

PEMBUATAN TEST STRIP BORAKS BERBASIS MEMBRAN SELULOSA BAKTERIAL (*NATA DE COCO*) YANG DIIMMOBILISASI REAGEN KURKUMIN DAN APLIKASINYA TERHADAP SAMPEL MAKANAN
(*PREPARATION OF BORAX TEST STRIP BASED ON BACTERIAL CELLULOSE MEMBRANE (NATA DE COCO) THAT CONTAINED IMMOBILIZED CURCUMIN REAGENT AND ITS APPLICATION FOR FOOD SAMPLES*)

Brigitta Yuris Argata Dini, Asnawati, I Nyoman Adi Winata
Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember (UNEJ)
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
E-mail: asnawati08@yahoo.com

Abstrak

Asam borat dan bentuk garamnya (natrium tetraboraks/boraks) sering digunakan sebagai bahan tambahan makanan. Keberadaan boraks dalam makanan perlu untuk ditentukan karena boraks merupakan senyawa yang sangat berbahaya bagi kesehatan dan semakin meluasnya makanan di pasaran yang mengandung boraks. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui waktu adsorpsi dan massa reagen optimum, menguji kinerja test strip (sensitivitas, limit deteksi, reproduibilitas dan *life time*) serta menentukan persen *recovery* yang diperoleh dari pengujian beberapa sampel makanan. Penentuan boraks pada penelitian terdahulu dilakukan dalam media cairan. Pada penelitian ini, penentuan boraks dilakukan dengan media kering (berbasis reagen kering) yaitu dengan immobilisasi reagen kurkumin secara adsorpsi pada membran selulosa bakterial (*nata de coco*). Membran yang diimmobilisasi oleh reagen kering disebut test strip. Hasil penelitian menunjukkan waktu adsorpsi dan massa reagen optimum pada waktu 30 menit dengan massa reagen 73 mg. Sensitivitas, limit deteksi, reproduibilitas berturut-turut sebesar 0,0377; 0,661 ppm; 99,561 % . *Life time* test strip dapat bertahan lebih dari 30 hari. Uji *recovery* dilakukan terhadap sampel yang positif mengandung boraks yaitu tempura, cilok dan sosis dengan persen *recovery* berturut-turut adalah 92 %; 81 %; dan 91 %.

Kata Kunci: adsorpsi, asam borat, kurkumin, membran, *recovery*.

Abstract

Boric acid and its salt sodium tetraborate (borax) often used as food additive. The presence of borax in food need to be determined because at compounds are dangerous for health and the spreading of food on the market that contain borax so huge. Adsorption time and optimum mass reagent, test strip performance (sensitivity, detection limit, reproducibility and life time) and percent recovery of test strip from the testing of some food samples were the aim of this research. On the previous research borax contain on sample was determined by on liquid medium, while on this research carried out with dried medium (dry reagent based) by immobilized curcumin reagent that adsorb on bacterial cellulose membrane (nata de coco). Immobilized membrane with dried reagent called test strip. The result showed that adsorption time and optimum mass reagent at 30 minutes and 73 mg. Sensitivity, detection limit, reproducibility of test strip were 0.0377, 0.661 ppm, 99.561 % respectively .The life time of test strip can last more than 30 days. Recovery test performed on positive samples containing borax are tempura, cilok and sosis with consecutive percent recovery is 92%, 81% and 91%.

Keywords: adsorption, boric acid, curcumin, membrane, *recovery*.

PENDAHULUAN

Makanan yang beredar dipasaran saat ini beberapa ada yang ditambahkan zat aditif berbahaya, contohnya adalah asam borat dan garamnya natrium tetraboraks (boraks). Boraks ($\text{Na}_2[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4]$) biasa disebut juga sodium borat, sodium tetraborat atau disodium tetraborat. Berupa padatan putih dengan densitas $1,73 \text{ g/cm}^3$, meleleh pada 743°C dan memiliki titik didih 1575°C [1].

Analisa asam borat dalam makanan untuk mengetahui ada tidaknya asam borat serta berapa jumlahnya

telah dilakukan dengan metode spektrofotometri [2]. Metode spektrofotometri dengan reagen kurkumin telah digunakan dan dikembangkan pada beberapa penelitian [3], [4],[5].

Reagen spesifik yang digunakan untuk mendeteksi boraks adalah kurkumin. Kurkumin merupakan senyawa aktif yang ditemukan pada kunyit, berupa polifenol dengan rumus kimia $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$. Konstituen bioaktif kunyit adalah minyak esensial dan warna kuning kurkuminoid termasuk kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin [6]. Reaksi kurkumin dan boraks akan membentuk suatu

kompleks yang merupakan kompleks resosianin merah yang stabil dan spesifik [5].

Analisa asam borat pada penelitian terdahulu dilakukan dalam media cair. Pada penelitian ini digunakan suatu metode baru dalam media kering yaitu dengan metode test strip berbasis membran selulosa bakterial (*nata de coco*) yang diimmobilisasi dengan reagen kurkumin secara adsorpsi. Membran merupakan media reaksi antara reagen dan sampel dalam pembuatan suatu test strip. Membran didefinisikan sebagai lapisan tipis (film) yang sangat selektif diantara dua fasa dan bersifat semipermeabel dalam bentuk padatan atau cairan [7].

Hasil penelitian berupa data nilai intensitas yang diambil dari pengukuran menggunakan spektrofotometer reflektansi. Tujuan penelitian ini adalah: (1) mengetahui waktu adsorpsi dan massa reagen pada membran untuk membentuk hasil optimum; (2) menguji kinerja test strip ditinjau dari limit deteksi, sensitivitas, reproduktibilitas, dan *life time*; (3) mengetahui persen *recovery* yang diperoleh dari pengujian beberapa sampel makanan.

METODE PENELITIAN

Preparasi Larutan Standar

- Preparasi Larutan Induk Asam Borat 100 ppm
Larutan induk 100 ppm dibuat dengan melarutkan 0,011 gram asam borat (H_3BO_3) dengan menambahkan aquades pada labu ukur 100 mL.
- Preparasi Larutan Standar Asam Borat
Preparasi larutan standar asam borat 0, 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm dilakukan dengan pengenceran larutan standar asam borat 100 ppm. Larutan standar asam borat dibuat dengan menambahkan larutan induk asam borat, 1,5 mL HCl 2N, 3 tetes $H_2C_2O_4$ jenuh dan aquades dalam labu ukur 25 mL.

Preparasi Membran

Nata de coco hasil fermentasi dicuci dengan air mengalir selama 24 jam, selanjutnya direndam dengan larutan NaOH \pm 2% selama 24 jam pada suhu kamar. Kemudian dicuci kembali dengan aquades hingga pH netral dengan diberi tetesan indikator phenofalin (PP).

Nata de coco berupa lembaran yang telah netral di potong kecil-kecil kemudian diblender sampai terbentuk bubuk nata. Bubur nata dicetak dengan ukuran ketebalan 0.1-0.2 mm kemudian dikeringkan.

Preparasi Sampel

Sampel yang mengandung boraks \pm 13,33 gram ditambahkan 40 mL aquadest panas, kemudian dihaluskan [5]. Ditambahkan 1,5 mL HCl 2 N dan $H_2C_2O_4$ jenuh 3 tetes [8], kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh diencerkan sampai volumenya 25 mL dalam labu ukur.

Pembuatan Test Strip

- Optimasi Waktu Adsorpsi Reagen pada Test Strip
Membran *nata de coco* dipotong dengan ukuran 1x1 cm. Reagen kurkumin sebanyak 68 mg dilarutkan dalam 100 mL pelarut. Diambil 2 mL, kemudian membran

dicelupkan dalam reagen dengan variasi waktu perendaman 10, 20, 30, 40 dan 50 menit. Tes strip yang telah dibuat diukur reflektansinya menggunakan spektrofotometri reflektansi.

b. Optimasi Konsentrasi Reagen pada Test Strip

Reagen divariasikan dengan melarutkan serbuk kurkumin dalam pelarut metanol.

Reagen (mg)	58	63	68	73	78
Pelarut (mL)	100	100	100	100	100

Masing-masing diambil 2 mL. Proses imobilisasi dilakukan dengan mencelupkan membran *nata de coco* ukuran 1x1 cm ke dalam 2 mL reagen. Hasil optimum dari konsentrasi reagen dapat diketahui dari perubahan warna yang dihasilkan pada test strip serta data reflektansinya.

Karakteristik Test Strip

a. Daerah Linear (*Linear Range*)

Linier range ditentukan berdasarkan kurva kalibrasi yang diperoleh dari hasil respon test strip terhadap asam borat pada masing-masing konsentrasi yaitu: 0, 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm. Respon yang linear ditunjukkan melalui persamaan garis sebagai berikut:

$$y = mx + c \quad (1)$$

m = slope, c = intersep atau perpotongan terhadap sumbu y [9].

b. Limit deteksi

Limit deteksi merupakan konsentrasi terkecil yang memberikan sinyal pada sensor. Besarnya limit deteksi dapat diketahui dengan mengamati konsentrasi terkecil dari larutan standar asam borat yang masih dapat memberikan perubahan warna pada test strip, dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$Y_{LOD} = Y_B + 3 S_B$$

$$(Xm) = \frac{Y_{LOD} - c}{m} \quad (2)$$

Y_{LOD} = limit deteksi, Xm = konsentrasi limit deteksi, Y_B = c = intersep kurva kalibrasi, $S_B = S_{y/x}$ = standart deviasi blangko, dan m = slope kurva kalibrasi. Untuk menghitung nilai S_B digunakan rumus:

$$SB = \sqrt{\frac{\sum (Xi - \bar{X})^2}{n-2}} \quad (3)$$

dimana Xi = data ke 1, 2, 3, ..., dst, \bar{X} = rerata (mean) dan n adalah jumlah pengukuran / banyaknya ulangan [10].

c. Sensitivitas

Sensitivitas ditentukan berdasarkan kurva kalibrasi yang diperoleh dari hasil respon test strip terhadap asam

berat pada masing-masing konsentrasi yaitu: 0, 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm. Nilai sensitivitas dapat dinyatakan sebagai *slope* yang diperoleh dari kurva tersebut.

d. Penentuan reproduisibilitas

Disiapkan 3 tes strip dengan komposisi optimum yang sebelumnya telah dibuat dengan teknik yang sama tetapi dilakukan dalam waktu yang berbeda. Test strip dipotong dengan ukuran yang sama dan dicelupkan dalam larutan standar asam borat. Kemudian masing-masing test strip diukur reflektansinya. Dilakukan pencatatan dan perhitungan data.

Hasil pengulangan pengukuran yang memiliki reproduisibilitas yang baik disebut presisi, yaitu derajat pengulangan yang dinyatakan sebagai koefisien variasi (Kv) dari standar deviasi.

$$Kv = \left(\frac{SD}{X} \right) \times 100 \% \quad (4)$$

SD = standar deviasi, X = rata-rata absorbansi, Kv = koefisien variasi. Analisis kimia biasanya memiliki nilai Kv di bawah 5 %, maksudnya dalam 100 kali pengukuran hanya terdapat 5 kali kesalahan.

e. Life time

Pengujian dengan mempersiapkan test strip dengan ukuran 1x1 cm. Selanjutnya test strip dicelupkan dalam sampel. Data diambil dengan kamera digital. Pengambilan data dilakukan selama 30 hari.

Uji Real Sampel

Test strip yang sudah siap pakai dicelupkan ke dalam plat tetes yang berisi larutan sampel. Dipanaskan dalam oven hingga terjadi perubahan warna, kemudian dilakukan pengujian atau penetapan kadar asam borat menggunakan spektrofotometri reflektansi (Mujamil, 1997).

Pengujian selanjutnya dilakukan dengan melarutkan 1 mL larutan standar asam borat 4 ppm ke dalam 1 mL larutan sampel. Test strip yang sudah siap pakai dicelupkan ke dalam sampel yang telah ditambahkan dengan larutan standar asam borat, dipanaskan dalam oven hingga terjadi perubahan warna. Selanjutnya dilakukan pengujian atau penetapan kadar asam borat menggunakan spektrofotometri reflektansi. Perolehan kembali larutan standar dalam sampel dapat dihitung berdasarkan persamaan:

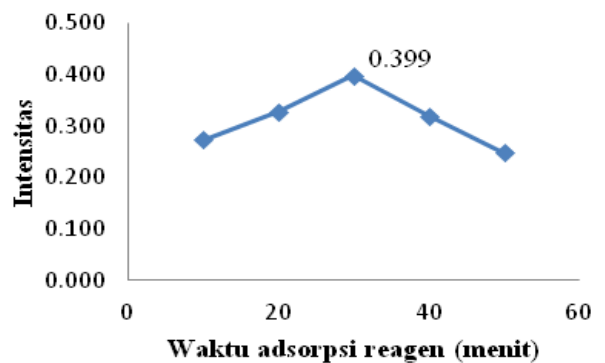
$$\% \text{ Perolehan Kembali} = \frac{(C_F - C_A)}{C^* A} \times 100 \% \quad (5)$$

C_F: Konsentrasi total sampel yang diperoleh dari pengukuran; C_A: Konsentrasi sampel yang sebenarnya; C*_A: Konsentrasi larutan standar yang ditambahkan [11].

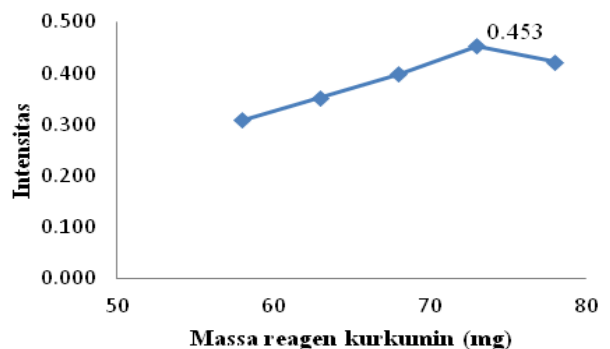
HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi waktu adsorpsi dan massa reagen pada membran

Test strip yang dibuat memiliki waktu adsorpsi optimum pada pencelupan 30 menit dengan massa reagen 73 mg (gambar 1 dan gambar 2). Waktu optimum pada 30 menit menunjukkan bahwa reagen telah teradsorpsi secara maksimal pada permukaan membran. Sementara pada waktu 10 dan 20 menit, reagen belum teradsorpsi maksimal pada permukaan membran sehingga ketika diukur nilai intensitasnya rendah. Waktu adsorpsi 40 dan 50 menit juga memberikan nilai intensitas yang rendah. Hal ini dikarenakan waktu adsorpsi yang lama menyebabkan terlalu banyak reagen yang teradsorpsi sehingga reagen menumpuk pada permukaan membran dan menjadikan warna membran lebih gelap. Intensitas yang diperoleh rendah karena sinar yang dipantulkan dari spektrofotometer reflektansi lebih gelap.



Gambar 1. Grafik optimasi waktu adsorpsi reagen kurkumin massa 68 mg pada membran.



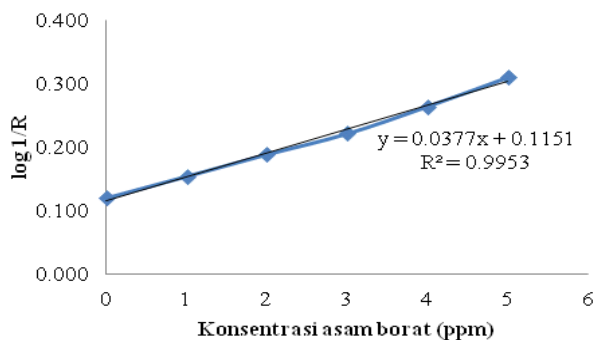
Gambar 2. Grafik optimasi massa reagen dengan waktu adsorpsi 30 menit pada membran.

Massa reagen optimum pada 73 mg menunjukkan bahwa reagen telah teradsorpsi secara maksimal pada permukaan membran. Sementara pada massa 58, 63 dan 68 mg, massa reagen masih terlalu kecil untuk dapat teradsorpsi maksimal pada permukaan membran. Hal ini menyebabkan ketika diukur dengan spektrofotometer reflektansi, sinar yang dipantulkan mendekati warna blanko

sehingga menghasilkan nilai intensitas yang rendah. Massa reagen 78 mg juga memberikan nilai intensitas yang rendah. Hal ini dikarenakan massa reagen yang lebih besar menyebabkan jumlah reagen yang teradsorpsi pada permukaan membran lebih banyak dan rapat. Massa lebih besar menyebabkan intensitas yang dihasilkan rendah karena sinar yang dipantulkan dari spektrofotometer reflektansi lebih gelap.

Karakteristik Test Strip

Test strip yang telah dibuat pada waktu dan massa optimum selanjutnya diuji karakteristiknya menggunakan larutan standar asam borat (gambar 3).



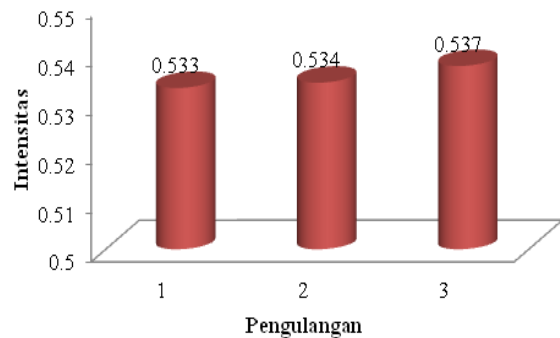
Gambar 3. Grafik hubungan antara konsentrasi asam borat (ppm) dengan log 1/R untuk test strip pada waktu adsorpsi optimum 30 menit dan massa reagen optimum 73 mg.

Berdasarkan pada kurva kalibrasi, diperoleh koefisien korelasi (r) sebesar 0,9953. Nilai r mendekati 1 menggambarkan korelasi positif, yakni hampir semua titik percobaan terletak pada satu garis lurus yang kemiringannya positif. Harga koefisien korelasi yang dapat diterima dalam suatu penelitian apabila tingkat kesalahan tidak melebihi 5%. Larutan standar asam borat konsentrasi 0 hingga 5 ppm memberikan respon garis linier yang ditunjukkan dari nilai koefisien korelasi sebesar 0,9953. Disebutkan linier pada konsentrasi 0 hingga 5 ppm karena pada penelitian ini larutan standar asam borat yang digunakan hanya dari konsentrasi 1 hingga 5 ppm.

Uji limit deteksi diketahui dari kurva kalibrasi yang diperoleh dari hasil test strip terhadap asam borat pada masing-masing konsentrasi. Berdasarkan dari hasil perhitungan, konsentrasi terkecil asam borat yang masih memberikan respon terhadap test strip adalah pada konsentrasi 0,661 ppm dengan nilai Y limit deteksi 0,140 dan nilai SB sebesar $8,312 \times 10^{-3}$. Nilai sensitivitas sebesar 0,0377. Hasil yang positif pada persamaan $y = mx + c$ menandakan bahwa adanya hubungan yang berbanding lurus antara kenaikan konsentrasi asam borat dengan log 1/R. Nilai sensitivitas sebesar 0,0377 menunjukkan bahwa setiap perubahan satuan konsentrasi larutan standar asam borat akan menghasilkan perubahan signal reflektansi sebesar 0,0377.

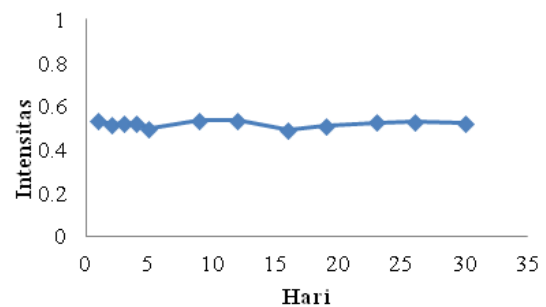
Reproduksibilitas dilakukan untuk mengetahui tingkat kepresisian test strip yang dibuat sebagai alat pendeteksi boraks seperti ditunjukkan pada gambar 4. Uji

reproduksibilitas dilakukan pada 3 test strip dengan komposisi optimum. Diambil 13 titik yang berbeda untuk pengukuran intensitas pada masing-masing test strip. Hasil data penelitian menunjukkan bahwa nilai intensitas pada tiap-tiap titik dalam satu membran memiliki nilai intensitas yang berbeda-beda tetapi penyimpangannya kecil. Dari hasil perhitungan diperoleh nilai reproduksibilitas 99,561 % dengan K_v sebesar 0,439 %, yang berarti kesalahan dalam pengukuran sebesar 0,439%.



Gambar 4. Grafik reproduksibilitas test strip setelah diuji dengan larutan standar asam borat 4 ppm.

Uji life time dalam penelitian ini dilakukan hingga 30 hari dan test strip masih memberikan perubahan warna yaitu merah pekat. Hasil pengujian menunjukkan bahwa test strip ini mempunyai kemampuan yang lama dalam mendeteksi boraks bahkan lebih dari 30 hari, seperti ditunjukkan pada gambar 5.



Gambar 5. Grafik *life time* test strip setelah diuji dengan larutan standar asam borat 4 ppm hari 1 hingga hari ke 30.

Uji Real Sampel (*Recovery*)

Uji *recovery* dilakukan untuk mengetahui kadar analit sebenarnya dan ketepatan suatu metode untuk mendeteksi keberadaan analit dalam sampel. Data hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi dari ketiga sampel makanan yaitu tempura, cilok dan sosis ayam merah masuk dalam range konsentrasi larutan standar asam borat. Hasil test strip konsentrasi asam borat dalam tempura sebesar 3,18 ppm, cilok 2,57 ppm dan sosis 1,85 ppm. Sedangkan konsentrasi asam borat untuk sampel mie basah

kuning sebesar 0,58 ppm dan bakso sapi kemasan 0,35 ppm. Sampel makanan yang positif mengandung boraks yaitu tempura, cilok dan sosis ayam merah ditambahkan dengan larutan standar asam borat 4 ppm untuk kemudian ditentukan % perolehan kembali larutan standar asam borat. Persen *recovery* yang diperoleh ditunjukkan dalam tabel 1.

Tabel 1. Persen *recovery*

Sampel	Konsentrasi sampel (ppm)	Konsentrasi sampel + as. borat (ppm)	% <i>recovery</i>
Tempura	3,18	6,87	92
Cilok	2,57	5,81	81
Sosis	1,85	5,49	91

Perolehan kembali analit (% *recovery*) dalam konsentrasi ppm adalah pada rentangan 80-110% [11]. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sampel tempura, cilok dan sosis berada pada rentang % *recovery* yang ditentukan, sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai *recovery* dari penelitian dapat diterima.

KESIMPULAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa waktu adsorpsi dan massa reagen optimum pada waktu 30 menit dengan massa reagen 73 mg. Sensitivitas, limit deteksi, reproduibilitas berturut-turut sebesar 0,0377; 0,661 ppm; 99,561 %. *Life time* test strip dapat bertahan lebih dari 30 hari. Uji *recovery* dilakukan terhadap sampel yang positif mengandung boraks yaitu tempura, cilok dan sosis dengan persen *recovery* berturut-turut adalah 92 %; 81 %; dan 91 %

Reaksi antara boraks dan kurkumin tidak dapat terjadi secara langsung, harus ada penambahan metode pemanasan. Diharapkan ada metode yang lebih baik lagi tanpa adanya pemanasan dan kinerja test strip untuk mendeteksi boraks hanya dalam hitungan detik. Selain itu perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut dalam pembuatan test strip boraks agar dapat mendeteksi boraks dalam konsentrasi yang lebih kecil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si. dan Bapak Siswoyo, M.Sc., Ph.D. atas saran dan kritiknya untuk kesempurnaan tulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] D.R. Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics 86th edition (2005-2006) section 4 page 88, USA: Trinity City Book.*
- [2] Coviello, Coluzzi, Palleschi, Grassi, Santucci, and Alhaique, "Structural and Rheological Characterization of Scleroglucan/borax Hydrogel for Drug Delivery", *Int. J. Biologica Macromol.* Vol. 32: 83-92, 2003.

- [3] S. Mizura, E. Tee, and H. Ooi, "Determination of Boric Acid in Foods: Comparative Study of Three Methods", *J. Sci. Food Agric.* Vol. 55: 261-268, 1991.
- [4] Thangavel, Dhavile, Dash, and Chaurasia, "Spectrophotometric Determination of Boron in Complex Matrices by Isothermal Distillation of Borate Ester into Curcumin", *Anal. Chim. Acta.* Vol. 502: 265-270, 2004.
- [5] J. Mujamil, "Deteksi dan Evaluasi Keberadaan Boraks pada Berbagai Jenis Makanan di Kotamadya Palembang", *Cermin Dunia Kedokteran.* No. 120: 17-21, 1997.
- [6] U. Sotanaphun, T. Phaechamud, and P. Dechwisissakul, "Rapid Screening Method for Curcuminoid Content in Tumeric (*Curcuma longa* Linn.)", *Thai. Pharm. Health Sci. J.* Vol. 2(2): 125-130, 2007.
- [7] M. Mulder, *Basic Principles Of Membrane Technology*, Kluwer Academic Publisher, 1996.
- [8] J. Silalahi, I. Meliana, L. Panjaitan, "Pemeriksaan Boraks di dalam Bakso di Medan", *Maj Kedokt Indon.* Vol. 60(11): 521-525, 2010.
- [9] R. Calcutt & R. Boddy, *Statistic for Analytical Chemistry*, London: Chapman and Hall, 1983.
- [10] J.C. Miller & J.N. Miller, *Statistics for Analytical Chemistry*, England: Ellis Horward, PTR, Prentice Hall, 1993.
- [11] Harmita, *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*, Departemen Farmasi FMIPA-UI, 2004.