

VALIDASI METODE ANALISIS SPEKTROFOTOMETRI UNTUK PENETAPAN KADAR FORMALDEHID DALAM IKAN ASIN DENGAN PEREAKSI ASAM KROMOTROPAT

Christina Indriasari

Program Studi Farmasi Diploma Tiga (Kampus Kota Madiun) – Fakultas Vokasi
Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya
E-Mail: christina.indriasari@ukwms.ac.id

ABSTRACT

Formaldehyde is in the form of clear dilution, uncolored or nearly uncolored, pungent, and the vapor stimulates the mucous membranes of the nose and throat as well as stimulates the release of tears. If it is frozen, it becomes turbid. Formaldehyde has an ability as a disinfectant but it is often misused as a preservative of food, such as salted fish. This research aimed to validate the simple, selective, and sensitive spectrophotometry analysis method to determine the total amount of formaldehyde in the sample of salted fish with chromotropic acid reagent. The three types of the salted fish were Jambal, Peda, and Squid samples, in the preparation tested for validation according to linearity, accuracy, and precision. The validation parameter with analysis method obtained linear regression curve $Y = 0,0361 + 0,0964x$ ($r = 0,9982$). The accuracy based on the percent recovery price (% recovery) was 96,04%, and the precision value with the obtained variation coefficient value was $0,0076 \pm 1,83\%$. The total amount of formaldehyde excreted was within the range of 10,85 ppm to 68,20 ppm.

Keywords: *spectrophotometry, formaldehyde, method validation, salted fish*

A. Pendahuluan

Jumlah penduduk yang semakin meningkat diiringi dengan meningkatnya jumlah konsumsi ikan. Jumlah konsumsi ikan dari tahun 2010 ke 2011 meningkat 4,81%. Jumlah tangkapan ikan di perairan Indonesia juga mengalami peningkatan sebesar 6,20% (Roberto *et al.*, 2013). Tangkapan ikan yang begitu besar dan konsumsi ikan meningkat tetapi masih banyak dari masyarakat yang masih tidak suka mengkonsumsi ikan. Untuk menanggulangi kelimpahan tangkapan ikan maka salah satu caranya adalah dengan diversifikasi bentuk atau jenis ikan dengan dijadikan ikan asin kering. Proses pembuatan ikan asin ini juga bertujuan untuk pengawetan ikan secara tradisional. Produsen nakal banyak yang memanfaatkan zat kimia tertentu dalam pembuatan ikan asin, yaitu dengan menambahkan zat pengawet yang peruntukannya bukan untuk makanan atau dilarang digunakan dalam makanan (Permenkes, 1998).

Formaldehid secara komersial tersedia dalam bentuk larutan yang mengandung tidak kurang dari 34,0% dan tidak lebih dari 38,0% formaldehid yang biasa disebut sebagai formalin. Larutan formalin di dalam air mengandung methanol sebesar 10-15% yang berfungsi sebagai stabilisator untuk mencegah polimerisasi.

Larutan formalin berupa larutan jernih, tidak berwarna, mempunyai bau yang menusuk, uap merangsang selaput lendir hidung dan tenggorokan (Anonim, 1979).

Penggunaan formaldehid sebagai disinfektan sehingga banyak dimanfaatkan untuk pembersih lantai kapal, gudang, pakaian, pembasmi lalat, bahan pembuatan sutra buatan dan dalam dunia forensik biasa digunakan untuk mengawetkan mayat. Sifat inilah yang disalahgunakan oleh produsen ikan asin untuk proses pengawetan dengan tujuan selain mengawetkan juga bisa menekan biaya produksi. Produsen ikan asin berformalin tidak memikirkan toksisitas formalin dan dampak yang terjadi pada konsumen setelah mengkonsumsinya. Beberapa dampak yang ditimbulkan bila formaldehid terhirup, dalam jangka pendek (akut) menyebabkan iritasi pada hidung dan tenggorokan, gangguan pernapasan, rasa terbakar pada hidung dan tenggorokan, batuk, jantung berdebar, sakit kepala, mual dan muntah. Sedangkan dalam jangka panjang (kronis) menyebabkan efek neuropsikologis meliputi gangguan tidur, cepat marah, kehilangan konsentrasi, daya ingat berkurang, gangguan haid, dan kanker (Rachmawati, 2005).

Banyaknya ikan asin berformalin yang beredar di pasaran membuat masyarakat harus lebih waspada, untuk itu diperlukan metode penetapan kadar formalin di samping menggunakan peralatan yang sederhana tetapi juga spesifik dan akurat (Anonim, 1979). Metode kolorimetri atau spektrofotometri adalah metode yang bekerja berdasarkan terbentuknya kompleks warna ungu antara formaldehid dengan pereaksi asam kromotropat. Berdasarkan hal tersebut maka pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar formaldehid dalam ikan asin dengan pereaksi asam kromotropat.

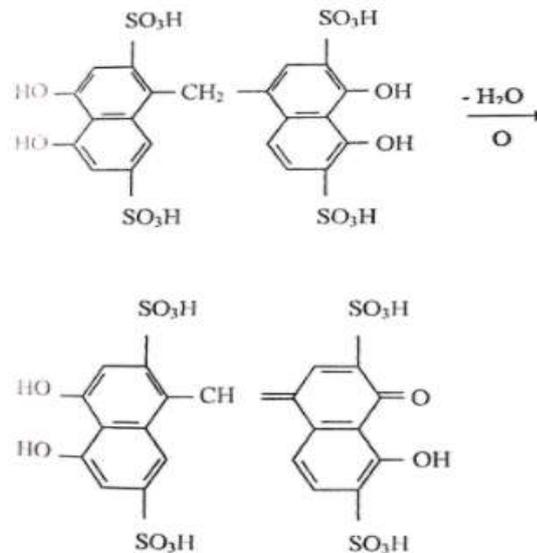
B. Tinjauan Pustaka

1. Formaldehid dan Asam Kromotropat

Formaldehid adalah gas yang tidak berwarna dan sangat mudah terbakar yang secara komersial sebagai larutan 30%-50% dalam air. Ketika formaldehid dilepaskan atau dibentuk di udara, sebagian besar akan terdegradasi dan sejumlah kecilnya berpindah ke air dan terurai. Formaldehid (CH_2O) juga dikenal sebagai methanal, metilen oksida, oxymethylen, methylaldehid dengan nomor registrasi 50-00-0. Pada suhu kamar, formaldehid adalah gas tidak berwarna dengan bau yang menyengat dan mengiritasi. Formaldehid sangat reaktif, mudah mengalami polimerisasi, sangat mudah terbakar dan dapat membentuk campuran yang mudah meledak di udara, terurai pada suhu 150°C , mudah larut dalam air, alkohol, dan pelarut polar lainnya. Dalam larutan air, formaldehid terhidrasi dan terpolimerisasi menjadi metilen glikol, polioksimetilena, dan hemiformal (WHO, 2002).

Asam kromotropat dengan rumus kimia $\text{C}_{10}\text{H}_2\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$ akan memberikan reaksi pembentukan kompleks warna ungu. Reaksi yang terjadi berdasarkan adanya proses kondensasi formaldehid akibat teroksidasi katalis asam sulfat yang berinteraksi dengan cincin aromatik dari asam kromotropat sehingga terbentuk senyawa *3,4,5,6-dibenzoxantylum* (Budiarti, 2009).

Beberapa metode yang dapat digunakan untuk menganalisis formaldehid, antara lain metode titrasi volumetri, metode kromatografi gas, metode kromatografi cair kinerja tinggi, dan metode kolorimetri. Penetapan kadar formaldehid didasarkan pada reaksi antara pereaksi asam kromotropat dengan formaldehid yang membentuk senyawa kompleks yang berwarna ungu dan serapannya dapat diukur pada panjang gelombang ± 570 nm (Marczenko & Balcerzak, 2000).



Gambar 1. Kompleks Warna Ungu Formaldehid-Asam Kromotropat

2. Spektrofotometer

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul REM merupakan bentuk radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel (foton). Adanya gugus kromofor memungkinkan terjadinya serapan. Gugus kromofor adalah gugus fungsional yang mengabsorpsi radiasi UV-Vis jika berikatan dengan auksokrom atau gugus fungsi yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Auksokrom adalah gugus fungsi yang memiliki elektron *non-bonding* tidak mengabsorpsi radiasi pada panjang gelombang di atas 200 nm. Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorpsi atau diteruskan. Jika radiasi monokromatik melewati larutan yang mengandung zat yang dapat menyerap, maka radiasi akan dipantulkan, diabsorpsi oleh zatnya, dan sisanya ditransmisikan.

Spektrofotometer UV-Vis ada 2, yaitu *single beam* dan *double beam*. Tipe *single beam*, celah keluar sinar monokromatis hanya satu, wadah atau kuvet yang dapat dilalui sinar hanya satu, setiap perubahan panjang gelombang alat harus dinolkan. Sedangkan pada *double beam* celah keluar sinar monokromatis ada dua, dapat melalui dua kuvet sekaligus, alat cukup satu kali dinolkan, dengan cara mengisi kedua kuvet dengan larutan blanko. Spektrum serapan pada spektrofotometer UV-Vis dapat dipengaruhi beberapa faktor, antara lain jenis pelarut, pH larutan, kadar larutan, tebal larutan, dan lebar celah (Harmita, 2004).

3. Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu. Berdasarkan percobaan laboratorium digunakan untuk membuktikan bahwa parameter tersebut mampu memenuhi persyaratan. Ada beberapa parameter pada validasi metode analisis, yaitu linieritas, akurasi, presisi, dan batas deteksi (Harmita, 2004).

Linieritas merupakan suatu kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik serta proporsional terhadap konsentrasi analit di dalam sampel. Cara penentuan linieritas biasanya dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Nilai linieritas digunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linier $Y = a + bX$.

Akurasi atau kecermatan adalah ukuran yang dapat menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi atau kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*% recovery*) analit yang ditambahkan atau kadar suatu senyawa yang dianalisis dan untuk mencapai kecermatan yang tinggi dapat dilakukan dengan cara menggunakan peralatan yang sudah dikalibrasi, menggunakan pereaksi dan bahan pelarut yang baik, di dalam pelaksanaannya dengan cermat, taat asas sesuai prosedur yang sudah ada serta adanya pengontrolan suhu.

Presisi atau keseksamaan adalah ukuran yang mampu menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual dan diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur yang diterapkan dilakukan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi atau keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Keseksamaan dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*).

C. Metode Penelitian

1. Bahan Penelitian

Sampel ikan asin yang diperoleh dari pasar yang berada di empat wilayah Solo. Sampel yang dianalisis terdiri atas 3 jenis, yaitu cumi, jambal, dan peda. Larutan formaldehid standar, Akuades (Otsuka Pharmaceutical), pereaksi asam kromotropat, hidrogen peroksida, natrium hidroksida, indikator PP, dan HCl 1N.

2. Alat Penelitian

Neraca analitik (Shimadzu Libror AEG-300), Spektrofotometer UV 1201 (Shimadzu), *waterbath* (Lab Line), *Sentrifuge* (Kubota 6800), labu ukur, beker gelas, batang pengaduk, tabung reaksi, Erlenmeyer, gelas ukur.

D. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Larutan Standar Formaldehid

Pembuatan larutan induk formaldehid dengan cara menimbang dengan seksama 682,20 mg larutan formaldehid baku kemudian dilarutkan dengan akuades hingga volume 250,0 ml. Larutan standar formaldehid dibuat dengan memipet 5,0 ml larutan induk dan dilarutkan dengan akuades hingga volume 100,0 ml.

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dibuat dengan cara memipet 20,0 ml larutan standar formaldehid, diencerkan dengan akuades hingga volume 50,0 ml. kemudian memipetnya 1,0 ml larutan tersebut dimasukkan dalam tabung reaksi, tambahkan 5,0 ml pereaksi asam kromotropat, kocok dan panaskan dalam *waterbath* ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit, kemudian mengukur serapannya pada panjang gelombang 450-650 nm.

3. Penetapan Kadar Formaldehid

Larutan formaldehid yang dipakai sebagai larutan baku ditetapkan kadarnya dengan cara memipet 1,0 ml larutan formaldehid dimasukkan dalam Erlenmeyer ditambah 20 ml air, 2 ml hydrogen peroksida dan 20 ml larutan natrium hidroksida 1N. Kemudian campuran dipanaskan dalam *waterbath* selama 30 menit, setelah dingin ditambah 3 tetes indikator PP dan dititrasi dengan HCl 1N hingga warna merah hilang.

4. Uji Stabilitas Serapan Kompleks Formaldehid-Asam Kromotropat

Uji stabilitas dilakukan dengan cara memipet 20,0 ml standar formaldehid, diencerkan dengan akuades hingga volume 50,0 ml. Kemudian memipetnya 1,0 ml ditambah 5,0 ml pereaksi asam kromotropat, dikocok dan dipanaskan di *waterbath* ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit. Ditentukan stabilitas serapannya terhadap waktu pada panjang gelombang maksimum.

5. Validasi Metode Analisis

Validasi Metode Analisis dilakukan dengan menentukan beberapa parameter, yaitu:

a. Linieritas

Larutan dibuat dari larutan induk yang dipipet 5,0 ml diencerkan dengan akuades sampai 100,0 ml kemudian dipipet masing-masing 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 ml kemudian masing-masing di encerkan sampai 50,0 ml dengan akuades kemudian masing-masing dipipet 1,0 ml direaksikan dengan 5,0 ml pereaksi asam kromotropat.

b. Presisi

Membuat larutan formaldehid yang mengandung 20 mg/L dan menambahkan 5,0 ml pereaksi asam kromotropat kemudian dikocok dan dipanaskan dalam *waterbath* ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit. Didinginkan pada temperatur kamar selama 30 menit ditambah dengan *operating time*. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum.

c. Perolehan Kembali Kadar Formaldehid dalam Ikan Asin (% *Recovery*)

Menimbang sejumlah tertentu larutan formaldehid baku, diencerkan dengan akuades sampai volume 100,0 ml. kemudian dipipet 10,0 ml ditambahkan pada 100,0 ml akuades yang mengandung ± 10 g ikan asin yang dibuat sendiri. Perhitungan menggunakan metode *One Point Method* dan dicari % perolehan kembali. Metode dikatakan akurat bila persen *recovery* yang diperoleh bernilai 80-100%.

6. Penetapan Kadar Formaldehid dalam Ikan Asin

Kadar formaldehid dalam sampel ikan asin didapatkan dari sejumlah sampel ikan asin diblender, kemudian serbuk yang diperoleh ditimbang dengan seksama ± 10 gram dimasukkan dalam Erlenmeyer ditambahkan 100 ml akuades lalu dipanaskan selama 1 jam di atas *waterbath* ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$), dibiarkan dingin dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan akuades hingga volume 100,0 ml dan kemudian disentrifugasi. Supernatan dipipet 1,0 ml dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5,0 ml asam kromotropat, kemudian dikocok dan dipanaskan dalam *waterbath* ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit. Setelah itu didinginkan pada temperatur kamar selama 30 menit ditambah dengan *operating time* dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum.

E. Hasil dan Pembahasan

Formaldehid yang penggunaannya tidak diperuntukkan sebagai bahan tambahan makanan tetapi disalahgunakan untuk mengawetkan makanan karena berfungsi sebagai desinfektan yang mampu membunuh kuman, bakteri, dan jamur yang dapat merusak bahan makanan khususnya ikan asin dalam proses penyimpanan dan pendistribusian dan juga bisa menghemat biaya produksi karena bahan makanan bisa lebih lama disimpan dan tidak rusak. Padahal masih banyak cara pengawetan bahan makanan dengan cara tradisional, misalnya dengan cara pengasapan, penjemuran, dan penggaraman.

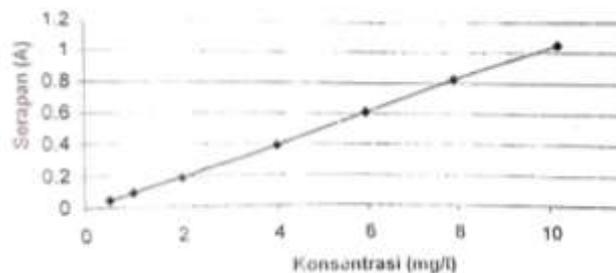
Beberapa metode analisis yang digunakan untuk menganalisis formaldehid, antara lain kromatografi gas, kromatografi cair kinerja tinggi, dan kolorimetri. Pada penelitian ini digunakan metode kolorimetri dengan menggunakan alat spektrofotometer dengan alasan metode ini adalah metode yang paling sederhana, mudah dilakukan, cepat, akurat, dan tidak ada komponen yang mengganggu sehingga ke depannya bisa digunakan untuk penentuan kadar formaldehid dalam tubuh atau urin bila seseorang mengkonsumsi makanan yang mengandung bahan berbahaya seperti formaldehid.

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul REM merupakan bentuk radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel (foton). Adanya gugus kromofor memungkinkan terjadinya serapan. Panjang gelombang terjadinya serapan di daerah UV adalah 190-380 nm, sedangkan daerah Visibel pada panjang gelombang 380-900 nm. Reaksi kompleks warna ungu yang terbentuk antara formaldehid dan asam kromotropat dapat dibaca pada alat spektrofotometer.

Validasi metode analisis merupakan tindakan penilaian terhadap parameter tertentu dan untuk membuktikan parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya dan diperlukan apabila suatu metode belum pernah digunakan sebelumnya sehingga diharapkan metode ini dapat memberikan hasil yang valid, konsisten, dan mampu diandalkan pada setiap prosesnya meskipun dilakukan oleh orang yang berbeda. Beberapa parameter pada validasi metode yang dilakukan meliputi linieritas, presisi, dan perolehan kembali (% *recovery*) (Harmita, 2004).

1. Linieritas

Metode linieritas dilakukan dengan membuat larutan baku kerja dengan konsentrasi 0,5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L, 6 mg/L, 8 mg/L, 10 mg/L. Kemudian masing-masing direaksikan dengan asam kromotropat dan diukur intensitasnya pada panjang gelombang 570 nm dan dibuat sebuah persamaan garis regresi linear antara kadar formaldehid dengan intensitas serapan yang terukur sehingga diperoleh persamaan $y = 0,0361 + 0,0964x$ dengan nilai koefisien korelasi (r hitung) sebesar 0,9982. Nilai linearitas yang baik adalah $\geq 0,999$ atau yang mendekati nilai 1 (Kazakevich dan Lobruto, 2007).



Gambar 2. Kurva Regresi Linear Formaldehid-Asam Kromotropat

2. Akurasi

Akurasi metode ditetapkan berdasarkan harga persen *recovery*. Metode ini dikatakan akurat karena mempunyai persen *recovery* yang diperoleh yaitu 96,04% yang berarti ada dalam rentang yang dipersyaratkan yaitu 80-100% (Synder *et al.*, 2010).

Tabel 1. hasil uji Akurasi Formaldehid dalam Ikan Asin

Serapan Sampel (A)	Konsentrasi Standar (mg/L)	Perolehan Kembali (%)
0,947	10	95,13
0,972	10	96,70
0,969	10	95,21
0,978	10	97,10
Rata-rata		96,04 ± 1,01

3. Presisi

Metode dalam penelitian ini mempunyai nilai presisi dengan nilai KV yang diperoleh adalah sebesar $0,0076 \pm 1,83\%$. Suatu metode dikatakan presisi apabila

nilai KV yang diperoleh tidak lebih dari 10% dan nilai presisi RSD ≤ 2 (Synder *et al.*, 2010).

Tabel 2. Hasil Uji Presisi Formaldehid

Konsentrasi Formaldehid (mg/L)	Serapan (A)
20	0,422
20	0,416
20	0,418
20	0,409
20	0,427
20	0,411
20	0,404
20	0,410

4. Penetapan Kadar Formaldehid dalam Ikan Asin

Sampel yang di analisis didapatkan dari 3 ikan asin yaitu ikan jambal, ikan peda dan cumi-cumi dengan perlakuan sampel diblender dan diambil supernatannya untuk direaksikan dengan asam kromotropat. Setiap sampel dilakukan replikasi sebanyak 2 kali pengulangan sampel.

Tabel 3. Kadar Formaldehid dalam Ikan Asin

Sampel	Kadar Formaldehid (ppm)
Ikan Asin 1 (Jambal)	59,7 ± 0,85
	47,6 ± 0,14
	68,2 ± 0,85
	10,85 ± 0,07
Ikan Asin 2 (Cumi)	36,55 ± 0,49
	18,9 ± 0
	19,8 ± 0,14
	38,55 ± 0,35
Ikan Asin 3 (Peda)	35,9 ± 0,07
	28,55 ± 0,35
	19,45 ± 0,35
	36,8 ± 0,42

Berdasarkan hasil penetapan kadar formaldehid pada sampel ikan asin dengan menggunakan alat spektrofotometer diperoleh hasil dengan rentang kadar antara 10,85 ppm hingga 68,2 ppm, hal ini sangat dimungkinkan karena penambahan larutan formaldehid pada sampel ikan asin yang digunakan sebagai pengawet tidak mempunyai takaran hanya dengan tujuan awet saja. Pada sampel ikan jambal memberikan hasil kadar formaldehid paling besar karena sampel yang ada adalah potongan daging ikan jambal yang tebal sehingga membutuhkan jumlah pengawet yang lebih banyak pula.

F. Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa metode analisis formaldehid dalam sampel ikan asin dengan pereaksi asam kromotropat menggunakan alat spektrofotometer memberikan hasil yang linear, akurat, dan presisi. Pada beberapa parameter yang digunakan untuk validasi metode yaitu linieritas memberikan korelasi yang memenuhi persyaratan dengan nilai r hitung 0,9982. Hasil akurasi berdasarkan harga persen perolehan kembali (% *recovery*) yaitu $96,04 \pm 1,01$ %, serta nilai presisi dengan nilai koefisien variasi yang diperoleh adalah sebesar $0,0076 \pm 1,83$ %.

2. Saran

Perlu dilakukan pengujian formaldehid pada sampel-sampel bahan makanan yang lain, misalnya pada tahu atau mie basah dan dilakukan penyuluhan cara pengawetan bahan makanan yang baik dan benar serta informasi tentang bahaya penggunaan formaldehid sebagai pengawet makanan.

Daftar Pustaka

- Anonim. 1979. Farmakope Indonesia. Edisi III. Departemen Kesehatan RI. Jakarta: 772-773.
- Budiarti A., Supriyanti, Musinah S., 2009. Pengaruh Perendaman dalam Air Hangat terhadap Kandungan Formalin pada Mie Basah dari Tiga Produsen yang Dijual di Pasar Johar Semarang. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik* Vol. 6 :1-6.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol.1 (3): 117-135.
- Harmita I.G.A.K. 2004. Buku Ajar Spektroskopi. Universitas Setia Budi Surakarta. Surakarta: 18-24.
- Hladova, M, *et al.*, 2019. Review of Spectrophotometric Methods for Determination of Formaldehyde. *Research papers Faculty of Materials Sciene and Technology in Trnava*. Vol.27 (44).
- Kazakevich, Y. dan Lobrutto, R. 2007. HPLC for Pharmaceutical Scientist. New Jersey. USA: John Willey&Sons Inc.
- Pauline, JS., *et al.*, 2016. Development of a detection method of Formalin in Foods Based on Chromotropic Acid Test. Department of Chemical Engineering University of Santo Thomas Manila.
- Permenkes RI. 1988. Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 722/MENKES/PER/IX/1988. Tentang Bahan Tambah Makanan. DepKes RI. Jakarta: 521.
- Rachmawati, E. 2005. Waspada Adanya Makanan Berformalin di Pasaran. Artikel Kompas Minggu 26 Juni 2005. (Online) <http://www.kompas.com/kesehatan/news/0506/26/085637.htm>, diakses 28 Desember 2005).

- Roosita, A., 2007. Validasi Metode Spektrofotometri Visibel Untuk Penetapan Kadar Ampisilin Menggunakan Pereaksi Asetilaseton dan Formalin. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Santa Dharma Yogyakarta.
- Sharma, S., Goyal, S., Chauhan, K. 2018. A Review on Analytical Method Development and Validation. *Int. J. App. Pharm.* Vol.10 (6): 8-15.
- Synder, L. R., Kirland, J.J., dan Dolan, J.W. 2010. Introduction to Modern Liquid Chromatography. Third edition. New Jersey. USA: John Willey&Sons Inc.
- WHO. 2002. Formaldehyde. *Concise International Chemical Assessment Document* 40. Geneva : 1-88.