



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR FORMALIN BERBASIS IMOBILISASI
ENZIM ALKOHOL OKSIDASE SECARA SOL-GEL PADA SISTEM ALIR
UNTUK SAMPEL MAKANAN**

SKRIPSI

Oleh

**Wahyuni Cristiana
NIM. 072210101035**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2011**



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR FORMALIN BERBASIS IMOBILISASI
ENZIM ALKOHOL OKSIDASE SECARA SOL-GEL PADA SISTEM ALIR
UNTUK SAMPEL MAKANAN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Wahyuni Cristiana
NIM. 072210101035**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2011**

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, dengan ikhlas dan atas ridho Allah SWT, saya mempersembahkan skripsi ini kepada:

1. Allah SWT yang selalu memberikan limpahan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya serta Rasul Muhammad SAW atas syafa'at yang menaungiku sebagai kaumnya.
2. Ibunda tercinta Muhapikoh, dan Ayahanda Budi Santoso yang selalu mendoakan, memberi kasih sayang dan pengorbanan yang tiada tara.
3. Adik-adikku; Shiddieqy, Safrizal, dan Faurel Aby yang menguatkan untuk selalu berusaha menjadi kakak yang teladan.
4. Semua sanak saudara dari keluarga besar ibu dan keluarga besar ayah yang mendoakan dan mendukungku.
5. Semua guru dalam hidupku sejak Taman Kanak-kanak sampai Perguruan Tinggi yang kuhormati, yang telah mendidik dan membimbingku.
6. Teman-teman seperjuangan farmasi 2007 dan seluruh almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.
7. Semua pihak yang dengan sadar dan tanpa sadar telah memberikan inspirasi dalam penulisan skripsi ini.

MOTTO

Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dalam pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal.
(Q.S Ali Imran: 190)

Kesulitan sebesar apapun akan terasa wajar bagi jiwa yang tetap melebihkan syukur daripada mengeluh. Karena, bukan kebahagiaan yang menjadikan kita bersyukur, tetapi bersyukurlah yang menjadikan kita berbahagia. Jiwa yang malas, tetap tersesat walaupun sudah sampai. Jiwa yang tamak, tetap mengeluh diatas kekayaan. Jiwa yang bersyukur, akan berbahagia bahkan diatas masalah.
(Mario Teguh)

Kesuksesan tidak bisa dipisahkan dengan wawasan yang telah tercipta pada jiwa.
(Michael Hart)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Wahyuni Cristiana

NIM : 072210101035

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : *Pengembangan Biosensor Formalin Berbasis Imobilisasi Enzim Alkohol Oksidase secara Sol-Gel pada Sistem Alir untuk Sampel Makanan* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 21 Oktober 2011

Yang menyatakan,

Wahyuni Cristiana

NIM. 072210101035

SKRIPSI

PENGEMBANGAN BIOSENSOR FORMALIN BERBASIS IMOBILISASI ENZIM ALKOHOL OKSIDASE SECARA SOL-GEL PADA SISTEM ALIR UNTUK SAMPEL MAKANAN

Oleh :

Wahyuni Cristiana
072210101035

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Moch.Amrun Hidayat, S.Si., Apt., M.Farm.

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Pengembangan Biosensor Formalin Berbasis Imobilisasi Enzim Alkohol Oksidase secara Sol-Gel pada Sistem Alir untuk Sampel Makanan” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi, Universitas Jember pada :

Hari : Jumat

Tanggal : 21 Oktober 2011

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

Prof. Drs. Bambang K, M.Sc., Ph.D.
NIP. 196902011994031002

Moch.Amrun H, S.Si., Apt.,M.Farm
NIP.197801262001121004

Anggota I,

Anggota II,

Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si
NIP. 197806092005012004

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm
NIP. 197604142002122001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D
NIP. 196902011994031002

DAFTAR SINGKATAN

AOX	=	Alkohol Oksidase
EPA	=	Environmental Protection Agency
FIA	=	Flow Injection Analysis
IARC	=	International Agency for Research on Cancer
KG	=	Kromatografi Gas
KCKT	=	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
KV	=	Koefisien Variasi
LOD	=	Limit of Detection
LOL	=	Limit of Linierity
LOQ	=	Limit of Quantification
POM	=	Pengawas Obat dan Makanan
SD	=	Standar Deviasi
TEOS	=	Tetraetil ortosilikat
TMOS	=	Tetrametil ortosilikat
UU	=	Undang-undang
WHO	=	World Health Organization

RINGKASAN

Pengembangan Biosensor Formalin Berbasis Imobilisasi Enzim Alkohol Oksidase secara Sol-Gel pada Sistem Alir untuk Sampel Makanan; Wahyuni Cristiana, 072210101035; 2011: 101 halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

Formalin sebagai nama dagang formaldehida dalam air, yang biasanya mengandung sekitar 37% formaldehida. Pemejanaan formalin kedalam tubuh manusia dapat melalui pernapasan, mulut, dan kontak dengan kulit. Formalin dalam tubuh dapat menekan fungsi sel, menyebabkan kerusakan organ tubuh, dan menyebabkan kanker karena formalin bersifat karsinogenik. Berdasarkan sampling dan pengujian laboratorium yang dilakukan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) di Bandar Lampung dan beberapa tempat lain di Indonesia telah ditemukan sejumlah produk makanan meliputi tahu, mie basah, dan ikan yang memakai formalin sebagai pengawet. Padahal, penggunaan formalin sebagai pengawet dalam makanan tidak diperbolehkan.

Pendeteksian terhadap makanan berformalin membutuhkan sebuah alat yang spesifik terhadap formalin. Tujuan dari penelitian ini adalah mengkonstruksi sebuah alat yang dapat digunakan untuk mendeteksi formalin secara cepat, praktis, sederhana dengan sensitif dan selektif. Alat ini berupa biosensor yang dipermudah konstruksinya menggunakan sitem alir (*flow*). Perangkat biosensor dengan sistem alir ini mengandung bahan yang diisikan ke dalam *flow cell* yang spesifik terhadap formalin. Bahan yang cocok untuk deteksi formalin adalah enzim alkohol oksidase, yang mana kespesifikannya dalam mendeteksi formalin ditandai dengan indikator pH klorofenol merah. Alkohol oksidase dan klorofenol merah dibentuk dalam membran sehingga mudah dipasangkan dalam perangkat biosensor dengan sistem alir (*flow*).

Metode pembuatan membran alkohol oksidase-klorofenol merah menggunakan teknik imobilisasi *entrapment* yaitu sol-gel. Digunakan prekursor pembentuk sol-gel berupa tetraetil ortosilikat (TEOS), katalis reaksi pembentukan

sol-gel berupa HCl, serta pelarut air dan etanol yang *distirrer* selama 6 jam untuk membentuk sol. Kemudian, klorofenol merah diimobilisasikan kedalam sol tersebut dan *distirrer* selama 4 jam. Selanjutnya, alkohol oksidase diimobilisasikan kedalam campuran tersebut dan *distirrer* selama 10 menit, di simpan dalam lemari es untuk pengeringan (*aging*) selama seminggu. Enzim akan terperangkap dalam matriks gel yang akan bereaksi dengan formalin. Membran yang terbentuk berwarna ungu, yang mana ketika direaksikan dengan formalin membran akan berubah warna menjadi kuning. Intensitas warna kuning secara kuantitatif dapat digunakan untuk memperkirakan kadar formalin yang ada didalam sampel.

Penentuan kondisi optimum analisis didapatkan bahwa panjang gelombang maksimum membran sol-gel alkohol oksidase-klorofenol merah pada 472 nm, waktu respon membran terbaik dimulai dari detik ke-60, dan waktu alir ditetapkan 100 detik untuk tiap injeksi. Sedangkan karakterisasi biosensor didapatkan bahwa daerah linier pada rentang (*range*) 1–10 ppm dengan koefisien korelasi sebesar 0,998. Dari kurva kalibrasi dapat dihitung batas deteksi dan batas kuantitasi membran berturut-turut adalah 0,0345 ppm dan 0,1150 ppm. Presisi dan akurasi pengukuran formalin dengan sampel simulasi berturut-turut sesuai persyaratan dengan KV terbesar 3,901% dan selang kepercayaan 80–110%. Dalam aplikasi penetapan kadar formalin dalam sampel makanan yang ada dipasaran, metode biosensor membran sol-gel alkohol oksidase-klorofenol merah pada sistem alir (*flow*) berkesesuaian dengan metode standar spektrofotometri UV-Vis dengan reagen pararosanilin-HCl pada tingkat kepercayaan 95% atau α sebesar 5%.

PRAKATA

Puji Syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengembangan Biosensor Formalin Berbasis Imobilisasi Enzim Alkohol Oksidase secara Sol-Gel pada Sistem Alir untuk Sampel Makanan”.

Maksud dari penyusunan skripsi ini adalah untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan program Strata Satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Bambang Kuswandi, M.sc., ph.D selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember dan Dosen Pembimbing Utama yang dengan sabar membimbing, memberikan pengarahan, dan memberikan bantuan bahan untuk penelitian ini;
2. Moch. Amrun Hidayat, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah membantu dan membimbing penulisan skripsi ini;
3. Yuni Retnaningtyas, S.si., M.Si., Apt dan Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku tim penguji yang telah menguji dan memberikan saran atas perbaikan skripsi ini;
4. Teknisi Laboratorium Kimia dan Biosensor Fakultas Farmasi Universitas Jember, Mbak Wayan, atas semua bantuan selama melakukan penelitian;
5. Kelompok biosensor formalin; Dheni Rohliana dan Lindawati, untuk setiap semangat dan dukungannya selama penelitian ini berlangsung;
6. Mbak Shindy yang sudah memberi larutan standar formalin untuk penelitian ini;
7. Teman-teman seperjuangan dalam Laboratorium Kimia dan Biosensor Fakultas Farmasi Universitas Jember; Mas Brian, Mas Agun, Mas Ridho, Mbak Mayang, Mas Agung, Luqman H.I, Arief Lukman, Andriani, Riang,

Chrysnanda, Diajeng Putri, Eka Ayu untuk semua bantuan, diskusi dan semangatnya selama bekerja di Laboratorium;

8. Teman-teman angkatan 2007 dan semua peserta seminar proposal skripsi;
9. Seluruh staf dosen, bagian akademik, perlengkapan, dan administrasi Fakultas Farmasi Universitas Jember;
10. Semua pihak yang dengan sadar dan tanpa sadar sudah membantu penyusunan skripsi ini.

Semoga karya tulis ini bermanfaat bagi pembaca dan khususnya untuk perkembangan Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Jember, 21 Oktober 2011

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
DAFTAR SINGKATAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Formalin	6
2.1.1 Kegunaan Formalin	6
2.1.2 Toksisitas Formalin	7
2.2 Biosensor	8
2.3 Enzim Biosensor Formalin	9
2.3.1 Alkohol Oksidase	9

2.3.2	Persamaan Reaksi Oksidasi Formalin oleh Alkohol	
	Oksidase.....	10
2.4	Imobilisasi Enzim	13
2.4.1	Adsorpsi	14
2.4.2	Enkapsulasi	15
2.4.3	Entrapmen.....	15
2.4.4	Ikatan Kovalen	18
2.5	Analisis Suntik Alir.....	19
2.6	Spektrofotometri UV-Vis.....	20
2.7	Karakteristik Biosensor	21
2.7.1	Daerah Kerja	21
2.7.2	Batas Kuantitasi dan Batas Deteksi.....	22
2.7.3	Keterulangan (Presisi)	22
2.7.4	Selektivitas	23
2.7.5	Kecermatan (Akurasi)	23
BAB 3.	METODE PENELITIAN	24
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.2	Diagram Alir Penelitian	24
3.3	Alat dan Bahan Penelitian	24
3.3.1	Alat	24
3.3.2	Bahan.....	25
3.4	Prosedur Kerja	25
3.4.1	Pembuatan Larutan.....	25
3.4.2	Fabrikasi Membran Alkohol Oksidase dan Klorofenol Merah	26
3.4.3	Penentuan Laju Alir	27
3.5	Penentuan Kondisi Optimum Analisis.....	27
3.5.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	27
3.5.2	Penentuan Waktu Respon.....	27

3.5.3	Penentuan Waktu Alir.....	27
3.6	Karakterisasi Biosensor	28
3.6.1	Daerah Kerja	28
3.6.2	Batas Kuantitasi dan Batas deteksi	28
3.6.3	Keterulangan (Presisi)	29
3.6.4	Selektivitas.....	29
3.6.5	Kecermatan (Presisi)	30
3.7	Aplikasi Biosensor pada Sampel Nyata	30
3.7.1	Preparasi Sampel.....	30
3.7.2	Penetapan Kadar Formalin dalam Sampel Nyata	30
3.7.3	Uji Keakuratan.....	31
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1	Fabrikasi Membran Sol-Gel Alkohol Oksidase- Klorofenol Merah.....	32
4.2	Biosensor Formalin dengan Sistem Alir (<i>flow</i>).....	32
4.3	Parameter Optimum Biosensor Formalin.....	34
4.3.1	Panjang Gelombang Maksimum.....	34
4.3.2	Waktu Respon.....	35
4.3.3	Waktu Alir.....	36
4.4	Karakteristik Biosensor Formalin pada Sistem Alir (<i>flow</i>).....	37
4.4.1	Daerah Linier.....	37
4.4.2	Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi.....	43
4.4.3	Keterulangan (Presisi).....	44
4.4.4	Selektivitas.....	45
4.4.5	Kecermatan (Akurasi).....	48
4.5	Aplikasi Biosensor Formalin.....	49
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
5.1	Kesimpulan.....	51

5.2	Saran.....	52
	DAFTAR PUSTAKA	53
	LAMPIRAN.....	56

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur formalin	6
2.2 Konstruksi biosensor: dimana bioreseptor dapat enzim ; antibodi; asam nukleat, transduser dapat elektrokimia; optik; piezoelektrik atau kalorimetri.....	9
2.3 Struktur klorofenol merah	11
2.4 Struktur metil merah	12
2.5 Struktur bromokresol ungu	13
2.6 Struktur paranitrofenol	13
2.7 Imobilisasi enzim, secara umum terdiri dari teknik fisika (entrapmen, enkapsulasi dan adsorpsi) atau metode kimia (ikatan kovalen).....	14
2.8 Tahapan reaksi pembuatan sol-gel	17
2.9 Empat fase analisis suntik alir	19
2.10 Sistem analisis suntik alir sederhana.....	20
2.11 Daerah kerja (<i>dynamic range</i>) dari suatu sensor, yang dibatasi oleh LOQ dan LOL.....	22
3.1 Diagram alir penelitian	24
3.2 Tahapan preparasi sampel nyata	30
4.1 Skema perangkat biosensor formalin dengan sistem alir (<i>flow</i>) yang terhubung komputer untuk mengubah informasi optik menjadi unit data yang terbaca	33
4.2 Profil pengukuran intensitas terhadap panjang gelombang. Respon intensitas optimum dihasilkan pada puncak sebelah kiri dengan panjang gelombang 472 nm.	34

4.3	Grafik pengukuran intensitas terhadap waktu pemaparan standar formalin 1 ppm. Sinyal intensitas terbesar 12,2454 dicapai pada detik ke-70 dari pemaparan standar formalin selama 180 detik	35
4.4	Profil respon biosensor formalin selama waktu tertentu, angka menunjukkan (1) standar formalin 1 ppm, (2) buffer	36
4.5	Profil pengukuran untensitas pada konsentrasi standar formalin 1 ppm sampai 10 ppm. Intensitas terendah 142,5 dan tertinggi 157,94 pada panjang gelombang maksimum 472 nm	38
4.6	Grafik sinyal pengukuran intensitas puncak pertama sebelah kiri pada konsentrasi standar formalin 1 ppm sampai 10 ppm. Nilai $R^2 = 0,974$ dengan persamaan garis: intensitas = 2,196 [formalin] + 3,949.....	38
4.7	Profil pengukuran intensitas terhadap waktu pada konsentrasi standar formalin 1 ppm sampai 10 ppm tanpa larutan buffer. Intensitas terendah 12,2387 dan tertinggi 31,2618 pada panjang gelombang maksimum 472 nm. Angka menunjukkan konsentrasi standar formalin dalam ppm	40
4.8	Grafik sinyal pengukuran intensitas terhadap waktu pada konsentrasi standar formalin 1 ppm sampai 10 ppm. Nilai $R^2 = 0,992$ dengan persamaan garis: intensitas = 2,630 [formalin] + 0,876.....	40
4.9	Profil pengukuran intensitas terhadap waktu pada konsentrasi standar formalin 1 ppm sampai 10 ppm dengan larutan buffer. Intensitas terendah 12,3185 dan tertinggi 30,1997 pada panjang gelombang maksimum 472 nm	42
4.10	Grafik sinyal pengukuran intensitas terhadap waktu pada konsentrasi standar formalin 1 ppm sampai 10 ppm. Nilai $R^2 = 0,996$ dengan persamaan garis: intensitas = 2,591 [formalin] + 1,259.....	42
4.11	Profil data spektra uji selektivitas dengan mengukur intensitas pada standar formalin konsentrasi 5 ppm (garis ungu), garam 50 ppm (garis merah), garam 500 ppm (garis hijau), campuran formalin 5	

ppm ditambah garam 50 ppm (garis biru muda), campuran formalin 5 ppm ditambah garam 500 ppm (garis orange), blanko (garis biru tua).....	46
4.12 Profil data spektra uji selektivitas dengan mengukur intensitas pada standar formalin konsentrasi 5 ppm (garis hijau), gula 50 ppm (garis merah), campuran formalin 5 ppm ditambah gula 50 ppm (garis ungu), blanko (garis biru).....	47

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Larutan kerja standar formalin	26
4.1 Data waktu alir standar formalin 1 ppm terhadap respon biosensor	37
4.2 Keterulangan pengukuran semakin baik bila harga koefisien variasi (KV) semakin kecil. Harga KV terbesar yaitu 3,901% pada pengukuran sampel simulasi 5 ppm dengan ulangan 3 kali.....	44
4.3 Data pengukuran intensitas standar formalin konsentrasi 5 ppm, garam 50 ppm, garam 500 ppm, campuran 5 ppm formalin yang ditambah garam 50 ppm, dan campuran 5 ppm formalin yang ditambah garam 500 ppm.....	46
4.4 Data pengukuran intensitas standar formalin konsentrasi 5 ppm, gula 50 ppm, dan campuran 5 ppm formalin yang ditambah gula 50 ppm.....	48
4.5 Persen perolehan kembali dari kurva kalibrasi terhadap sampel simulasi.....	48
4.6 Perbandingan hasil pengukuran kadar formalin pada makanan menggunakan metode biosensor dengan membran alkohol oksidase-klorofenol merah dan metode spektrofotometri UV-Vis dengan reagen pararosanilin-HCl	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Membran sol-gel alkohol oksidase-klorofenol merah.....	56
B. Penentuan panjang gelombang maksimum	57
C. Penentuan waktu respon	59
D. Penentuan daerah linier	60
E. Penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi	62
F. Penentuan presisi	63
G. Penentuan selektivitas	71
H. Penentuan akurasi	72
I. Penetapan kadar pada sampel nyata	77
J. Uji kepercayaan independen t-tes	81