk membentuk suatu produk yaitu turunan dihidropiridin. Namun, konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida belum ditentukan kondisi optimum. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan optimasi konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida secara spektrofotometri lembayung ultra untuk mengetahui pengaruh pada pembentukan turunan dihidropiridin. Asetoasetanilida dan amonium hidroksida merupakan reaktan pada reaksi *Hantzsch*. Selain sebagai reaktan, amonium hidroksida merupakan katalis pada reaksi *Hantzsch*. Oleh karena itu, dilakukan optimasi konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida untuk menentukan jumlah mol yang dibutuhkan menghasilkan turunan dihidropiridin yang optimum. Apabila kondisi optimum sudah dicapai, maka perlu dilakukan uji kinerja metode yang meliputi linearitas, limit deteksi, ketelitian dan ketepatan.

1.2 Perumusan Masalah

1. Bagaimanakah pengaruh konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida pada penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* secara spektrofotometri lembayung ultra?
2. Bagaimanakah kinerja metode penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* secara spektrofotometri lembayung ultra?

1.3 Batasan Masalah

1. Variasi konsentrasi asetoasetanilida yang digunakan antara lain 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08 M.
2. Variasi konsentrasi amonium hidroksida yang digunakan antara lain 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 M.
3. pH reaksi yang digunakan adalah pH 7.
4. Waktu reaksi yang digunakan adalah selama 15 menit.

1.4 Tujuan

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida pada penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* secara spektrofotometri lembayung ultra.
2. Mengetahui kinerja metode penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* secara spektrofotometri lembayung ultra yang meliputi linearitas, limit deteksi, ketelitian dan ketepatan.

1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang metode alternatif untuk penentuan formalin.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Formalin

Formaldehida memiliki rumus molekul HCHO , berupa senyawa tak berwarna, larut dalam air dan alkohol, mudah terbakar, dan merupakan gas berbau tajam. Mempunyai titik didih -19°C dan titik beku -118°C (Sax and Lewis, 1987). Formalin merupakan nama umum dari larutan formaldehida 37 % dalam air dengan tambahan 10-15 % metanol sebagai pencegah polimerisasi. Formalin biasanya digunakan dalam industri fungisida, germisida, dan desinfektan, serta sebagai pengawet jaringan dan organ makhluk hidup untuk keperluan medis (IARC, 2004). Formalin mempunyai titik didih 96°C dan *flash point* 50°C (Sax and Lewis, 1987).

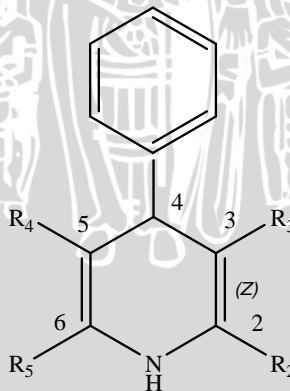
Menurut EPA (1999), konsentrasi terendah formaldehida yang dapat mematikan manusia jika masuk ke dalam sistem pencernaan adalah 108 mg/kilogram berat badan, sedangkan dosis maksimum formaldehida yang aman jika dikonsumsi adalah 0,2 mg/kilogram berat badan/hari. Formaldehida mudah masuk ke dalam tubuh melalui konsumsi makanan yang diawetkan dengan formalin. Hasil uji Badan POM (2006) di Jakarta menunjukkan kandungan formalin pada makanan sebagai berikut : ikan asin 5,86-40,18 ppm, tahu 3,12-107,36 ppm, mi basah 168,37-413,84 ppm, mi keriting 50,36 ppm, mi ayam super 4,06-10 ppm, kwe tiaw 3,1 ppm.

Pada reaksi formaldehida dengan protein, yang pertama kali diserang adalah gugus amina pada lisin diantara gugus-gugus polar dari peptida. Formaldehida selain mengikat gugus amina pada lisin juga menyerang residu tirosin dan histidin. Pengikatan formaldehida pada gugus amina dari lisin berjalan lambat merupakan reaksi yang searah (Cahyadi, 2006). Menurut penelitian Hernandez *et al.* (2004) memperlihatkan formaldehida selain berikatan dengan protein akan membentuk ikatan silang dengan asam amino seperti sistein, tirosin, histidin, triptofan dan arginin dengan adanya gugus amin dari lisin. Akibatnya, fungsi protein enzim, maupun fungsi RNA dalam sintesis protein akan terganggu sehingga data informasi genetik juga akan menjadi rusak.

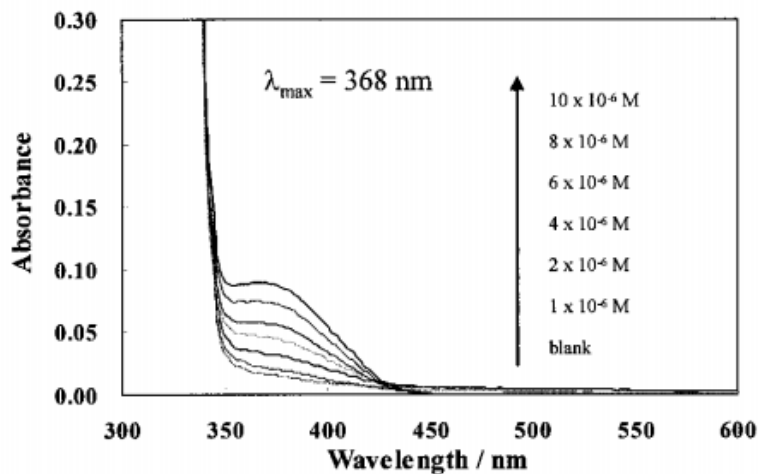
2.2 Turunan Dihidropiridin

Turunan dihidropiridin merupakan produk reaksi *Hantzsch* yang merupakan reaksi antara suatu aldehid, amonia, dan β -diketon siklik. Turunan dihidropiridin yang dihasilkan merupakan suatu senyawa 1,4-dihidropiridin. 1,4-dihidropiridin merupakan senyawa aromatik yang mempunyai atom N pada posisi pertama yang jenuh terhadap posisi 1 dan 4. Gambar 2.1 merupakan struktur dari 1,4-dihidropiridin. Cincin 1,4-dihidropiridin merupakan karakteristik dasar dari reaktifitas senyawa ini, cincin tidak jenuh akan menurunkan reaktifitas, substitusi pada N atau oksidasi (piperidin) atau reduksi (piridin) akan menurunkan reaktifitas, ester pada posisi C₃ dan C₅ adalah tidak identik, C₅ lebih stereo selektif dan kiral di antara enantiomer yang telah diteliti, substitusi alkil non-planar dan alkil siklik akan menurunkan reaktifitas, substitusi cincin fenil pada C₄ mempunyai aktifitas yang optimum dan senyawa dengan substituen orto dan para mempunyai aktifitas yang optimum jika substituen para menunjukkan penurunan aktifitas yang berhubungan dengan elektron dan pengaruh sterik (Swarnalatha *et al.*, 2011).

Spektra dan kurva kalibrasi turunan dihidropiridin dapat ditunjukkan oleh Gambar 2.2. Intensitas serapan turunan dihidropiridin meningkat dengan adanya formaldehida. Gambar 2.2 menunjukkan serapan maksimum dari turunan dihidropiridin adalah pada panjang gelombang 368 nm (Li *et al.*, 2007).



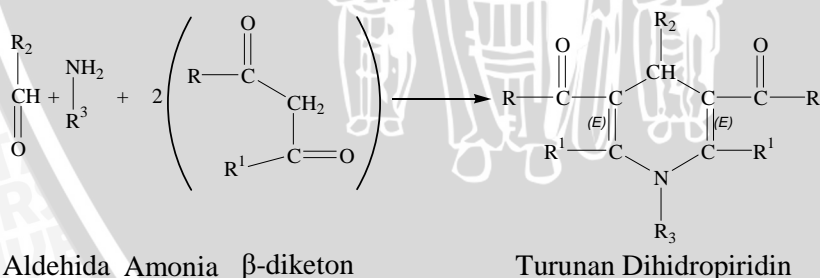
Gambar 2.1 Struktur 1-4-dihidropiridin



Gambar 2.2 Spektre dan kurva kalibrasi untuk penentuan formaldehida pada rentang konsentrasi $1-10 \times 10^{-6}$ M

2.3 Reaksi *Hantzsch*

Reaksi *Hantzsch* merupakan jenis reaksi kondensasi Knoevenagel dengan katalis berupa amonia, turunan dan garam amonium. Reaksi *Hantzsch* ditemukan oleh Beyer dan setelah itu dilanjutkan oleh Knoevenagel dengan menggunakan senyawa 1,3-dikarbonil dan senyawa amino karbonil untuk menghasilkan produk reaksi *Hantzsch* DHP (dihidropiridin) (Saini *et al.*, 2007). Reaksi *Hantzsch* secara umum ditunjukkan oleh Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Reaksi *Hantzsch* secara umum

Metode penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* dapat mendeteksi sampai sub-ppb (*part per billion*) level. Pada tahun 1953, pertama kalinya, T.Nash, seorang ilmuwan dari *Air Hygiene Laboratory, Public Health Laboratory Service, London* menggunakan reaksi *Hantzsch* untuk mendeteksi formaldehida. Dengan mereaksikan asetilaseton dari golongan β -diketon, amonium asetat dari golongan amonia, dan formaldehida terbentuk senyawa diasetildihidrolutidina yang berwarna kuning. Reaksi Nash ini memerlukan temperatur yang relatif tinggi yaitu 70-90°C untuk mencapai sensitivitas sampai sub ppb level (dengan *flow injection method*) (Nash, 1953).

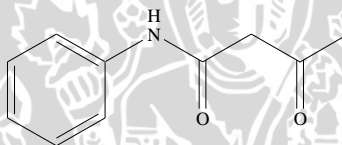
Selain asetilaseton terdapat beberapa turunan β -diketon lain yang juga mampu bereaksi dengan formaldehida menurut reaksi *Hantzsch*. Tabel 2.1 menunjukkan beberapa turunan β -diketon dan nilai absorptivitas molar produk reaksinya (Li *et al.*, 2008). Berdasarkan Tabel 2.1, absorptivitas molar tertinggi dimiliki oleh produk reaksi metil asetoasetat yaitu sebesar $7,8 \times 10^3 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ pada temperatur reaksi 60°C sedangkan pada temperatur kamar 25°C, produk reaksi asetoasetanilida memiliki absorptivitas molar paling besar yaitu $6100 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, sehingga pada penelitian ini digunakan asetoasetanilida karena mempunyai nilai absorptivitas yang tinggi pada temperatur ruang.

Tabel 2.1 Beberapa turunan β -diketon dan nilai absorptivitas molar produknya

Reagen	$\epsilon \text{ (dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{)}$		$\lambda \text{ max (nm)}$
	25 °C	60 °C	
Metil Asetoasetat	5000	7800	372
Etil Asetoasetat	3000	5500	376
n-Propil asetoasetat	600	1800	354
n-Amil asetoasetat	400	1000	355
Asam malonat	–	–	–
Dimetil malonat	250	800	280
Asetilaseton	2000	6600	412
Asetoasetanilida	6100	4600	368

2.4 Asetoasetanilida

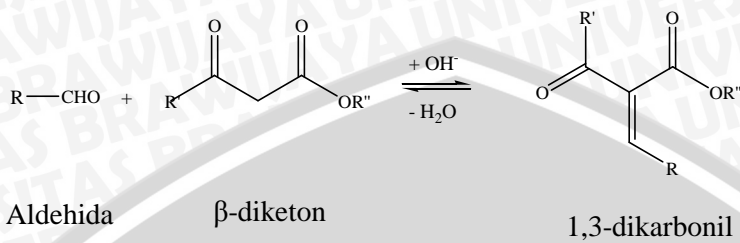
Asetoasetanilida mempunyai rumus molekul $C_{10}H_{11}NO_2$ dan nama IUPAC adalah 3-Okso-N-fenil butamida. Asetoasetanilida merupakan padatan putih dengan kemurnian sebesar 99% dan mempunyai berat molekul 177,20 g/mol. Asetoasetanilida larut dalam sodium hidroksida, alkohol, ether, asam, kloroform, dan benzena. Sedangkan kelarutan asetasetanilida dalam air sebesar 8,375-10,000 mg/L. Titik didih, titik leleh, densitas dan tekanan uap dari asetasetanilida adalah $83-85^{\circ}C$; $>400^{\circ}C$; 1.26 g/cc at $20^{\circ}C$; 0.001 kPa at $20^{\circ}C$. Walaupun pH asetasetanilida dalam air belum ditentukan namun pH dari asetasetanilida mendekati pH 7. Asetasetanilida dapat disintesis dengan mereaksikan anilin dan diketon. Dalam kehidupan sehari-hari asetasetanilida digunakan sebagai zat warna pabrik. Gambar 2.4 merupakan struktur dari asetasetanilida (Carlo Erba Reagents, 2009).



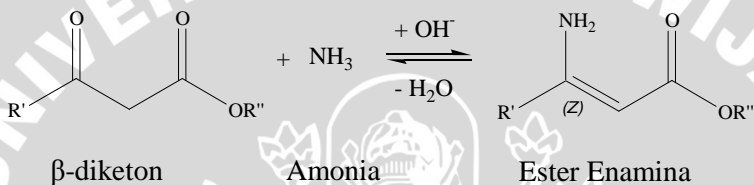
Gambar 2.4 Struktur Asetoasetanilida

2.5 Mekanisme Reaksi *Hantzsch*

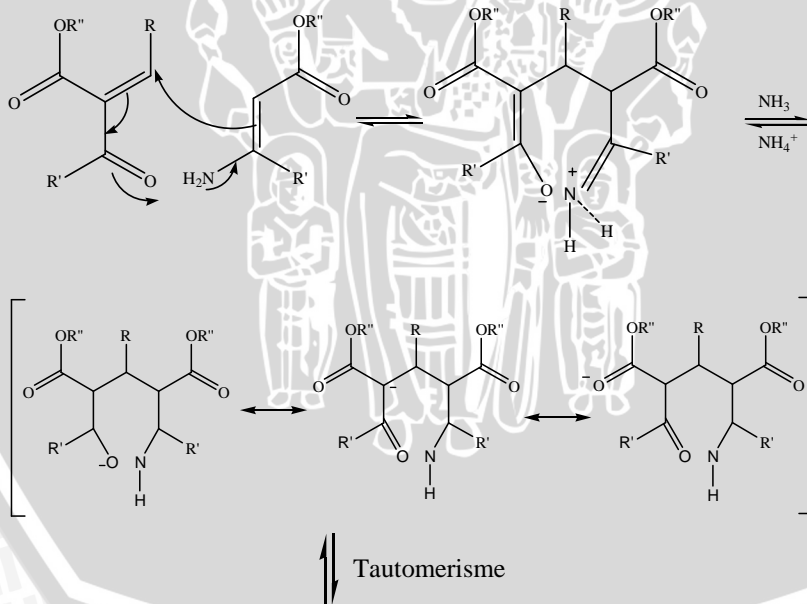
Langkah pertama pada reaksi *Hantzsch* berdasarkan kondensasi Knoevenagel menghasilkan senyawa 1,3-dikarbonil (Gambar 2.5) yang merupakan produk intermediet 1. Senyawa 1,3-dikarbonil merupakan produk reaksi antara formaldehida dan β -diketon. Kemudian reaksi *Hantzsch* dilanjutkan oleh ester enamina atau produk intermediet 2 (Gambar 2.6) yang berasal dari reaksi senyawa metilen aktif jenis etil asetoasetat atau diketon dengan amonia (Saini *et al.*, 2007). Selanjutnya kedua produk intermediet ini akan mengalami kondensasi membentuk turunan dihidropiridin (Gambar 2.7) (Corey *et al.*, 2009)

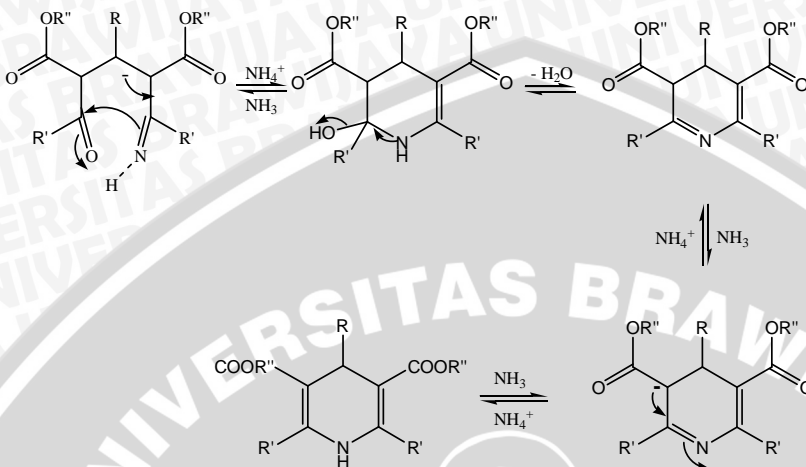


Gambar 2.5 Pembentukan 1,3-dikarbonil



Gambar 2.6 Pembentukan Ester enamina





1,4-dihidropiridin

Gambar 2.7 Pembentukan 1,4-dihidropiridin

2.6 Amonium Hidroksida

Amonium hidroksida merupakan larutan amonia dalam air dengan komposisi air 70-75 % dan amonia 25-30 %. Amonium hidroksida berbentuk cairan tidak berwarna dengan pH 13,6 , titik didih 27°C , titik leleh -60°C , densitas 0,91 g/mL dan berat molekul 35,04 g/mol (Fisher Scientific, 2008).

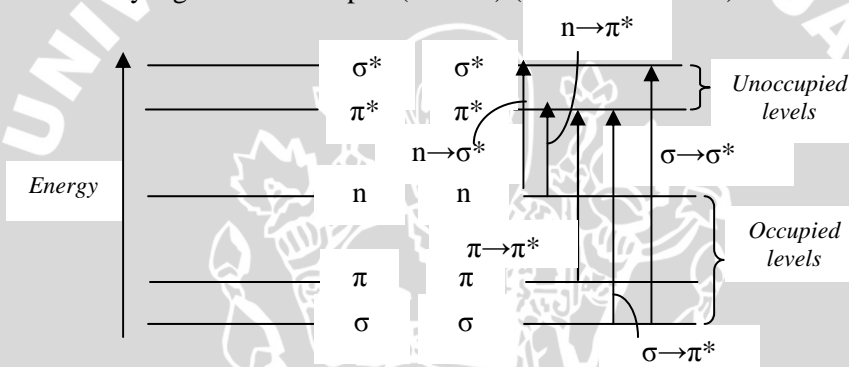
Amonia atau amonium hidroksida merupakan salah satu reaktan pada reaksi *Hantzsch*. Amonia seringkali berfungsi untuk menyediakan komponen nitrogen pada pembentukan 1,4-dihidropiridin. Amonia akan bereaksi dengan turunan β -diketon untuk membentuk suatu amina primer maupun amina sekunder. Selain itu sebagai reaktan, amonia juga berfungsi sebagai katalis pada reaksi *Hantzsch* (Saini *et al.*, 2007).

2.7 Spektrofotometri

Serapan molekul di dalam daerah ultra lembayung dan tampak bergantung pada struktur elektronik dari molekul. Penyerapan sejumlah energi, menghasilkan eksitasi elektron dari orbital tingkat dasar ke orbital yang berenergi lebih tinggi di dalam keadaan

terekstisasi. Dalam praktek, spektrofotometri ultra lembayung untuk sebagian besar dibatasi pada sistem terkonjugasi (Silverstein *et al.*, 2005).

Serapan khas dari molekul organik di dalam daerah lembayung ultra bergantung pada transisi elektronik yang dapat terjadi dan akibat lingkungan dari atom atas transisi. Gambar 2.8 menunjukkan tingkatan energi elektronik dan transisinya. Sebuah molekul yang menyerap energi, elektron akan dipromosikan dari suatu orbital yang berpasangan menuju suatu orbital yang tidak berpasangan. Pada umumnya transisi yang paling mungkin terjadi dari orbital molekul yang menempati (HOMO) menuju orbital molekul yang tidak menempati (LUMO) (Pavia *et al.*, 1996).



Gambar 2.8 Tingkatan energi elektronik dan transisi

Panjang gelombang serapan tergantung pada kekuatan elektron yang terikat pada molekul tersebut (Daintith, 1994). Pada sistem terkonjugasi, orbital π dari masing-masing ikatan rangkap berinteraksi membentuk suatu perangkat baru orbital ikatan dan orbital anti ikatan. Bila sistem terkonjugasi dalam molekul makin panjang (melibatkan lebih banyak atom yang berikatan π), perbedaan energi antara keadaan dasar dan keadaan tereksitasi untuk transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ makin kecil dan absorpsi akan terjadi pada panjang gelombang yang lebih besar (Cresswell and Campbell, 1982).

Pemilihan suatu pelarut yang akan digunakan pada spektrofotometri ultra lembayung adalah sangat penting. Suatu pelarut harus memenuhi kriteria yaitu pelarut tidak menyerap radiasi ultra lembayung pada daerah yang sama dengan spektrum yang akan

ditentukan, pelarut memiliki pengaruh yang baik pada pita serapan suatu struktur senyawa dan mempunyai kemampuan untuk mempengaruhi panjang gelombang cahaya ultra lembayung yang akan menyerap melalui stabilisasi dari keadaan dasar dan tereksitasi (Pavia *et al.*, 1996). Pelarut yang banyak digunakan untuk spektrofotometri ultra lembayung adalah etanol 90% karena kebanyakan golongan senyawa larut dalam pelarut tersebut. Pelarut lain yang sering digunakan adalah air, metanol, heksana, ester, minyak bumi dan eter. Pelarut seperti kloroform dan piridin, umumnya harus dihindari karena menyerap kuat pada panjang gelombang 200-260 nm (Harbone, 1994).

Menurut hukum Lambert dapat diketahui bahwa absorbansi (A) adalah anti logaritma dari transmitasi (T) (Mulja dan Syahrani, 1989):

$$A = -\log T = \log 1/T = \log I_0/I_1 \quad \dots(2.1)$$

Penggabungan antara hukum Beer dan hukum Lambert menyatakan hubungan antara intensitas sinar yang diteruskan dengan konsentrasi suatu zat yang diamati dalam larutan (Mulja dan Syahrani, 1989) :

$$A = -\log T = \log 1/T = \epsilon b c \quad \dots(2.2)$$

Dimana ϵ : koefisien ekstingsi molar

b : tebal kuvet

c : Konsentrasi

2.8 Kinerja Metode

2.8.1 Linearitas

Linearitas suatu prosedur analisis merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk memberikan hasil yang sebanding dengan konsentrasi (jumlah analat) di dalam contoh. Linearitas dapat dikatakan baik apabila nilai koefisien korelasi (r) ≥ 0.9995 (AOAC 1993). Apabila suatu kisaran konsentrasi memberikan linearitas yang baik maka kisaran konsentrasi tersebut berarti telah memenuhi hukum Lambert-Beer. Konsentrasi contoh yang akan dianalisis untuk akurasi harus di dalam kisaran konsentrasi yang memiliki linearitas

yang baik, sedangkan apabila suatu kisaran konsentrasi memberikan hasil yang tidak linier, maka kisaran konsentrasi harus direduksi sehingga menghasilkan kisaran konsentrasi yang memberikan linearitas yang baik (Chan *et al.*, 2004).

2.8.2 Limit deteksi

Menurut *The International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) limit deteksi menunjukkan sebagai konsentrasi atau kuantitas terkecil yang diperoleh dengan pengukuran yang dapat dideteksi dengan pasti untuk suatu metode analisis (Thomsen *et al.*, 2003). Definisi lain dari limit deteksi adalah konsentrasi terendah dari analit yang menghasilkan respons yang dapat terdeteksi di atas *noise*, umumnya tiga kali dari *noise* (Green, 1996).

2.8.3 Ketelitian dan ketepatan

Ketelitian adalah kedekatan hasil dari beberapa pengukuran yang biasanya dinyatakan dalam standar deviasi (Day dan Underwood, 1996). Ketelitian dari hasil pengukuran dapat dilihat dari harga deviasi rata-rata atau kesalahan relatifnya, dimana semakin kecilnya presentase kesalahan relatifnya maka ketelitian semakin besar, demikian pula sebaliknya (Svehla, 1985). Sedangkan ketepatan menunjukkan kedekatan nilai yang sebenarnya dan nilai yang terukur. Analisis kimia dari suatu sampel dapat dikatakan tepat jika nilai yang diperoleh dekat dengan nilai absolut atau nilai yang sebenarnya. Ketepatan biasanya dilaporkan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) yang diharapkan berada pada selang 80-110% (AOAC, 1993).

2.9 Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka tersebut, hipotesis yang dapat disusun antara lain :

1. Penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* secara spektrofotometri lembayung ultra dipengaruhi oleh konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida. Semakin banyak jumlah mol asetoasetanilida dan amonium hidroksida maka turunan dihidropiridin yang terbentuk juga semakin banyak.

2. Kinerja metode penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* secara spektrofotometri lembayung ultra mempunyai linearitas yang baik, limit deteksi yang kecil, ketelitian dan ketepatan yang tinggi.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan mulai Januari sampai Maret 2011 di Laboratorium Kimia Analitik dan Kimia Instrumentasi Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bahan kimia pro analisis (p.a) yaitu asetoasetanilida (b/b) (Wako Pure Chemicals, Osaka), amonium hidroksida 25 % (b/v) (Merck KGaA, Jerman), formalin 35 % (b/v) (Merck KGaA, Jerman), etanol 96 % (b/v), asam klorida 37 % (b/v) (SAP Kemika) dan akuades.

3.3 Alat Penelitian

Alat-alat yang diperlukan antara lain: pH meter (Orion), neraca analitik (Ohaus model Adventurer AR 2130), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu model 1601), pengaduk magnet (Ikamag), statif, klem, botol sampel, sendok takar, karet hisap, glass plate, stopwatch, kertas lilin, kertas saring, pipet mikro (Eppendorf), serta peralatan gelas dan plastik.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Preparasi Larutan
 - a. Pembuatan larutan induk asetoasetanilida 0,2 M
 - b. Pembuatan larutan induk formaldehida 1000 ppm
 - c. Pembuatan larutan amonium hidroksida 0,5; 1,0; 1,5; 1,0; 2,5 M
 - d. Pembuatan larutan etanol 70 %
 - e. Pembuatan larutan HCl 4; 1; 0,1; 0,01M
2. Penentuan panjang gelombang maksimum turunan dihidropiridin.

3. Penentuan pengaruh konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida.
4. Kinerja metode penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* secara spektrofotometri.

3.5 Cara Kerja Penelitian

3.5.1 Preparasi larutan

3.5.1.1 Pembuatan larutan induk asetoasetanilida 0,2 M

Asetoasetanilida dilarutkan sebanyak 1,772 g dalam 25 mL etanol 70 % di gelas kimia, kemudian diencerkan dalam labu takar 50 mL dan ditambah akuades hingga tanda batas.

3.5.1.2 Pembuatan larutan induk formalin 1000 ppm

Formalin 37 % dipipet sebanyak 247,9 μL ke dalam labu takar 100 mL, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas.

3.5.1.3 Pembuatan larutan amonium hidroksida

Pembuatan larutan amonium hidroksida 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 M dilakukan dengan cara memipet amonia pekat 25 % sebanyak 3,8; 7,7; 11,5; 15,4; 19,2 mL ke dalam labu takar 50 mL, kemudian ditambahkan dengan akuades sampai tanda batas.

3.5.1.4 Pembuatan larutan etanol 70 %

Etanol 96 % dipipet sebanyak 36,46 mL ke dalam labu takar 50 mL, kemudian ditambahkan dengan akuades sampai tanda batas.

3.5.1.6 Pembuatan larutan HCl 0,01; 0,1; 1; 4 M

Pembuatan larutan HCl 0,01; 0,1; 1; 4 M dilakukan dengan cara memipet larutan HCl 37 % sebanyak 0,04; 0,4; 4,1; 16,6 mL ke dalam labu takar 50 mL, lalu ditambahkan dengan akuades sampai tanda batas.

3.5.2 Penentuan panjang gelombang maksimum turunan dihidropiridin

Larutan formalin 100 ppm dipipet sebanyak 2 mL ke dalam botol sampel, kemudian ditambahkan 2 mL amonium hidroksida 2 M ditambahkan dan 4 mL asetoasetanilida 0,01 M. Larutan campuran ini kemudian dikondisikan pada pH 7 menggunakan larutan HCl sambil dilakukan dengan pengadukan. Larutan blanko diperlakukan sama seperti larutan sampel formalin tetapi 2 mL larutan formalin diganti dengan 2 mL akuades. Kemudian larutan blanko dan larutan formalin didiamkan selama 15 menit dan diencerkan ke labu ukur 25 mL. Pengukuran panjang gelombang maksimum turunan dihidropiridin pada rentang 310-400 nm.

3.5.3 Penentuan pengaruh konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida.

3.5.3.1 Pengaruh konsentrasi asetoasetanilida

Pada optimasi konsentrasi asetoasetanilida ini dilakukan yaitu pembuatan larutan asetoasetanilida berbagai konsentrasi yaitu 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; dan 0,08 M. Masing-masing larutan asetoasetanilida yang telah dibuat dimasukkan sebanyak 4 mL ke botol sampel yang sudah ditambahkan 2 mL formalin 100 ppm dan 2 mL amonium hidroksida 2 M. Prosedur selanjutnya sama dengan prosedur pada percobaan 3.5.2. Namun larutan campuran ini diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (berdasarkan hasil percobaan 3.5.2). Konsentrasi asetoasetanilida yang menghasilkan absorbansi paling tinggi merupakan konsentrasi optimum asetoasetanilida.

3.5.3.2 Pengaruh konsentrasi amonium hidroksida

Pada optimasi konsentrasi reagen amonium hidroksida ini dilakukan pembuatan larutan amonium hidroksida berbagai konsentrasi yaitu 0,50; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5 M. Masing-masing larutan amonium hidroksida yang telah dibuat dimasukkan sebanyak 2 mL ke botol sampel yang sudah ditambahkan 2 mL formalin 100 ppm dan 4 mL asetoasetanilida (berdasarkan hasil optimasi konsentrasi asetoasetanilida). Prosedur selanjutnya sama dengan

prosedur pada percobaan 3.5.2. Larutan campuran ini diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (berdasarkan hasil percobaan 3.5.2). Konsentrasi amonium hidroksida yang menghasilkan absorbansi paling besar merupakan konsentrasi optimum amonium hidroksida.

3.5.4 Kinerja metode

3.5.4.1 Linearitas

Penentuan linearitas metode reaksi *Hantzsch* dilakukan dengan membuat larutan formalin berbagai konsentrasi. Larutan induk formalin yang digunakan adalah larutan formalin 500 ppm yang diencerkan dengan memipet 25 mL larutan formalin 1000 ppm ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas. Larutan tersebut kemudian dipipet ke dalam 6 labu ukur 50 mL sesuai Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Perbandingan komposisi rentang konsentrasi linear

Larutan	Volume 500 ppm HCHO (mL)	Konsentrasi HCHO akhir (ppm)	Konsentrasi HCHO terukur (ppm)
1	0,63	6,25	0,5
2	1,25	12,5	1,0
3	2,5	25	2,0
4	5	50	4,0
5	10	100	8,0
6	20	200	16,0

Larutan formalin yang sudah dibuat dipipet sebanyak 2 mL ke botol sampel yang berbeda. Kemudian ditambahkan 4 mL asetoasetanilida (berdasarkan hasil optimasi konsentrasi asetoasetanilida) dan 2 mL amonium hidroksida (berdasarkan hasil optimasi konsentrasi amonium hidroksida). Prosedur selanjutnya sama dengan prosedur pada percobaan 3.5.2. Larutan campuran ini diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (berdasarkan hasil percobaan 3.5.2) dengan pengulangan sebanyak 3 kali.

3.5.4.2 LOD formalin

LOD formalin ditentukan dengan cara mengukur serapan dari akuades (larutan blanko) yang direaksikan dengan asetoasetanilida dan amonium hidroksida. Akuades dipipet sebanyak 2 mL dan ditambahkan 4 mL asetoasetanilida (berdasarkan hasil optimasi konsentrasi asetoasetanilida) dan 2 mL amonium hidroksida (berdasarkan hasil optimasi konsentrasi amonium hidroksida). Prosedur selanjutnya sama dengan prosedur pada percobaan 3.5.2. Larutan campuran ini diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (berdasarkan hasil percobaan 3.5.2) dengan pengulangan sebanyak 3 kali.

3.5.4.3 Penentuan ketelitian dan ketepatan

Penentuan ketelitian dan ketepatan dari metode reaksi *Hantzsch* dilakukan dengan cara mengukur larutan formalin 3 ppm. Larutan formalin 3 ppm ini dibuat dengan cara memipet 9,4 mL dari larutan formalin 100 ppm. Larutan campuran ini kemudian diencerkan ke dalam labu ukur 25 mL. Untuk pengukuran larutan sampel dilakukan berdasarkan percobaan 3.5.4

3.5.5 Perhitungan persamaan regresi linier dan koefisien korelasi

Persamaan regresi linier digunakan untuk membuat kurva kalibrasi formalin. Secara umum bentuk persamaan regresi linier adalah $y=ax+b$, dimana y adalah absorbansi, dan x adalah konsentrasi formalin yang terukur. Nilai koefisien a dan b dihitung dengan persamaan 3.1 dan 3.2

$$a = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2} \quad \dots (3.1)$$

$$b = \bar{y}_i - a \bar{x}_i \quad \dots (3.2)$$

sedangkan koefisien korelasi ditentukan dengan persamaan 3.3.

$$r = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i}{\sqrt{n \sum_{i=1}^n x_i^2 \cdot n \sum_{i=1}^n y_i^2}} \quad \dots (3.3)$$

3.5.6 Perhitungan rata-rata nilai

Dari beberapa pengulangan yang telah dilakukan, dapat ditentukan nilai rata-rata dari hasil yang diperoleh dengan menggunakan rumus 3.4. \bar{x} adalah rata-rata nilai, x_1, x_2, x_3, \dots adalah nilai hasil yang diperoleh dan n adalah pengulangan yang dilakukan.

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots}{n} \quad \dots (3.4)$$

3.5.7 Perhitungan standar deviasi

Untuk mengetahui ketelitian dari data-data yang telah diperoleh dapat dihitung menggunakan standar deviasi dengan rumus 3.5. SD adalah standar deviasi, N adalah pengulangan yang dilakukan, x_i adalah nilai hasil yang diperoleh dan \bar{x} adalah rata-rata nilai.

$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \\ &= \sqrt{\frac{((x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_i - \bar{x})^2)}{N-1}} \quad \dots(3.5) \end{aligned}$$

3.6.4 Perhitungan Limit Deteksi (LOD)

Limit deteksi (LOD) dihitung dengan menggunakan persamaan 3.6.

$$(S_A)_{LOD} = S_{reag} + z\sigma_{reag} \quad \dots(3.6)$$

$(S_A)_{LOD}$ yang diperoleh kemudian diplotkan kedalam persamaan regresi linear kurva kalibrasi formalin yang diperoleh sehingga didapatkan nilai LOD formalin dengan menggunakan persamaan 3.7. $(S_A)_{LOD}$ adalah sinyal analit saat limit deteksi, S_{reag} adalah absorbansi larutan blanko, z adalah *factor accounting*, σ_{reag} adalah standar deviasi untuk larutan blanko dan LOD adalah limit deteksi.

$$\begin{aligned} y &= ax + b \\ (S_A)_{LOD} &= a * LOD + b \end{aligned} \quad \dots(3.7)$$

3.5.8 Penentuan Ketelitian dan ketepatan

Data hasil pengukuran (absorbansi turunan dihidropiridin) diplotkan ke dalam persamaan regresi linier yang pada akhirnya diperoleh konsentrasi hasil pengukuran pada penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch*. Penentuan ketelitian perlakuan percobaan dapat dihitung dari persamaan 3.8.

$$\% \text{ Ketelitian} = \frac{\text{konsentrasi formalin hasil pengukuran} - SD}{\text{konsentrasi formalin hasil pengukuran}} \times 100 \% \quad \dots (3.8)$$

Adapun ketepatan hasil pengukuran formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* yang dilakukan dalam percobaan dapat dihitung dengan persamaan 3.9.

$$\% \text{ Ketepatan} = \frac{\text{konsentrasi formalin hasil pengukuran}}{\text{konsentrasi formalin sebenarnya}} \times 100 \% \quad \dots (3.9)$$

3.6 Analisis Data

Data absorbansi turunan dihidropiridin sebagai produk reaksi *Hantzsch*, diuji menggunakan uji F dengan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk mengetahui pengaruh konsentrasi

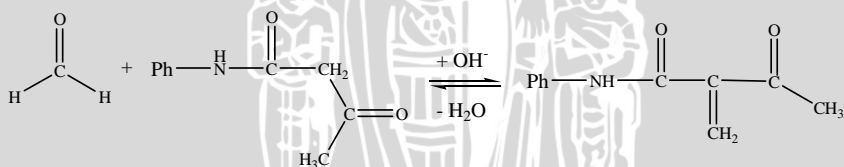
asetoasetanilida dan amonium hidroksida. Perlakuan diulang 3 kali dan dapat dilihat pada Lampiran. Bila F hitung lebih besar dari F Tabel (α, db) maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

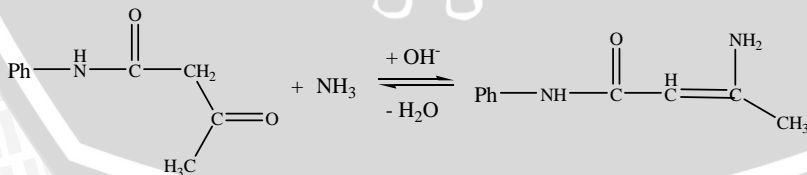


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

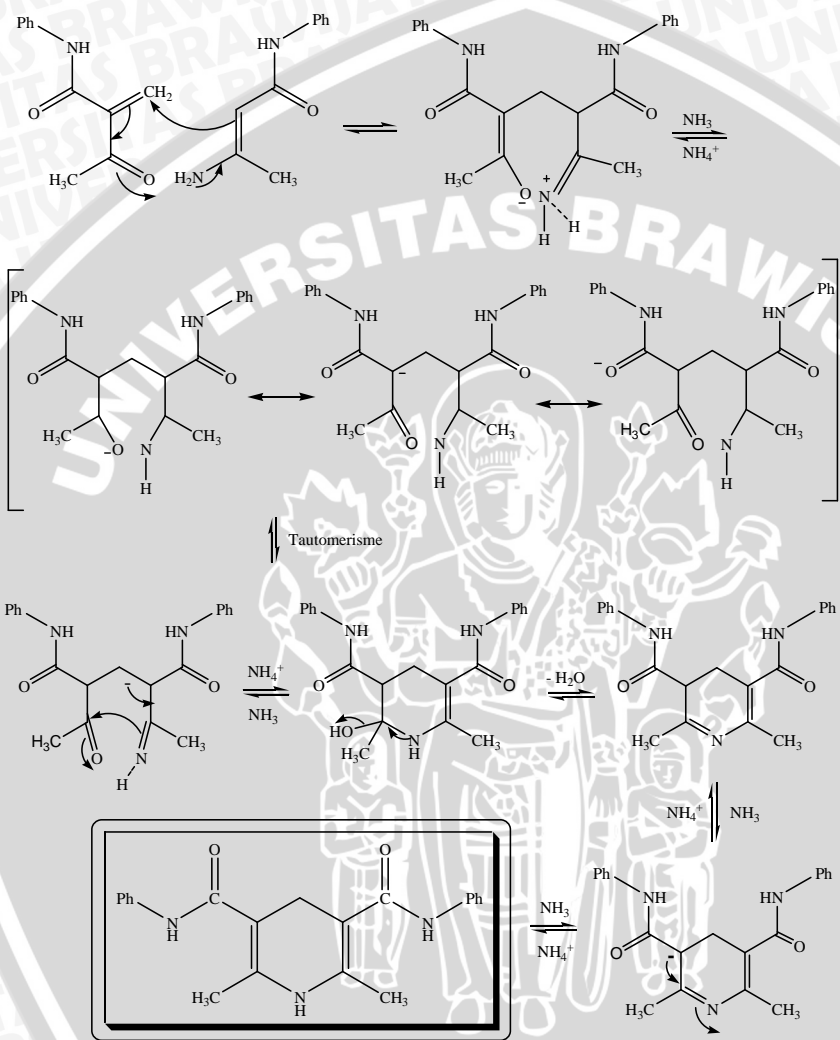
Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida serta kinerja metode penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch*. Reaksi *Hantzsch* merupakan reaksi antara satu molekul asetoasetanilida dengan formaldehida membentuk 3-amino-N-fenilbut-2-enamida yang selanjutnya akan bereaksi dengan 2-metilen-3-okso-N-fenilbutanamida yang merupakan hasil reaksi antara asetoasetanilida dengan amonium hidroksida. Reaksi pembentukan 2-metilen-3-okso-N-fenilbutanamida merupakan kondensasi Knoevenagel dengan menggunakan katalis amonia. Fungsi amonia adalah untuk mendeprotonasi hidrogen α membentuk suatu nukleofil yang akan menyerang karbokation dari gugus formaldehida. 3-amino-N-fenilbut-2-enamida akan mengalami kondensasi dengan 2-metilen-3-okso-N-fenilbutanamida membentuk senyawa 1,4-dihidro-2,6-dimetil-N³,N⁵-difenilpiridina-3,5-dikarboksamida yang akan dideteksi secara spektrofotometri lembayung ultra. Reaksi ini mengacu pada reaksi *Hantzsch* secara umum pada Gambar 2.1 dan secara khusus pada Gambar 4.1. Gambar 4.1 merupakan reaksi *Hantzsch* secara khusus menggunakan suatu turunan β -diketon yaitu asetoasetanilida.



Formaldehida Asetoasetanilida 2-metilen-3-okso-N-fenilbutanamida



Asetoasetanilida Amonia 3-amino-N-fenilbut-2-enamida



1,4-dihidro-2,6-dimetil- N^3, N^5 -difenilpiridina-3,5-dikarboksamida

Gambar 4.1 Mekanisme reaksi *Hantzsch* menggunakan asetoasetanilida

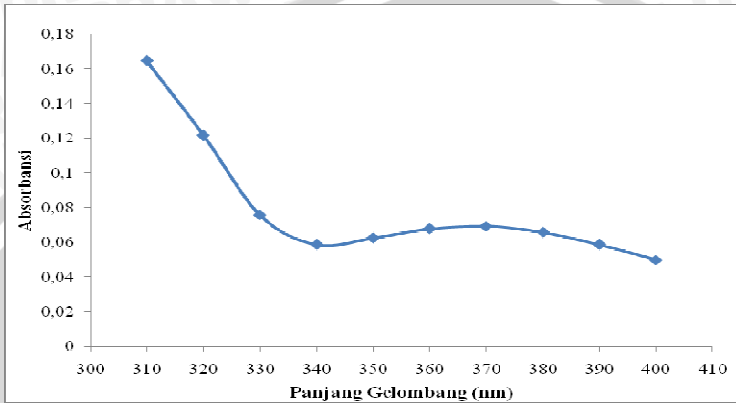
4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum turunan dihidropiridin dilakukan dengan menggunakan larutan formalin 8 ppm dan komposisi larutan campuran serta kondisi reaksi yang telah dipilih sesuai percobaan 3.5.2. Pada panjang gelombang maksimum, kepekaannya juga maksimum karena pada panjang gelombang maksimum tersebut, perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Di sekitar panjang gelombang maksimum, bentuk kurva absorbansi linier dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer akan terpenuhi. Jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil, ketika digunakan panjang gelombang maksimum (Gandjar dan Rohman, 2009).

Data penentuan panjang gelombang maksimum turunan dihidropiridin dapat dilihat pada Lampiran 2. Gambar 4.2 merupakan grafik hasil penentuan panjang gelombang maksimum dihidropiridin. Berdasarkan Gambar 4.2 dapat disimpulkan bahwa turunan dihidropiridin mempunyai dua panjang gelombang maksimum yaitu pada daerah 310 nm dan 370 nm. Namun, pada penelitian ini dipilih 370 nm sebagai panjang gelombang maksimum turunan dihidropiridin. Panjang gelombang maksimum hasil pengukuran ini telah mendekati panjang gelombang maksimum hasil penelitian sebelumnya yaitu 368 nm (Li *et al.*, 2007).

Berdasarkan perhitungan pada Lampiran 3, nilai absorptivitas molar penelitian ini adalah $259,55 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Hasil penelitian ini mempunyai nilai absorptivitas yang sangat berbeda jauh dengan nilai absorptivitas penelitian sebelumnya yaitu $6100 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Perbedaan nilai absorptivitas molar ini disebabkan oleh konsentrasi pelarut asetoasetanilida dan temperatur reaksi. Pengaruh pelarut asetoasetanilida dan temperatur reaksi akan berdampak pada pembentukan produk reaksi *Hantzsch*. Pembentukan produk reaksi *Hantzsch* yang tidak sempurna akan menghasilkan produk reaksi *Hantzsch* yang tidak optimum. Pelarut asetoasetanilida yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 70 %. Etanol 70 % belum dapat melarutkan asetoasetanilida secara sempurna sehingga hal ini berdampak pada pembentukan produk reaksi *Hantzsch*. Temperatur juga akan mempengaruhi pembentukan produk reaksi *Hantzsch*. Pada penelitian ini temperatur reaksi tidak dikontrol pada

25⁰C sehingga produk reaksi *Hantzsch* yang terbentuk juga tidak optimum.

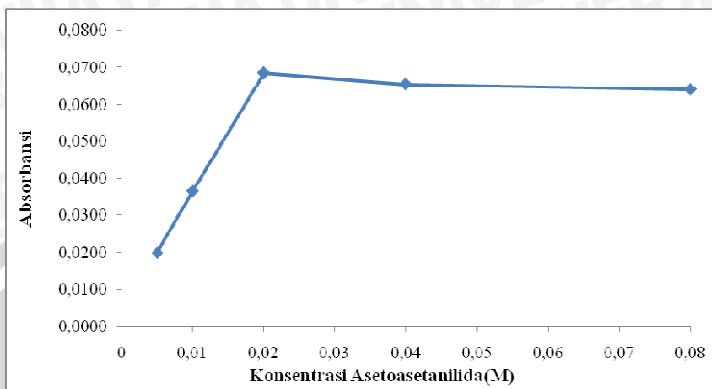


Gambar 4.2 Grafik hubungan antara panjang gelombang dengan absorbansi turunan dihidropiridin

Kondisi : Konsentrasi formalin 8 ppm, konsentrasi asetoasetanilida 0,01 M, konsentrasi amonium hidroksida 2 M, pH 7 dan waktu reaksi selama 15 menit.

4.2 Optimasi Konsentrasi Asetoasetanilida

Konsentrasi optimum asetoasetanilida dapat ditentukan berdasarkan besarnya absorbansi turunan dihidropiridin dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum. Pada penentuan panjang gelombang maksimum turunan dihidropiridin diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 370 nm. Penentuan konsentrasi optimum asetoasetanilida perlu dilakukan karena asetoasetanilida berpengaruh terhadap jumlah turunan dihidropiridin yang terbentuk. Semakin banyak konsentrasi asetoasetanilida yang ditambahkan maka kesetimbangan reaksi akan bergeser ke arah produk. Hal ini menyebabkan jumlah turunan dihidropiridin yang terbentuk akan semakin banyak. Variasi konsentrasi asetoasetanilida yang digunakan untuk memperoleh konsentrasi asetoasetanilida optimum antara lain 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08 M. Gambar 4.3 merupakan hasil dari optimasi konsentrasi asetoasetanilida.



Gambar 4.3 Grafik hubungan antara konsentrasi asetoasetanilida dengan absorbansi turunan dihidropiridin

Kondisi : Konsentrasi formalin 8 ppm, konsentrasi amonium hidroksida 2 M, pH 7 dan waktu reaksi selama 15 menit.

Berdasarkan Gambar 4.3 terlihat bahwa absorbansi turunan dihidropiridin semakin meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi asetoasetanilida. Hal ini sudah sesuai dengan prinsip kesetimbangan reaksi, kenaikan konsentrasi reaktan (asetoasetanilida) akan menyebabkan kesetimbangan reaksi akan bergeser ke arah produk (1,4-dihidro-2,6-dimetil-N³,N⁵-difenilpiridina-3,5-dikarboksamida). Berdasarkan uji BNT taraf uji 5 % diperoleh bahwa konsentrasi asetoasetanilida 0,02-0,08 M memiliki nilai absorbansi yang berbeda nyata. Pada konsentrasi asetoasetanilida 0,02-0,08 M terjadi penurunan absorbansi. Hal ini disebabkan oleh konsentrasi asetoasetanilida 0,04-0,08 M mempunyai kelebihan jumlah mol asetoasetanilida saat berlangsungnya reaksi *Hantzsch*. Semakin banyak mol asetoasetanilida dapat menyebabkan interaksi antar molekul asetoasetanilida. Interaksi antar molekul asetoasetanilida ini akan membentuk produk lain sehingga asetoasetanilida yang berinteraksi dengan formalin dan amonium hidroksida hanya sedikit. Pada optimasi konsentrasi asetoasetanilida dipilih asetoasetanilida 0,02 M sebagai konsentrasi optimum. Konsentrasi asetoasetanilida 0,02 M telah memenuhi jumlah mol yang dibutuhkan untuk bereaksi dengan formalin membentuk produk intermediet 1 (2-metilen-3-okso-N-

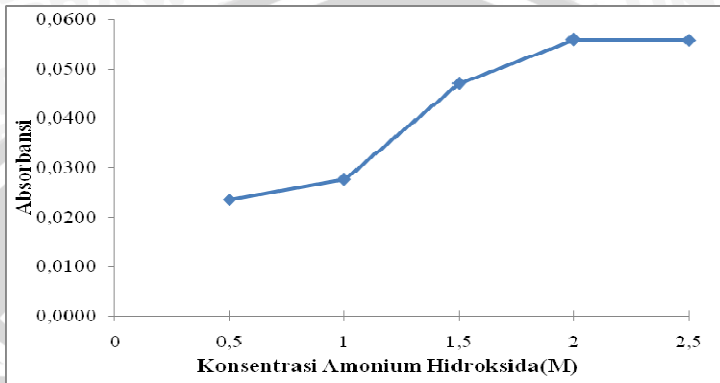
fenilbutanamida) dan bereaksi dengan amonium hidroksida membentuk produk intermediet 2 (3-amino-N-fenilbut-2-enamida) sehingga terbentuk 1,4-dihidro-2,6-dimetil-N³,N⁵-difenilpiridina-3,5 dikarboksamida yang optimum.

4.2 Optimasi Konsentrasi Amonium Hidroksida

Amonium hidroksida merupakan salah satu reaktan pada reaksi pembentukan turunan dihidropiridin. Berdasarkan Gambar 4.1 amonium hidroksida akan bereaksi dengan asetoasetanilida membentuk intermediet 2 yaitu 2-metilen-3-okso-N-fenilbutanamida. Selain berfungsi sebagai reaktan, amonium hidroksida juga berfungsi sebagai katalis pada reaksi *Hantzsch*. Amonium hidroksida akan memberikan suasana basa agar reaksi *Hantzsch* berjalan dan membentuk turunan dihidropiridin. Pada suasana basa, asetoasetanilida akan terdeprotonasi sehingga terbentuk suatu nukleofil yang akan menyerang karbokation dari gugus formaldehida. Namun, kondisi basa ini juga harus dikontrol agar tidak terjadi hidrolisis pada asetoasetanilida. Pada suasana basa kuat asetoasetanilida akan terhidrolisis menjadi asetoasetat dan anilin sehingga, dengan kondisi yang terlalu basa tidak memungkinkan terbentuknya turunan dihidropiridin. Berdasarkan fungsi-fungsi amonium hidroksida tersebut maka perlu dilakukan optimasi konsentrasi amonium hidroksida untuk mengetahui konsentrasi amonium hidroksida optimum.

Variasi konsentrasi amonium hidroksida yang digunakan untuk memperoleh konsentrasi amonium hidroksida optimum antara lain 0,5; 1; 1,5; 2,0; 2,5 M. Gambar 4.4 menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi amonium hidroksida akan meningkatkan jumlah turunan dihidropiridin yang terbentuk. Kenaikan konsentrasi amonium hidroksida akan menggeser kesetimbangan reaksi ke arah pembentukan produk yang lebih banyak. Selain itu kebutuhan amonium hidroksida sebagai katalis juga telah terpenuhi sehingga menyebabkan reaksi *Hantzsch* berjalan optimum. Berdasarkan uji BNT taraf uji 5 % diperoleh bahwa konsentrasi amonium hidroksida 2,0-2,5 M memiliki nilai absorbansi yang tidak berbeda nyata sehingga amonium hidroksida 2,0 M dipilih sebagai konsentrasi optimum. Pada konsentrasi amonium hidroksida 2,0 M telah memenuhi jumlah mol yang dibutuhkan sebagai reaktan maupun

katalis pada saat reaksi *Hantzsch* untuk membentuk produk yang optimum.



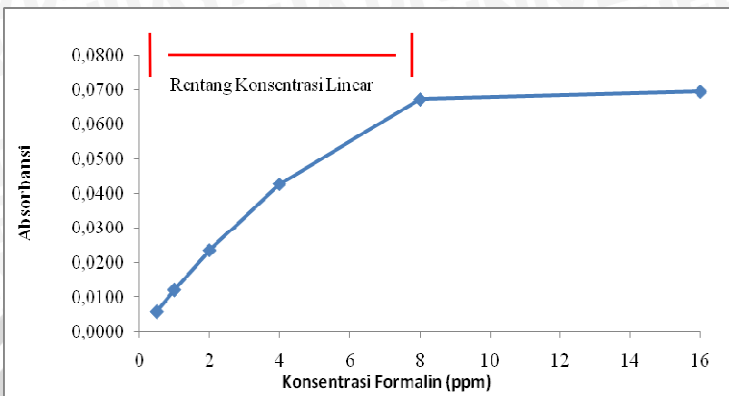
Gambar 4.4 Grafik hubungan antara konsentrasi asetoasetanilida dengan absorbansi turunan dihidropiridin

Kondisi : Konsentrasi formalin 8 ppm, konsentrasi asetoasetanilida 0,02 M, pH 7 dan waktu reaksi selama 15 menit.

4.3 Kinerja metode

4.3.1 Linearitas

Linearitas merupakan salah satu parameter untuk menilai kebenaran suatu metode analisis dengan melihat nilai hubungan respon dari berbagai konsentrasi larutan standar pada suatu kurva kalibrasi yang dilihat sebagai nilai koefisien korelasi (r). Dari hasil uji linearitas larutan formalin di dalam kurva baku dengan rentang konsentrasi 0,5 hingga 8 ppm menunjukkan bahwa pengukuran larutan formalin menggunakan metode reaksi *Hantzsch* menghasilkan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9986. Nilai koefisien korelasi yang diperoleh menunjukkan hasil cukup baik walaupun belum mencapai nilai koefisien korelasi sesuai standar yaitu ($r \geq 0,9995$ (AOAC 1993)). Hal ini menginformasikan bahwa terdapat hubungan yang proporsional antara respon analitik dengan konsentrasi formalin yang diukur. Gambar 4.5 merupakan kurva kalibrasi formalin yang menunjukkan linearitas dari respon berbagai konsentrasi formalin.



Gambar 4.5 Grafik rentang konsentrasi linear

Kondisi: Konsentrasi formalin 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 16 ppm, konsentrasi asetoasetanilida 0,02 M, konsentrasi amonium hidroksida 2 M, pH 7 dan waktu reaksi selama 15 menit.

4.3.2 Limit deteksi (LOD)

LOD formalin adalah konsentrasi formalin terendah yang masih dapat ditentukan dengan metode reaksi *Hantzsch*. Definisi lain dari LOD formalin adalah batasan konsentrasi yang terpercaya dibaca oleh metode reaksi *Hantzsch* dengan batasan sinyal suatu sampel yang berbeda secara nyata dari blanko. Limit deteksi ditentukan dengan cara mengukur larutan blanko sebanyak 3 kali. Data absorbansi larutan blanko dapat dilihat pada lampiran 2.

Limit deteksi digunakan untuk mengetahui sensitivitas dari metode reaksi *Hantzsch*. Limit deteksi penting untuk mengetahui batas terendah konsentrasi formalin yang masih dapat ditentukan dengan metode reaksi *Hantzsch* secara tepat dan teliti. Semakin kecil limit deteksi menunjukkan bahwa metode yang digunakan mempunyai sensitivitas yang tinggi.

Berdasarkan rumus seperti pada persamaan 3.6 dapat diketahui bahwa limit deteksi formalin dari metode reaksi *Hantzsch* dari perhitungan hasil rata-rata absorbansi larutan blanko ditambah dengan hasil perkalian antara *factor accounting* dan standar deviasi larutan blanko. Kemudian hasil tersebut dimasukkan pada persamaan 3.7 untuk memperoleh konsentrasi terendah formalin yang dapat

ditentukan dengan metode reaksi *Hantzsch*. Berdasarkan perhitungan pada Lampiran 3 diperoleh limit deteksi untuk metode ini diperoleh pada konsentrasi 0,6 ppm.

Absorbansi larutan blanko metode reaksi *Hantzsch* yang terukur mempunyai nilai yang cukup besar. Hal ini menyebabkan LOD formalin yang diperoleh juga cukup besar. Absorbansi larutan blanko merupakan penggabungan dari absorbansi reaktan yang digunakan. Reaktan yang digunakan antara lain asetoasetanilida, amonium hidroksida dan akuades. Asetoasetanilida menyerap kuat pada daerah 270-300 nm (tergantung pada jenis pelarut), sehingga jika digabungkan dengan absorbansi amonium hidroksida dan akuades akan memberikan nilai absorbansi yang cukup besar pada daerah 370 nm. Oleh karena itu, metode reaksi *Hantzsch* dengan menggunakan asetoasetanilida hanya dapat mendeteksi formalin secara tepat dan teliti hingga pada konsentrasi 0,6 ppm.

4.3.3 Penentuan ketelitian dan ketepatan

Penentuan ketelitian dan ketepatan ini digunakan untuk mengetahui tingkat ketelitian dan ketepatan penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch*. Semakin besar persen ketelitian dan ketepatan penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* menunjukkan bahwa metode ini mempunyai ketelitian dan ketepatan yang baik. Untuk mengetahui tingkat ketelitian dan ketepatan penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* dilakukan pengukuran larutan formalin 3 ppm. Tabel 4.1 merupakan tabel hasil pengukuran larutan formalin 3 ppm dengan pengulangan sebanyak 3 kali.

Tabel 4.1 Hasil Pengukuran larutan formalin 3 ppm

Larutan formalin 3 ppm	Absorbansi	Konsentrasi Larutan formalin terukur (ppm)
Pengulangan 1	0,0310	2,69
Pengulangan 2	0,0338	3,03
Pengulangan 3	0,0224	3,00

Berdasarkan perhitungan pada Lampiran 3 untuk penentuan % ketelitian diperoleh standar deviasi dari pengukuran sampel larutan formalin 3 ppm adalah 0,188, sehingga % ketelitian metode

reaksi *Hantzsch* sebesar 93,5 %. Nilai % ketelitian yang mendekati 100 % menunjukkan bahwa metode reaksi *Hantzsch* memiliki ketelitian pengukuran yang baik pada penentuan formalin. Sedangkan untuk penentuan ketepatan dilakukan dengan membandingkan konsentrasi formalin hasil pengukuran metode reaksi *Hantzsch* dengan konsentrasi formalin yang sebenarnya. Berdasarkan perhitungan pada lampiran 3 diperoleh nilai ketepatan yaitu 97 %. Nilai ketepatan yang mendekati 100 % menunjukkan bahwa metode reaksi *Hantzsch* memiliki ketepatan yang baik dalam menunjukkan tingkat kesesuaian dari rata-rata suatu pengukuran yang sebanding dengan nilai sebenarnya.



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* secara spektrofotometri lembayung ultra dapat disimpulkan bahwa :

1. Penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* secara spektrofotometri lembayung ultra dipengaruhi oleh konsentrasi asetoasetanilida dan amonium hidroksida. Hasil optimum diperoleh pada konsentrasi asetoasetanilida 0,02 M dan amonium hidroksida 2,0 M.
2. Kinerja metode penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch* secara spektrofotometri lembayung ultra mempunyai linearitas 0,5-8 ppm dengan koefisien korelasi $r = 0,9986$, limit deteksi 0,6 ppm, ketelitian dan ketepatan yang tinggi yaitu 93,5 % dan 97 %.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh konsentrasi pelarut asetoasetanilida terhadap penentuan formalin berdasarkan reaksi *Hantzsch*, sehingga dapat diketahui konsentrasi optimum pelarut asetoasetanilida yang dapat menghasilkan produk reaksi *Hantzsch* yang optimum.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC], Association Official of Analytical Chemistry, 1993, **AOAC Peer-Verified Methods Program**. Maryland: AOAC International.
- Badan POM, 2006, **Hindarkan Pemakaian Ilegal Formalin Untuk Pangan**, http://www.republika.co.id/koran.asp?kat_id=318, Diakses 18 Desember 2010.
- Belman, S., 1963, **The Fluorimetric Determination of Formaldehyde**. *Anal.Chim.Acta* 29;120.
- Cahyadi, W., 2006, **Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan**, Bumi Aksara, Jakarta.
- Carlo Erba Reagents, 2009, **Safety Data Sheet Acetoacetanilide**, according to 1907/2006/EC, Article 31.
- Chan C.C., Lee Y.C., Lam H., Zhang XM, 2004, **Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification**, *John Wiley*, 11-26.
- Corey, E.J., B. Czacko., L. Kurti., 2009, **Hantzsch Dihydropyridine Synthesis**, <http://www.organicchemistry.org/namedreactions/hantzsch-dihidropiridine-synthesis.htm>, Diakses 25 November 2009.
- Creswell, C. J. dan Campbell, M.A., 1982, **Analisa Spektrum Organik Edisi Kedua**, ITB, Bandung.
- Daintith, E., 1994, **Kamus Lengkap Kimia**, Erlangga, Jakarta.
- Day, J.R. dan Underwood, A.L., 1996, **Analisis Kimia Kuantitatif**, Edisi Kedua, Alih Bahasa : A.H Pudjaatmaka. Penerbit Erlangga, Jakarta, 12.
- Fisher Scientific, 2008, **Material Safety Data Sheet Amonium hydroxide water solution, >14N NH₄OH (25-30% as ammonia, NH₃)**, <http://www.ch.ntu.edu.tw/~genchem99/msds/exp21/Amonium%20hydroxide%20water%20solution.pdf>, Diakses 20 Desember 2010.

- Gandjar, I.G., dan A.Rochman, 2009, **Kimia Farmasi Analisis**, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Green J.M., 1996, **A practical guide to analytical method validation**. *Anal Chem* 68: 305A-309A.
- Greenberg, A. E., Clesceri, L. S., dan Eaton, A.D., 1992, **Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater. Eighteenth Edition**, *American Public Health Association*.75:4-97.
- Harbone, J.B., 1987, **Metode Fitokimia Penuntun Cara Menganalisis Tumbuhan**, terbitan kedua, Penerjemah Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, ITB-Press,Bandung.
- Helrich, K., 1990, **Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition**, Association of Official Analytical Chemists.Inc. Virginia.
- Hernandez-Munoz P., R Villalobus., A.Chiralts., 2004, **Effect of Crosslinking Using Aldehydes on Properties of Glutenin-Rich Films**, *Food Hydrocoloids* 18:403-411.
- IARC, 2004, **Monographs On The Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**. International Agency for Research on Cancer, vol 88, Lyon, France.
- Ihsan, A., 2011, **Pengaruh Waktu Reaksi dan pH Reaksi pada Penentuan Formalin dalam Makanan Berdasarkan Reaksi Hantzsch Secara Spektrofotometri Lembayung Ultra**, Skripsi, Universitas Brawijaya, Malang.
- J. Li, P. K. Dasgupta and W. Luke, 2005, **Measurement of Gaseous and Aqueous Trace Formaldehyde. Revisiting the Pentanedione Reaction and Field Applications**. *Anal. Chim. Acta* 531; 51.
- Kompas, 2005, **Jangan Salahkan Produsen Jika Mereka Menggunakan Formalin. Sebab, Masyarakat sendiri yang Suka Mengonsumsi Makanan yang Mengandung Formalin**,<http://www.kompas.com/kesehatan/news/0512/30/070902.htm>., Diakses 18 Desember 2010.

- Li, Q., P. Sritharathikhum., and S. Motomizu., 2007, **Development of Novel Reagent for Hantzsch Reaction for the Determination of Formaldehyde by Spectrophotometry and Fluorometry**, *Analytical Sciences* 23:413.
- Li, Q., P. Sritharathikhum., M. Oshima., and S. Motomizu., 2008, **Development of Novel Detection Reagent for Simple and Sensitive Determination of Trace Amounts of Formaldehyde and Its Application to Fow Injection Spectrophotometric analysis**. *Anal Chim Acta* 612;168.
- Maulany, R., 2006, **Bahaya Formalin Dalam Makanan**, http://www.ranesi.nl/tema/kesehatan050926/bahaya_formalin_makanan060105 , Diakses 18 Desember 2010.
- Mulja, M., dan A.Syahrani, 1989, **Aplikasi Analisis Spektrofotometer UV-Vis**, Mechipso, Grafika, Surabaya.
- Nash, T., 1953, **The Colorimetric Estimation of Formaldehyde by Means of The Hantzsch Reaction**, *Biochem J*.55:416.
- Nuryasin, A., 2006, **Bahaya Formalin**, http://www.ikaptkdk.com/arpan/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=111. Diakses 18 Desember 2010.
- Pavia, D.L., Lampman, G.M., and Kris, G.S., 1996, **Introduction to Spectroscopy : A Guide for Students of Organic Chemistry**, Harcourt Brace College, Washington.
- Sax, N. I. and R. J. Lewis, 1987, **Howley's Condensed Chemical Dictionary**, Van Nostrand Reinhold Co. New York.
- Silverstein, R.M., F.X.Webster., and D.J.Kiemle., 2005, **Spectrometric Identification of Organic Compounds, seven edition**, John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Svehla, G., 1985, **Vogel Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro**, Edisi kelima, Penerjemah : L. Setiono dan A.H. Pudjaatmaka, PT. Kalman Media Pustaka, Jakarta, 57.
- Swarnalatha, G., G.Prasanthi, N.Sirisha, and C.Madhusudhana Chetty., 2011, **1,4-Dihidropiridin : A Multifunctional**

Molecule-A Review, *International Journal of ChemTech Research* 3:77.

Thomsen, A., D. Schatzlein., and D. Mercurio., 2003, **Limits of Detection In Spectroscopy**, *Spectroscopy* 18(12):112

US Environmental Protection Agency (EPA), (1999), **Integrated Risk Information System (IRIS) on Formaldehyde**, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington, DC.

WHO, 2001, **Formaldehyde**,
http://www.ecobind.com/.../WHO_Air_Quality_Guidelines_formaldehyde.pdf, Diakses 18 Desember 2010.



LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 : Perhitungan dan Preparasi larutan

L.1.1 Pembuatan larutan induk asetoasetanilida 0,2 M

$$[\text{asetoasetanilida}] = \frac{\text{massa asetoasetanilida (g)}}{\text{volume (mL)} \times \text{Mr asetoasetanilida (g/mol)}}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{\text{massa asetoasetanilida (g)}}{50 \text{ mL} \times 177,2 \text{ g/mol}}$$

$$\begin{aligned} \text{massa asetoasetanilida} &= 0,2 \text{ mmol/mL} \times 50 \text{ mL} \times 177,2 \text{ mg/mmol} \\ &= 1,772 \text{ g} \end{aligned}$$

L.1.2 Pembuatan larutan asetoasetanilida 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08 M

Larutan asetoasetanilida 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08 M dibuat dengan memipet asetoasetanilida 0,2 M sebanyak.

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 0,2 \text{ M} &= 50 \text{ mL} \times 0,005 \text{ M} \\ V_1 &= 1,25 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan asetoasetanilida 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08 M dipipet sebanyak 1,25; 2,5; 5; 10; 20 mL asetoasetanilida 0,2 M ke dalam labu takar 50 mL, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas.

L.1.3 Pembuatan larutan induk formalin 1000 ppm

$$\begin{aligned} [\text{HCHO}] &= \frac{37}{100} \times 1,09 \text{ (g/mL)} \times 1000 \text{ (mL/L)} \times 1000 \text{ (mg/g)} \\ &= 37 \times 1,09 \times 1000 \times 10 \text{ (mg/L)} \\ &= 403,300 \text{ mg/L} \\ &= 403,300 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Untuk pembuatan 1000 ppm formalin dibutuhkan :

$$\begin{aligned}V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\V_1 \times 403,300 \text{ ppm} &= 100 \text{ mL} \times 1000 \text{ ppm} \\V_1 &= 247,9 \text{ } \mu\text{L formalin } 37 \% \text{ (dalam } 100 \text{ mL)}\end{aligned}$$

L.1.3 Pembuatan larutan amonium hidroksida

Di dalam 1000 mL NH_4OH 25 % terdapat 250 mL NH_4OH .

$$\rho \text{ NH}_4\text{OH} = \frac{\text{massa (g)}}{\text{volume (mL)}}$$

$$0,91 \text{ g/mL} = \frac{\text{massa (g)}}{250 \text{ (mL)}}$$

$$\text{Massa NH}_4\text{OH} = 227,5 \text{ g}$$

$$[\text{NH}_4\text{OH}] = \frac{\text{mol}}{\text{volume}} = \frac{227,5 \text{ g}/35 \text{ g/mol}}{1 \text{ L}} = 6,5 \text{ M}$$

Untuk pembuatan amonium hidroksida 0,5 M

$$\begin{aligned}V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\V_1 \times 6,5 \text{ M} &= 50 \text{ mL} \times 0,5 \text{ M} \\V_1 &= 3,8 \text{ mL amonium hidroksida } 6,5 \text{ M (dalam } 50 \text{ mL)}\end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan amonium hidroksida 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 M dipipet sebanyak 3,8; 7,7; 11,5; 15,4; 19,2 mL ke dalam labu takar 50 mL, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas.

L.1.4 Pembuatan larutan etanol 70 %

Untuk pembuatan etanol 70 % dari etanol 96 %

$$\begin{aligned}V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\V_1 \times 96 \% &= 50 \text{ mL} \times 70 \% \text{ (etanol } 70 \% \text{)} \\V_1 &= 36,46 \text{ mL etanol } 96 \% \text{ (dalam } 50 \text{ mL)}\end{aligned}$$

Etanol 96 % dipipet sebanyak 36,46 mL ke dalam labu takar 50 mL, kemudian ditambahkan dengan akuades sampai tanda batas.

L.1.5 Pembuatan HCl 0,01; 0,1; 1; 4 M

Di dalam 1000 mL HCl 37 % terdapat 370 mL HCl.

$$\rho \text{ HCl} = \frac{\text{massa (g)}}{\text{volume (mL)}}$$

$$1,19 \text{ g/mL} = \frac{\text{massa HCl (g)}}{370 \text{ mL}}$$

$$\text{Massa HCl} = 440,3 \text{ g}$$

$$[\text{HCl}] = \frac{\text{mol}}{\text{volume}} = \frac{440,3 \text{ g}/36,46 \text{ g/mol}}{1 \text{ L}} = 12,06 \text{ M}$$

Untuk membuat HCl 0,01 M dari HCl 37 %

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 12,07 \text{ M} &= 50 \text{ mL} \times 0,01 \text{ M} \\ V_1 &= 0,04 \text{ mL HCl 37\% (dalam 50 mL)} \end{aligned}$$

Untuk membuat HCl 0,01; 0,1; 1; 4 M, HCl 37 % dipipet sebanyak 0,04; 0,4; 4,1; 16,6 mL ke dalam labu takar 50 mL, lalu ditambahkan dengan akuades sampai tanda batas.

LAMPIRAN 2 : Data Hasil Penelitian

2.1 Penentuan panjang gelombang maksimum

Tabel L.2.1 Data panjang gelombang maksimum vs absorbansi

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
310	0,1648
320	0,1218
330	0,0757
340	0,0587
350	0,0626
360	0,0679
370	0,0693
380	0,0658
390	0,0587
400	0,0499

2.2 Hasil optimasi konsentrasi asetoasetanilida

Tabel L.2.2 Data absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi asetoasetanilida

Konsentrasi (M)	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Absorbansi rata-rata
0,005	0,0187	0,0190	0,0222	0,0200
0,01	0,0358	0,0363	0,0380	0,0367
0,02	0,0693	0,0688	0,0672	0,0684
0,04	0,0662	0,0647	0,0656	0,0655
0,08	0,0634	0,0642	0,0646	0,0641

2.3 Hasil optimasi konsentrasi amonium hidroksida

Tabel L.2.3 Data absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi amonium hidroksida

Konsentrasi (M)	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	Absorbansi rata-rata
0,5	0,0255	0,0229	0,0236	0,0240
1	0,0280	0,0234	0,0276	0,0263
1,5	0,0466	0,0459	0,0470	0,0465
2	0,0590	0,0563	0,0559	0,0571
2,5	0,0575	0,0567	0,0558	0,0566

2.4 Linearitas

Tabel L.2.4 Data Linearitas

Konsentrasi formalin (ppm)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata
	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Absorbansi 3	
0,5	0,0056	0,0056	0,0059	0,0057
1	0,0121	0,0120	0,0118	0,0120
2	0,0237	0,0236	0,0237	0,0237
4	0,0425	0,0427	0,0430	0,0427
8	0,0675	0,0672	0,0672	0,0673
16	0,0695	0,0697	0,0691	0,0694

2.5 LOD formalin

Tabel L.2.5 Data Absorbansi Blanko

Blanko	Absorbansi
1	0,0068
2	0,0049
3	0,0061
4	0,0045
5	0,0056
6	0,0068
7	0,0063
8	0,0055
9	0,0071
10	0,0065

LAMPIRAN 3 : Perhitungan Linearitas, LOD (*Limit of Detection*), Ketelitian dan Ketepatan serta absorptivitas molar

3.1 Linearitas

Tabel L.3.1 Data perhitungan koefisien korelasi

Konsentrasi formalin (ppm) (Xi)	A (Yi)	(Xi.Yi)	(Xi) ²	(Yi) ²
0,5	0,0057	2,85 x10 ⁻³	0,25	3,25 x10 ⁻⁵
1	0,0120	1,19 x10 ⁻²	1	1,43 x10 ⁻⁴
2	0,0237	4,73 x10 ⁻²	4	5,6 x10 ⁻³
4	0,0427	1,7 x10 ⁻¹	16	1,8 x10 ⁻³
8	0,0673	5,4 x10 ⁻¹	64	4,5 x10 ⁻³
∑ 15,5	0,1514	0,7715	85,25	0,0071

Berdasarkan data dalam tabel L.3.1 diperoleh persamaan regresi (y=ax+b) dengan perhitungan sebagai berikut :

$$r = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i}{\sqrt{n \sum_{i=1}^n x_i^2 \cdot n \sum_{i=1}^n y_i^2}}$$

$$r = \frac{5 (0,7715)}{\sqrt{5 (85,25) \times 5(0,0071)}}$$

$$= \frac{3,857}{3,862}$$

$$= 0,9986$$

3.2 LOD (*Limit of Detection*)

Tabel L.3.2 Data perhitungan persamaan regresi

Konsentrasi formalin (ppm) (Xi)	A (Yi)	(Xi.Yi)	(Xi) ²	(Yi) ²
0	0,0000	0	0	0
0,5	0,0057	2,85 x10 ⁻³	0,25	3,25 x10 ⁻⁵
1	0,0120	1,19 x10 ⁻²	1	1,43 x10 ⁻⁴
2	0,0237	4,73 x10 ⁻²	4	5,6 x10 ⁻³
4	0,0427	1,7 x10 ⁻¹	16	1,8 x10 ⁻³
Σ 7,5	0,0841	2,3 x10 ⁻¹	21,25	2,5 x10 ⁻³

$$a = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2} = 0,011$$

$$b = \bar{y}_i - a \bar{x}_i \\ = 0,0168 - (0,011 \cdot 1,5) \\ = 0,0004$$

Jadi persamaan regresi $y = 0,011x + 0,0004$

Tabel L.3.3 Data absorbansi blanko

Blanko	Absorbansi	$(x_i - \bar{x})^2$
1	0,0056	$1,6 \times 10^{-7}$
2	0,0061	1×10^{-8}
3	0,0063	9×10^{-8}
Σ	0,018	$2,6 \times 10^{-7}$

Absorbansi rata-rata dari blanko yaitu:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots}{n}$$

$$\bar{x} = \frac{0,018}{3} = 0,006$$

Standar deviasi blanko ($S/N = 3$ dan $n = 3$) adalah:

$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \\ &= \sqrt{\frac{2,6 \times 10^{-7}}{2}} = 3,6 \times 10^{-4} \end{aligned}$$

Limit deteksi (LOD) formalin yaitu:

$$\begin{aligned} (S_A)LOD &= \bar{x} + 10 \cdot Sd \\ &= 0,006 + (3 \cdot 3,6 \times 10^{-4}) \\ &= 0,007 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} y &= 0,011x + 0,0004 \\ (S_A)LOD &= 0,011x + 0,0004 \\ 0,007 &= 0,011x + 0,0004 \end{aligned}$$

$$x = \frac{0,0066}{0,011}$$

$$LOD = 0,6 \text{ ppm}$$

3.3 Penentuan ketelitian dan ketepatan

Contoh perhitungan larutan formalin 3 ppm dengan metode reaksi *Hantzsch* :

Persamaan regresi linier $y = 0,011x + 0,0004$

Rumus :

Pengulangan 1

$$\begin{aligned} [\text{formalin}] &= \frac{\text{absorbansi} - 0,0004}{a} \\ &= \frac{0,0310 - 0,0004}{0,011} = 2,69 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Pengulangan 2

$$\begin{aligned} [\text{formalin}] &= \frac{\text{absorbansi} - 0,0004}{a} \\ &= \frac{0,0338 - 0,0004}{0,011} = 3,03 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Pengulangan 3

$$\begin{aligned} [\text{formalin}] &= \frac{\text{absorbansi} - 0,0004}{a} \\ &= \frac{0,0334 - 0,0004}{0,011} = 3,00 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Tabel L.3.4 Data penentuan ketelitian dan ketepatan

No	Konsentrasi formalin (ppm)	X	$(x_i - \bar{x})^2$
1.	2,69	2,91	0,0484
2.	3,03		0,0144
3.	3,00		0,0081
Σ	8,72		0,0709

$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \\ &= \sqrt{\frac{0,0709}{2}} = 0,188 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Ketelitian} &= \frac{\text{konsentrasi formalin hasil pengukuran} - \text{SD}}{\text{konsentrasi formalin hasil pengukuran}} \times 100\% \\ &= \frac{2,91 - 0,188}{2,91} \times 100\% = 93,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Ketepatan} &= \frac{\text{konsentrasi formalin hasil pengukuran}}{\text{konsentrasi formalin sebenarnya}} \times 100\% \\ &= \frac{2,91}{3,0} \times 100\% = 97\% \end{aligned}$$

3.4 Penentuan Absorptivitas Molar

Konversi larutan formalin 8 ppm ke dalam Molaritas

$$8 \text{ ppm} = \frac{8 \text{ mg/L}}{30 \text{ mg/mmol} \times 1000 \text{ mg/g}} = 2,67 \times 10^{-4} \text{ M}$$

- Pada panjang gelombang maksimum 370 nm

$$A = \epsilon b C$$

$$0,0693 = \epsilon \times 1 \text{ cm} \times 2,67 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$$

$$\epsilon = 259,55 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

LAMPIRAN 4. Uji Statistik Penentuan Pengaruh Konsentrasi Asetoasetanilida dan Amonium Hidroksida Terhadap Turunan Dihidropiridin

L.4.1 Penentuan Pengaruh Konsentrasi Asetoasetanilida

Untuk melihat ada tidaknya pengaruh konsentrasi asetasetanilida terhadap absorbansi turunan dihidropiridin, maka dilakukan uji statistik menggunakan uji F dengan langkah-langkah berikut.

a. Menentukan JKT

Tabel L.4.1.1 Data absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi asetasetanilida

Asetoasetanilida (M)	Absorbansi			Total
	1	2	3	
0,005	0,0187	0,0190	0,0222	0,0599
0,01	0,0358	0,0363	0,0380	0,1101
0,02	0,0693	0,0688	0,0672	0,2053
0,04	0,0662	0,0647	0,0656	0,1965
0,08	0,0634	0,0642	0,0646	0,1922
Total				0,7640

Tabel L.4.1.2 Data kuadrat absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi asetasetanilida

Asetoasetanilida (M)	Absorbansi			Total
	1	2	3	
0,005	$3,49 \times 10^{-4}$	$3,61 \times 10^{-4}$	$4,92 \times 10^{-4}$	$1,20 \times 10^{-3}$
0,01	$1,28 \times 10^{-3}$	$1,31 \times 10^{-3}$	$1,44 \times 10^{-3}$	$4,04 \times 10^{-3}$
0,02	$4,80 \times 10^{-3}$	$4,73 \times 10^{-3}$	$4,51 \times 10^{-3}$	$1,40 \times 10^{-2}$
0,04	$4,38 \times 10^{-3}$	$4,19 \times 10^{-3}$	$4,30 \times 10^{-3}$	$1,28 \times 10^{-2}$
0,08	$4,01 \times 10^{-3}$	$4,12 \times 10^{-3}$	$4,17 \times 10^{-3}$	$1,23 \times 10^{-2}$
Total				$4,45 \times 10^{-2}$

$$JKT = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 - \frac{T^2}{nk}$$

$$JKT = 4,45 \times 10^{-2} - \frac{(0,7640)^2}{3 \times 5}$$

$$JKT = 5,56 \times 10^{-3}$$

b. Menentukan JKK

Tabel L.4.1.3 Data kuadrat total absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi asetoasetanilida

Asetoasetanilida (M)	Absorbansi			Total	Total Kuadrat
	1	2	3		
0,005	0,0187	0,0190	0,0222	0,0599	$3,588 \times 10^{-3}$
0,01	0,0358	0,0363	0,0380	0,1101	$1,212 \times 10^{-2}$
0,02	0,0693	0,0688	0,0672	0,2053	$4,215 \times 10^{-2}$
0,04	0,0662	0,0647	0,0656	0,1965	$3,861 \times 10^{-2}$
0,08	0,0634	0,0642	0,0646	0,1922	$3,694 \times 10^{-2}$
Total				0,7640	0,1334

$$JKK = \frac{\sum_{i=1}^k T_i^2}{n} - \frac{T^2}{nk}$$

$$JKK = \frac{0,1334}{3} - \frac{(0,7640)^2}{3 \times 5}$$

$$JKK = 5,55 \times 10^{-3}$$

c. Menentukan JKG

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKK \\ &= 5,56 \times 10^{-3} - 5,55 \times 10^{-3} \\ &= 1,1 \times 10^{-5} \end{aligned}$$

d. Menentukan s_1^2

$$s_1^2 = \frac{JKK}{k-1}$$

$$s_1^2 = \frac{5,55 \times 10^{-3}}{5-1}$$

$$s_1^2 = 1,39 \times 10^{-3}$$

e. Menentukan s_2^2

$$s_2^2 = \frac{JKG}{k(n-1)}$$

$$s_2^2 = \frac{1,1 \times 10^{-5}}{5(3-1)}$$

$$s_2^2 = 1,1 \times 10^{-6}$$

f. Menghitung nilai F

$$F_{hitung} = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

$$F_{hitung} = \frac{1,39 \times 10^{-3}}{1,1 \times 10^{-6}}$$

$$F_{hitung} = 1267,72$$



Tabel L.4.1.4 Analisis ragam satu arah

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F hitung	F _{0,01(4,10)}	F _{0,05(4,10)}
Perlakuan	$5,55 \times 10^{-3}$	4	$1,39 \times 10^{-3}$	1267,72	5,99	3,48
Galat	$1,1 \times 10^{-5}$	10	$1,1 \times 10^{-6}$			
Total	$5,56 \times 10^{-3}$	14				

Jika $F_{hitung} \leq F_{tabel}$

H_0 : tidak ada perbedaan yang signifikan

H_1 : terdapat perbedaan yang signifikan

Dari perhitungan yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

$F_{hitung} > F_{tabel}$, maka H_0 ditolak.

Jadi, dengan adanya variasi konsentrasi asetoasetanilida pada reaksi *Hantzsch* akan berpengaruh terhadap absorbansi turunan dihidropiridin yang dihasilkan.

Uji BNT

Untuk menentukan besar perbedaan antar perlakuan yang dapat mempengaruhi nilai absorbansi turunan dihidropiridin maka dilakukan uji BNT sebagai berikut.

$$BNT = t_{(\alpha/2, db_{galat})} \sqrt{\frac{2KT_{galat}}{n}}$$

$$BNT = 2,228 \sqrt{\frac{2(1,1 \times 10^{-6})}{3}}$$

$$BNT = 0,0019$$

Tabel L.4.1.5 Hasil uji BNT

Asetoasetanilida (M)	Asetoasetanilida (M)	0,005	0,01	0,02	0,04	0,08
	Absorbansi rata- rata	0,0200	0,0367	0,0684	0,0655	0,0641
0,005	0,0200	0	0,0347*	0,0484*	0,0455*	0,0441*
0,01	0,0367		0	0,0317*	0,0288*	0,0274*
0,02	0,0684			0	0,0029*	0,0043*
0,04	0,0655				0	0,0014
0,08	0,0641					0

Keterangan: * = beda nyata pada taraf uji 5 %

L.4.2 Penentuan Pengaruh Konsentrasi Amonium Hidroksida

Untuk melihat ada tidaknya pengaruh konsentrasi amonium hidroksida, maka dilakukan uji statistik menggunakan uji F dengan langkah-langkah berikut.

a. Menentukan JKT

Tabel L.4.2.1 Data absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi amonium hidroksida

Amonium Hidroksida (M)	Absorbansi			Total
	1	2	3	
0,5	0,0255	0,0229	0,0236	0,0720
1,0	0,0280	0,0234	0,0276	0,0790
1,5	0,0466	0,0459	0,0470	0,1395
2,0	0,0590	0,0563	0,0559	0,1712
2,5	0,0575	0,0567	0,0558	0,1700
Total				0,6317

Tabel L.4.2.2 Data kuadrat absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi amonium hidroksida

Asetoasetanilida (M)	Absorbansi			Total
	1	2	3	
0,005	$0,7 \times 10^{-3}$	$5,24 \times 10^{-4}$	$5,57 \times 10^{-4}$	$1,77 \times 10^{-3}$
0,01	$7,84 \times 10^{-4}$	$5,48 \times 10^{-4}$	$7,62 \times 10^{-4}$	$2,09 \times 10^{-3}$
0,02	$2,17 \times 10^{-3}$	$2,1 \times 10^{-3}$	$2,21 \times 10^{-3}$	$6,49 \times 10^{-3}$
0,04	$3,48 \times 10^{-3}$	$3,17 \times 10^{-3}$	$3,12 \times 10^{-3}$	$9,77 \times 10^{-2}$
0,08	$3,30 \times 10^{-3}$	$3,21 \times 10^{-3}$	$3,11 \times 10^{-3}$	$9,63 \times 10^{-2}$
Total				$2,97 \times 10^{-2}$

$$JKT = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 - \frac{T^2}{nk}$$

$$JKT = 2,97 \times 10^{-2} - \frac{(0,6317)^2}{3 \times 5}$$

$$JKT = 3,09 \times 10^{-3}$$

b. Menentukan JKK

Tabel L.4.2.3 Data kuadrat total absorbansi turunan dihidropiridin pada berbagai konsentrasi amonium hidroksida

Asetoasetanilida (M)	Absorbansi			Total	Total Kuadrat
	1	2	3		
0,5	0,0255	0,0229	0,0236	0,0720	$5,18 \times 10^{-3}$
1,0	0,0280	0,0234	0,0276	0,0790	$6,24 \times 10^{-3}$
1,5	0,0466	0,0459	0,0470	0,1395	$1,95 \times 10^{-2}$
2,0	0,0590	0,0563	0,0559	0,1712	$2,93 \times 10^{-2}$
2,5	0,0585	0,0567	0,0558	0,1700	$2,89 \times 10^{-2}$
Total				0,6317	0,089

$$JKK = \frac{\sum_{i=1}^k T_i^2}{n} - \frac{T^2}{nk}$$

$$JKK = \frac{0,089}{3} - \frac{(0,6317)^2}{3 \times 5}$$

$$JKK = 3,06 \times 10^{-3}$$

c. Menentukan JKG

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKK \\ &= 3,09 \times 10^{-3} - 3,06 \times 10^{-3} \\ &= 3,4 \times 10^{-5} \end{aligned}$$

d. Menentukan s_1^2

$$s_1^2 = \frac{JKK}{k-1}$$

$$s_1^2 = \frac{3,06 \times 10^{-3}}{5-1}$$

$$s_1^2 = 7,65 \times 10^{-4}$$

e. Menentukan s_2^2

$$s_2^2 = \frac{JKG}{k(n-1)}$$

$$s_2^2 = \frac{3,4 \times 10^{-5}}{5(3-1)}$$

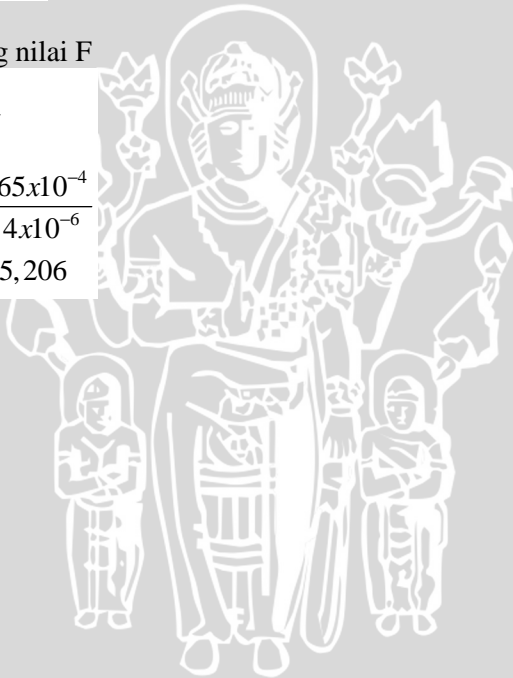
$$s_2^2 = 3,4 \times 10^{-6}$$

f. Menghitung nilai F

$$F_{hitung} = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

$$F_{hitung} = \frac{7,65 \times 10^{-4}}{3,4 \times 10^{-6}}$$

$$F_{hitung} = 225,206$$



Tabel L.4.2.4 Analisis ragam satu arah

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F hitung	F _{0,01} (4,10)	F _{0,05} (4,10)
Perlakuan	3,06x10 ⁻³	4	7,65 x 10 ⁻³	225,206	5,99	3,48
Galat	3,4 x 10 ⁻⁵	10	3,4 x 10 ⁻⁶			
Total	3,09 x 10 ⁻³	14				

Jika $F_{hitung} \leq F_{tabel}$

H_0 : tidak ada perbedaan yang signifikan

H_1 : terdapat perbedaan yang signifikan

Dari perhitungan yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

$F_{hitung} > F_{tabel}$, maka H_0 ditolak.

Jadi, dengan adanya variasi konsentrasi amonium hidroksida pada reaksi *Hantzsch* akan berpengaruh terhadap absorbansi turunan dihidropiridin yang dihasilkan.

Uji BNT

Untuk menentukan besar perbedaan antar perlakuan yang dapat mempengaruhi nilai absorpsi turunan dihidropiridin maka dilakukan uji BNT sebagai berikut.

$$BNT = t_{(\alpha/2, dbgalat)} \sqrt{\frac{2KT_{galat}}{n}}$$

$$BNT = 2,228 \sqrt{\frac{2(3,4 \times 10^{-6})}{3}}$$

$$BNT = 0,0033$$

Tabel L.4.2.5 Hasil uji BNT

Amonium Hidroksida (M)	Amonium Hidroksida (M)	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
	Absorbansi rata-rata	0,0240	0,0263	0,0465	0,0571	0,0567
0,5	0,0240	0	0,0023	0,0225*	0,0331*	0,0327*
1,0	0,0263		0	0,0202*	0,0308*	0,0304*
1,5	0,0465			0	0,0106*	0,0102*
2,0	0,0571				0	0,0004
2,5	0,0567					

Keterangan: * = beda nyata pada taraf uji 5 %

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

