# VALIDASI METODE SPEKTROFOTOMETRI-VIS PADA PENETAPAN KADAR BORAKS DI DALAM BAKSO

**SUDJARWO*, POEDJIARTI S, ANGERINA N**
Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga
**) Email : sudjarwo0958@gmail.com*

***ABSTRACT***

*Borax, in illictic additive substance, was added on certain food product as a preservatife and rubbery. Therefore, the determination of borax in food product such as meatball is very impotant in view of meatball is a food product often consumed by the general public. UV-Vis Spectrophotometric method with curcumine 0,125% as a reagent and glacial acetic acid-sulphuric acid has been used for determination of borax in this research. Curcumin reagent select because sensitivity of the method and the reproducibility of the results obtained depend on the quality of the curcumin reagent, and on rigorous observance of the reaction conditions (temperature, time, reagent quantities). Used glacial acetic acid-sulphuric acid because in acid media, curcumin and boron form a violetred 2:1 complex called rosocyanin. The optimum result were obtained when 1,0 ml solution of 0,125% curcuumin and 1,0 ml condition concentrated sulphuric acid were added and the absorbance was measured after 70 minutes at 547 nm. The result shows linear regression was y = 1,3127x – 0,0994, r = 0,9690 > r table (n = 5) is 0.878 and p = 0,007 (p< 0,01) and Vxo is 15,53%. The detection limit were found to be $9{,}7.10^{-4}$ ppm and quantitation limit is 2,94. $10^{-3}$ ppm. Respectively, the recovery percentage was 47,56% and the coefficient variation was 3,92%.The determination of borax in three meatball sample which were taken from a area Surabaya showed that sample is positive of borax and the concentration was 0,0205 ; 0,0151 ; 0,0210 (% w/w).*

***Keywords** : Borax, meatball, validation, spectrophotometric UV-Vis, rosocyanin*

## PENDAHULUAN

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Terdapat empat kategori uji validasi dan parameter-parameter yang dibutuhkan (Anonim$_8$, 2007), yaitu: Kategori I, metode analisis untuk komponen utama dari substansi obat atau bahan aktif (termasuk bahan pengawet) pada produk akhir farmasetik. Kategori II, metode analisis untuk menetapkan cemaran dalam bahan baku, tambahan pangan (uji kuantitatif dan limit tes). Kategori III, metode analisis untuk menentukan karakteristik obat (misal: disolusi dan pelepasan obat). Dan kategori IV, tes identifikasi. Karakteristik kinerja metode analisis dinyatakan sebagai parameter analisis (Anonim$_7$, 2001).

. Validasi metode ini penting dilakukan karena berhubungan dengan reprodusibilitas metode yang dikembangkan sehingga memberikan hasil yang sama meskipun perbedaan pada personil, instrumen, prosedur dan tempat pengerjaan (Gandjar dan Rohman,2007). Instrumen yang biasa digunakan dalam metode analisis adalah *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), *Gas Chromatography (GC), Thin Layer Chromatography (TLC)*, dan Spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri digunakan untuk menganalisa senyawa yang dapat mengabsorbsi radiasi elektromagnetik (UV-Vis) atau pada senyawa yang mengandung ikatan rangkap terkonjugasi (Kemp, W., 1975).

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk menganalisis kualitatif dan kuantitatif salah satu bahan tambahan makanan yang dilarang penggunaannya oleh pemerintah. Berdasarkan Peraturan Menkes No 1168/Menkes/Per/ IX/99 terdapat contoh dari bahan tambahan makanan yang dilarang dalam penggunaannya antara lain adalah asam borat dan senyawanya (Boraks). Boraks pada umumnya digunakan sebagai pengawet. Namun, selain sebagai pengawet juga dimaksudkan untuk mendapatkan tekstur makanan yang bersifat kenyal, renyah dan padat, terutama pada jenis makanan, seperti pada bakso yang sangat digemari terutama pada anak-anak ( Mujamil, J.S., 1997). Boraks merupakan senyawa kimia yang berbahaya yang

dapat menyebabkan muntah-muntah, diare, erythema, penurunan Sistem Saraf Pusat (SSP), dan kerusakan ginjal (Rowe *et al*, 2006). Agar diperoleh kondisi yang optimal dari reaksi antara boro-kurkumin dalam suasana asam maka diperlukan suatu optimasi.

Pada penetapan kadar boraks perlu dilakukan validasi metode karena dapat memberikan hasil analisis yang akurat, spesifik dan reprodusibel. Parameter validasi metode yang diuji termasuk dalam kategori I yaitu spesifitas, linearitas, limit deteksi dan kuantitasi, presisi dan akurasi (Anonim, 2007).

## METODE PENELITIAN

**Alat:**

Spektrofotometer (Lambda EZ 201 Perkin Elmer), Timbangan analitik (O-Haous Adventurer), Penangas air, Cawan porselen, Alat-alat gelas yang umum diganakan pada analisis kuantitatif.

**Bahan :**

Boraks (natrium tetraborat) p.a, kurkumin 0,125%, $H_2O_2$ 30%, Etanol, $H_2SO_4$ pekat p.a, asam asetat glacial p.a, aquadest dan bakso.

**Metode :**

**1. Pembuatan bakso**

Daging yang sudah digiling sampai halus, campur bersama garam dan aduk, lalu masukkan bawang putih dan merica. Setelah adonan rata masukkan tepung dan putih telur aduk sampai tercampur. Kemudian, bentuk adonan menjadi bulatan menggunakan 2 sendok dan rebus dalam air mendidih hingga bakso mengapung, angkat dan tiriskan.

**2. Preparasi sampel**

Sampel kering di dalam cawan porselin dipanaskan di oven $100\pm5^0$ C sampai kering (30 menit), tambahkan larutan kurkumin 0,125% dan 1,0 ml asam sulfat-asam asetat (1:1). Pindahkan ke dalam labu takar 25,0 ml dengan bantuan alkohol 96%.

**3. Penentuan panjang gelombang terpilih**

Larutan boraks 0,106 ppm, 0,318 ppm dan larutan blanko, selanjutnya seperti di preparasi sampel. Selanjutnya diamati spektranya dengan Spektrofotometer-Vis pada panjang gelombang 480–640 nm untuk menentu-kan panjang gelombang terpilihnya.

4. **Penambahan Larutan Kurkumin 0, 125 %**

Larutan boraks 0,533 ppm dan larutan blanko selanjutnya dilakukan preparasi sampel. Tambahkan ;arutan kurkumin 0,125 % berbagai volume dan asam sulfat-asam asetat (1:1) dalam labu ukur 25,0 ml, kemudian ditambahkan alkohol 96% sampai garis tanda dan kocok sampai homogen. Dari larutan tersebut, kemudian diamati absorbansinya menggunakan Spektrofotometer-Vis pada panjang gelombang terpilih.

**5. Penambahan Larutan Asam Asetat – Asam Sulfat**

Larutan boraks 0,533 ppm dan larutan blanko, selanjutnya di preparasi sampel. Ditambahkan larutan kurkumin 0,125% sebanyak volume terpilih dan larutan asam sulfat – asam asetat (1:1) berbagai volume dalam labu ukur 25,0 ml, kemudian ditambahkan alkohol 96% sampai garis tanda dan kocok sampai homogen. Dari larutan tersebut, kemudian diamati absorbansinya mengguna-kan Spektrofotometer-Vis pada panjang gelombang terpilih.

**6. Kestabilan warna**

Larutan boraks 0,528 ppm dan larutan blanko, selanjutnya dipreparasi sampel. Ditambahkan larutan kurkumin 0,125% sebanyak volume terpilih dan larutan asam sulfat–asam asetat (1:1) sebanyak volume terpilih dalam labu ukur 25,0 ml, kemudian ditambahkan alkohol 96% sampai garis tanda dan kocok sampai homogen. Kemudian diamati absorbansinya menggunakan Spektrofotometer-Vis pada panjang gelombang maksimum dengan variabel waktu.

**7. Penetapan Kadar Air**

Bakso ditimbang 2 gram dan dikeringkan pada 105°C pada oven sampai diperoleh berat yang konstan. Gunakan wadah atau kurs porselen dengan diameter ≥ 50 mm dan tinggi kurang dari 45 mm. Setelah itu, keringkan dalam desikator dan timbang berat akhirnya. Hasil kadar air dihitung dari selisih berat penimbangan awal sebelum pengeringan dengan berat akhir setelah pengeringan (Horwitz,

2000).

8. **Validasi Metode**

**Selektivitas/Spesifisitas**

Larutan boraks 0,8224 ppm, matriks (bakso) yang ditambahkan boraks 1,475 ppm, matriks (bakso) yang tidak ditambahkan boraks, larutan blanko. Selanjutnya dilakukan preparasi sampel pada kondisi optimal dan diamati spektranya.

**Liniearitas**

Larutan baku kerja dengan konsentrasi 0,1068 ppm; 0,2136 ppm; 0,3204 ppm; 0,4272 ppm; 0,5340 ppm. Selanjutnya dipreparasi sampel dan diamati absorbansinya.

**LOQ**

Larutan baku kerja boraks dengan konsentrasi 0,001; 0,005; 0,01; 0,03; 0,05 ppm dan blanko dilakukan preparasi sampel, diamati absorbansinya.

**Presisi**

Larutan boraks 0,532 ppm yang telah dipreparasi sampel, diamati absorbansinya sebanyak sepuluh kali pengamatanan.Kemudian dihitung ansorbansi rata–rata, Standart Deviasi (SD) dan Koefisisen Variasi (KV).

**Akurasi**

Bakso yang tidak mengandung boraks yang telah dihaluskan, ditambahkan boraks dengan konsentrasi 0,6 mg/g; 1,0 mg/g; 3,0 mg/g dan 3,5 mg/g, matriks yang telah mengandung boraks sebanyak 0,5 g dan kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat 250 ml, ditambahkan 2,0 ml larutan $H_2SO_4$ pekat, labu ditutup dengan pendingin balik, dipanaskan dengan api kecil untuk meratakan larutan asam, larutan akan menjadi hitam kemudian labu tersebut didinginkan dalam air–es, jika timbul asap dibiarkan sebentar. Tambahkan 2,0 ml larutan $H_2O_2$ 30%, segera ditutup kembali dan pemanasan dilanjutkan sampai 5 menit atau sampai timbul asap, didinginkan sampai suhu ruang dalam air–es. Larutan tersebut dipindahkan ke dalam labu ukur 100,0 ml, labu beserta pendingin balik dibilas dengan aquadest kemudian dimasuk-kan ke dalam labu ukur dan tambahkan aquadest sampai garis tanda, kemudian dilakukan preparasi sampel.

**Aplikasi Penetapan Kadar Boraks dalam Bakso**

**Analisis Kualitatif**

Sampel bakso yang diduga mengandung boraks diidentifikasi secara kualitatif dengan mengamati warna yang terbentuk dari hasil rekasi boraks dengan kurkumin 0,125% dalam suasana asam. Kemudian diamati spektra larutan dengan menggunakan Spektrofotometer-Vis pada rentang panjang gelombang 480-640 nm.

**Analisis Kuantitatif**

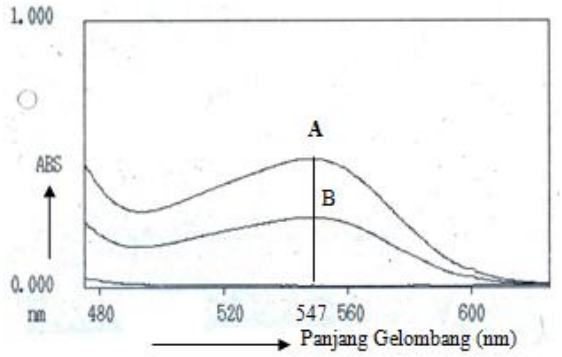
Analisis kuantitatif dilakukan seperti pada uji akurasi

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada penetapan kadar boraks dalam bakso ini secara kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan pereaksi kurkumin. Dipilih pereaksi kurkumin karena metode kurkumin sangat sensitif dalam menentukan jumlah boron. Sensitifitas metode dan reprodubilitas hasilnya bergantung pada kualitas pereaksi kurkumin dan tergantung pada kondisi saat terjadinya reaksi (waktu, temperatur, jumlah pereaksi) (Marczenko Z, Balcerzak M,2000).

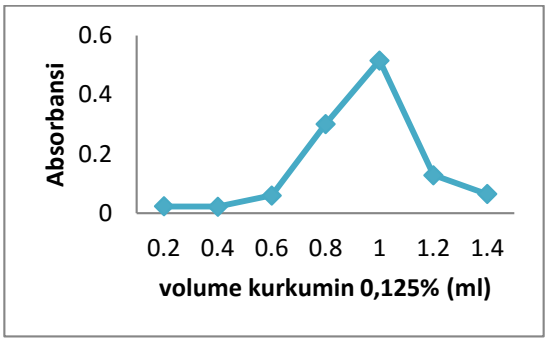
**Optimasi Kondisi optimal Reaksi antara Boron dan Kurkumin**

**Penentuan Panjang Gelombang Terpilih**




**Gambar 1**. Spektra senyawa kompleks boro-kurkumin, A.Boraks konsentrasi 0,318 ppm;B.Boraks konsentrasi 0,106 ppm

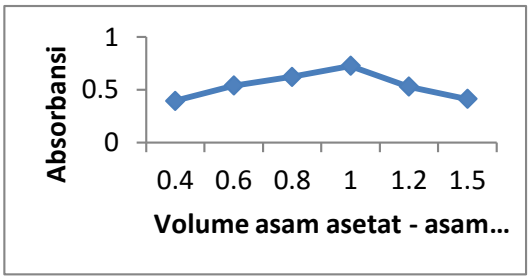
**Optimasi Penambahan Kurkumin**




**Gambar 2**. Optimasi penambahan larutan kurkumin 0,125 %

Dari gambar 2 menunjukkan bahwa penambahan larutan kurkumin 0,125% yang optimal adalah 1,0 ml yang ditunjukkan dengan adanya absorbansi 0,515. Selanjutnya volume penambahan larutan kurkumin 0,125% yang dipilih adalah 1,0 ml.

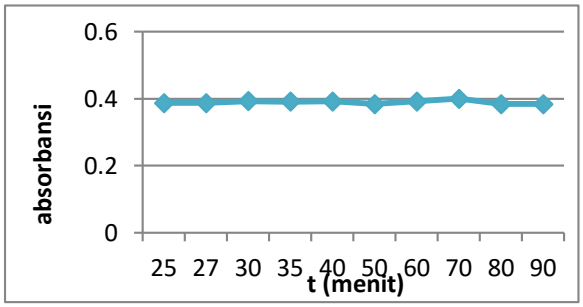
**Optimasi Penambahan Asam**




**Gambar 3**. Optimasi penambahan asam asetat glasial-asam sulfat

Dari gambar 3 bahwa penambahan campuran asam asetat glasial-asam sulfat pekat (1:1) yang optimal adalah 1,0 ml yang ditunjukkan dengan adanya absorbansi sebesar 0,729. Selanjutnya volume penambahan campuran asam sulfat pekat-asam asetat glasial (1:1) yang dipilih adalah 1,0 ml.

**Optimasi Kestabilan Warna**




**Gambar 4**. Optimasi kestabilan warna

Dari gambar 4 maka menunjukkan bahwa kestabilan warna boraks yang direaksikan dengan kurkumin 0,125% terjadi pada menit ke 30 hingga 90. Sedangkan kestabilan warna dipilih pada menit ke-70.

Kompleks yang terbentuk merupakan kompleks rososianin merah (boro-kurkumin) yang stabil dan spesifik. Reaksi ini dapat berlangsung dalam suasana asam oleh karena itu digunakan pereksi asam asetat pekat-asam sulfat pekat.

Untuk dapat memperoleh senyawa berwarna merah rososianin yang stabil, maka perlu dilakukan jumlah penambahan reagen dan kondisi yang optimal untuk analisa boraks. Hasil pengamatan, panjang gelombang terpilih dari hasil reaksi antara boraks dan kurkumin adalah 547 nm, tidak berbeda jauh dengan panjang gelombang maksimal peneliti lain 550 nm (Marczenko, Z, Balcerzak, M.,2000). Optimasi penambahan kurkumin 0,125% adalah sebanyak 1,0 ml karena nilai absorbansi yang paling tinggi, sedangkan peneliti lain 3,0 ml kurkumin 0,125% (Horwits W, 2000). Penambahan asam ditambahkan volume campuran asam asetat glasial-asam sulfat pekat dengan absorbansi tertinggi terdapat pada volume 1,0 ml.

Kestabilan warna ini bertujuan untuk menjamin reaksi antara boraks dengan pereaksi telah berjalan dengan sempurna, yang ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang stabil pada menit ke 70, pada penelitian lain (Liu, Y.M and Lee,K., 2009) pada 70 menit sampai 2 jam.

**Penetapan Kadar Air pada Sampel Bakso**

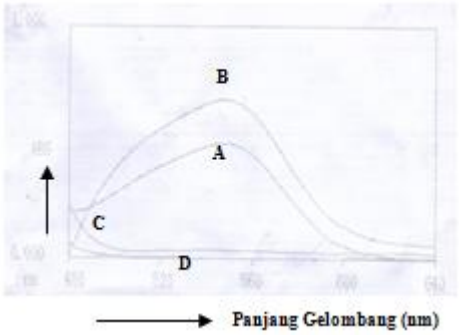
**Tabel 1**. Kadar air sampel Bakso

| Sampel | KadarAir | |
|---|---|---|
| Blanko | 65,28% | Rata-rata = 64,76% |
| | 63,74% | SD = 0,8834 |
| | 65,26% | KV = 1,36% |
| Sampel 1 | 73,45 % | Rata-rata = 73,03% |
| | 71,94 % | SD = 0,9349 |
| | 73,63% | KV = 1,28% |
| Sampel 2 | 68,10% | Rata-rata = 67,68% |
| | 67,12% | SD = 0,5076 |
| | 67,84% | KV = 0,75% |
| Sampel 3 | 64,62% | Rata-rata = 65,09% |
| | 64,88% | SD =0,6087 |
| | 65,78% | KV = 0,93% |

Pada penetapan kadar air yang terdapat dalam matriks bakso rata-rata adalah 64,74%.

**Validasi Metode**

**Selektifitas**

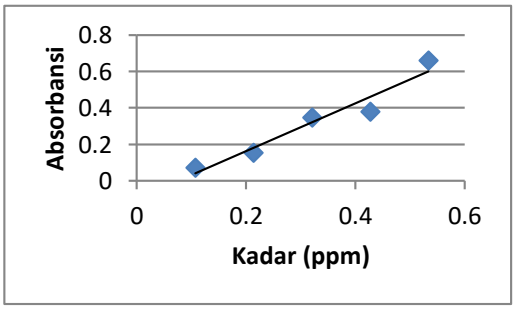



**Gambar 5.** Spektra senyawa kompleks boro-kurkumin dari standart boraks dan boraks dalam matriks bakso. A.Standart boraks 0,8224 ppm;B.Boraks dalam sampel bakso 1,475 ppm;C.Blanko;D.Matriks bakso

Pada uji selektivitas, dibuat profil spektra standart boraks, matriks dan matriks yang ditambah dengan boraks. Dari ketiga profil spektra tersebut menujukkan bahwa tidak ada pengaruh matriks pada panjang gelombang terpilih 547 nm.

**Linearitas**

Dari perhitungan linearitas didapatkan persamaan regresi yaitu: y = 1,3127x – 0,0994. Koefisien korelasi (r = 0,9690) lebih besar dari r table untuk n = 5 yaitu 0.878 untuk p < 0,05. Dan nilai p yang diperoleh adalah 0,007 ( p < 0,05 ) dengan harga Vxo sebesar 15,53%. Dari data absorbansi di atas dapat dibuat kurva linearitas antara absorbansi kompleks boro-kurkumin pada berbagai seri konsentrasi boraks seperti pada gambar 6.




**Gambar 6.** Linearitas larutan Boro-kurkumin

Linearitas menunjukkan terdapat hubungan linear antara kadar senyawa hasil reaksi boraks-kurkumin dengan absorbansi, yang dapat dilihat dari koefisien korelasi (r), p dan Vxo.

**LOD/LOQ**

Absorbansi larutan blanko yang diamati tersaji pada tabel 2, sedangkan absorbansi seri konsentrasi boraks yang diamati tercantum pada tabel 3.

**Tabel 2**. Blanko

| Pengamatan | Absorbansi boro-kurkumin (547nm) |
|---|---|
| 1 | 0,004 |
| 2 | 0,004 |
| 3 | 0,004 |
| 4 | 0,004 |
| 5 | 0,004 |
| 6 | 0,005 |
| 7 | 0,005 |
| 8 | 0,005 |
| 9 | 0,005 |
| 10 | 0,005 |
| Rata – rata | 0,0045 |
| Standar Deviasi (SD) | $5{,}270.10^{-4}$ |

**Tabel 3.** Linieritas boraks

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi ($\lambda_{547\ nm}$) | |
|---|---|---|
| 0,00130 | 0,024 | y=1,7948x + 0,0197 |
| 0,00532 | 0,025 | r = 0,9579 |
| 0,01064 | 0,050 | |
| 0,03192 | 0,059 | |
| 0,05320 | 0,124 | |

Dari SD dan slope diatas, dapat dihitung LOD dan LOQ sebagai berikut :

$$LOD = \frac{3{,}3 . SD}{slope} =$$

$$\frac{3{,}3 \text{ x } 5{,}270.10^{-4}}{1{,}7948} = 9{,}7.10 - 4 \text{ ppm}$$

$$LOQ = \frac{10 . SD}{slope} =$$

$$\frac{10 \text{ x } 5{,}270.10^{-4}}{1{,}7948} = 2{,}94.10 - 3 \text{ ppm}$$

Nilai LOD yang diperoleh adalah $9{,}7.10^{-4}$ ppm dan LOQ adalah sebesar $2{,}94.\ 10^{-3}$ ppm. Sehingga untuk penetapan kadar boraks dengan

Spektrofotometer UV-Vis, kadar yang dapat ditentukan dengan kepekaan dan ketelitian yang tinggi adalah lebih besar sama dengan 2,94. $10^{-3}$ ppm.

**Presisi**

**Tabel 4.** Presisi

| Pengamatan | Absorbansi boro-kurkumin (547nm) |
|---|---|
| 1 | 0,405 |
| 2 | 0,405 |
| 3 | 0,405 |
| 4 | 0,404 |
| 5 | 0,405 |
| 6 | 0,405 |
| 7 | 0,405 |
| 8 | 0,406 |
| 9 | 0,404 |
| 10 | 0,405 |
| Rata – rata | 0,4049 |
| Standar Deviasi (SD) | $5,6765.10^{-4}$ |
| Koefisien Variasi (KV) | 0,140% |

Berdasarkan data diatas, diperoleh absorbansi rata – rata sebesar 0,4049 dan Koefisien Variasi (KV) sebesar 0,140 %.

**Akurasi**

Prosentase perolehan kembali (% Recovery) seperti pada tabel 5

**Tabel 5.** Akurasi Kadar boraks dalam bakso

| % kadar air matriks blanko | Kadar Boraks yang ditambahkan (%) | Ditimbang matriks + boraks (g) | Kadar Boraks yang Diperoleh (%) | Recovery (%) | Recovery rata –rata (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 64,76% | 0,0642 | 0,1769 | 0,0882 | 48,52 | 48,68 |
| | | 0,1788 | 0,0900 | 48,84 | |
| | 0,1045 | 0,1793 | 0,1342 | 45,26 | 48,66 |
| | | 0,1787 | 0,1537 | 51,84 | |
| | | 0,1785 | 0,1449 | 48,87 | |
| | 0,3112 | 0,1790 | 0,4298 | 48,72 | 44,75 |
| | | 0,1774 | 0,3598 | 40,77 | |
| | 0,3673 | 0,1792 | 0,4860 | 46,63 | 47,87 |
| | | 0,1772 | 0,5119 | 49,11 | |
| Rata – rata | | | | 47,49 | |
| Standar Deviasi (SD) | | | | 1,8652 | |
| Koefisien Variasi (KV) | | | | 3,92% | |

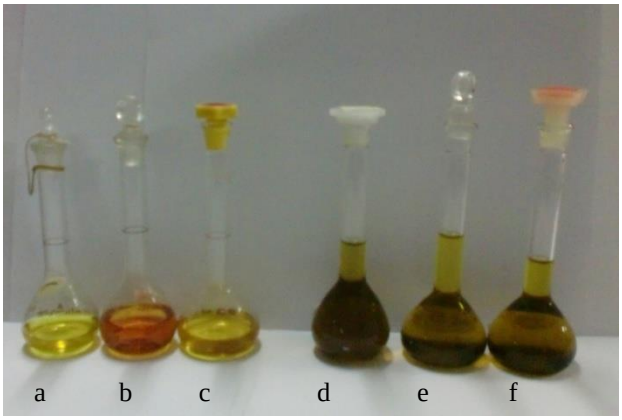
Berdasarkan perhitungan akurasi dengan empat macam kadar yang berbeda, diperoleh perolehan kembali (recovery) sebesar 47,49 % dengan koefisien variasi (KV) sebesar 3,92 %.

Akurasi sampel bakso dipreparasi dengan cara mendestruksi, bertujuan untuk memisahkan antara boraks dengan matriks bakso menghasilkan persentase recovery 47,49% (persyaratan 98-102%). Hal ini dapat disebabkan karena kurangnya kuantitatif dalam memindahkan hasil destruksi.

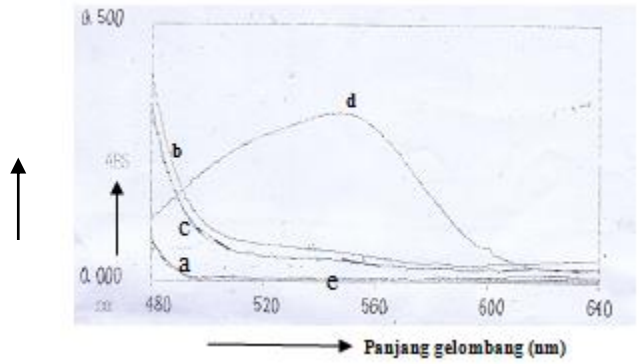
**Aplikasi Penetapan Kadar Boraks dalam Sampel Bakso**

**Uji Kualitatif**

Sampel bakso dipreparasi, kemudian diamati warna yang terbentuk (Gambar 7) dan profil spektra (Gambar 8)




**Gambar 7**. Pemeriksaan warna Sampel Bakso a. Blanko; b.Standard boraks0,527ppm; c.Blanko bakso; d.Sampel (Replikasi I);e.Sampel (Replikasi II); f.Sampel (Replikasi III).




**Gambar 8** .Spektra sampel bakso a.Sampel (Replikasi I); b.Sampel (Replikasi II);c.Sampel (Replikasi III); d. Boraks 0,527 ppm;e.Matriks bakso tanpa boraks.

**Uji Kuantitatif**

**Tabel 6**. Penetapan Kadar Boraks dalam Sampel Bakso

| No | Kadar air (%; b/b) | Kadar Boraks dalam sampel (µg/g ) | (%b/b ) |
|---|---|---|---|
| 1 | 73,03% | 205,0439 | 0,0205 |
| 2 | 67,68% | 151,9177 | 0,0151 |
| 3 | 65,09% | 210,0249 | 0,0210 |

Sebagai aplikasinya bakso diambil dari tiga pedagang yang berbeda di daerah Surabaya, pada pemeriksaan warna dan profil spektra mirip dengan standar boraks dan kadar boraks sampel pertama,kedua dan ketiga adalah 205,0439 µg/g (0,0205%; b/b); 151,9177µg/g (0,0151%; b/b) dan 210,0249 µg/g (0,0210%; b/b).

**KESIMPULAN**

Validasi metode Spektrofotometri UV-Vis pada penetapan kadar boraks di dalam bakso, pada uji selektifitas menghasilkan panjang gelombang yaitu 547,0 nm, linearitas regresi y = 1,3127x – 0,0994 (r = 0,9690; p<0,05), Vxo 15,53%. LOD=9,7.$10^{-4}$ ppm dan LOQ=2,944 x $10^{-3}$ ppm, presisi (KV)=0,140% (KV≤2 %). Akurasi (%) recovery=47,49% (KV= 3,92%).

Penetapan kadar boraks pada 3 sampel bakso dilakukan pada 3 pedagang yang berbeda menunjukkan hasil yang positif mengandung boraks dengan kadarnya 0,0151-0,0210 % (b/b)

Saran

Untuk mencari prosedur penentuan kadar boraks dengan kurkumin di dalam bakso dengan prosedur yang lebih sederhana.

## DAFTAR PUSTAKA


Anonim$_7$. 2001. ***Kodeks Makanan Indonesia*.** Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan Indonesia.

Anonim$_8$. 2007. **The United States Pharmacopeia 30$^{th}$ Edition – National Formulary 25**. Rockville: United States Pharmacopeia Convention.

Gandjar, I.G dan Rohman, A. 2007. ***Kimia Farmasi Analisis***. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.

Harmita. 2004. ***Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Pelaksanaannya***. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. I, No.3, Desember 2004, 117 – 135. Depok : FMIPA UI

Horwitz, W. 2000. ***Official Methods of Analysis International 17$^{th}$ edition.*** Vol.III, Gaithersburg, Marryland, AOAC International, USA.

Kemp, W. 1975. ***Organic Spectroscopy***. Edinburgh : English Language Book Society and The Macmillan Press Ltd.

Liu, Y.M. and Lee, K. 2009. ***Modification of The Curcumine Method Enabling Precise and Acurate Measurement of Seawater Boron Concentration.*** School of Envirotimental Science and Engineering. Pohang University of Science and Technology. Republic of Korea. Pohang 790-784. *(www.elsevier.com/locate/marchem)*.

Marczenko,Z., Balcerzak, M. 2000. ***Separation, Preconcentration and Spectrophotometry in Organic Analysis***. Amsterdam : Elsevier Science B.V.

Mujamil, J.S. 1997. ***Deteksi dan Evaluasi Keberadaan Boraks pada Berbagai Jenis Makanan di Kotamadya Palembang***. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Sriwijaya. Palembang. (*www.kalbefarma.com*). Tanggal diakses 6 November 2011.

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1168/MENKES/PER/X/1999 tentang Perubahan Atas Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 722/MENKES/PER/IX/1988 tentang **Bahan Tambahan Makanan.**

Rowe, R.C., Sheskey, P.J and Owen, S.C. 2006. ***Handbook of Pharamaceutical Excipients 5$^{th}$ Edition.*** London : Royal Pharmaceutical Society of Great Britain.