



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR POLIFENOL BERBASIS POLIFENOL
OKSIDASE (PPO) DAN 3-METIL-2-BENZOTHIOZOLINON HIDRAZON
(MBTH) UNTUK DETEKSI POLIFENOL PADA PRODUK MINUMAN TEH
DALAM KEMASAN**

SKRIPSI

Oleh:

**Diah Ayu Maharani
NIM 092210101088**

**BAGIAN SENSOR KIMIA DAN BIOSENSOR
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2013**



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR POLIFENOL BERBASIS POLIFENOL
OKSIDASE (PPO) DAN 3-METIL-2-BENZOTHIOZOLINON HIDRAZON
(MBTH) UNTUK DETEKSI POLIFENOL PADA PRODUK MINUMAN TEH
DALAM KEMASAN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan
Program Pendidikan Strata Satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember

Oleh:

**Diah Ayu Maharani
NIM 092210101088**

**BAGIAN SENSOR KIMIA DAN BIOSENSOR
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2013**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tuaku tercinta, Mama Usmiati dan Papa Wahyudi, atas untaian cinta dan kasih sayang yang selalu mengiringiku. Terima kasih untuk lantunan doa serta percikan semangat di setiap langkah perjuanganku.
2. Suamiku Eko yang selalu setia dan sabar. Terima kasih atas doa dan dukungan di setiap langkahku.
3. Kakak-kakakku tersayang Mas Boni, Mbak Ria dan Mas Arik terima kasih untuk dukungan, doa dan kasih sayang yang menjadikanku kuat.
4. Teman-teman seperjuangan di Lab. Sensor Kimia dan Biosensor terima kasih atas segala bantuannya.
5. Sahabat-sahabatku terima kasih untuk motivasi dan hiburan yang telah kalian berikan.
6. Almamaterku tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.
Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. Dan hanya kepada Tuhan-mulah hendaknya kamu berharap
(QS Al-Insyirah: 6-8)

Kesulitan sebesar apa pun akan terasa wajar bagi jiwa yang tetap melebihkan syukur daripada mengeluh
(Mario Teguh)

Apapun hasilnya di situ pasti ada hikmahnya. Selalu terus berusaha lakukan yang terbaik, Insya Allah berakhir dengan indah pada waktunya. Semua indah karena Allah
(Eko Kuswoyo)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Diah Ayu Maharani

NIM : 092210101088

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: *Pengembangan Biosensor Polifenol Berbasis Polifenol Oksidase (PPO) dan 3-Metil-2-Benzothiazolinon Hidrazon (MBTH) untuk Deteksi Polifenol pada Produk Minuman Teh dalam Kemasan* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi 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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, September 2013

Yang menyatakan,

Diah Ayu Maharani
NIM. 092210101088

SKRIPSI

**PENGEMBANGAN BIOSENSOR POLIFENOL BERBASIS POLIFENOL
OKSIDASE (PPO) DAN 3-METIL-2-BENZOTHIOZOLINON HIDRAZON
(MBTH) UNTUK DETEKSI POLIFENOL PADA PRODUK MINUMAN TEH
DALAM KEMASAN**

Oleh

**DIAH AYU MAHARANI
NIM. 092210101088**

Pembimbing :

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

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

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul *Pengembangan Biosensor Polifenol Berbasis Polifenol Oksidase (PPO) dan 3-Metil-2-Benzothiazolinon Hidrazon (MBTH) untuk Deteksi Polifenol pada Produk Minuman Teh dalam Kemasan* telah disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Senin

Tanggal : 23 September 2013

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

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

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

NIP. 197801262001121004

NIP. 196902011994031002

Anggota I,

Anggota II,

Endah Puspitasari S.Farm.,M.Sc., Apt.

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

NIP. 198107232006042002

NIP. 197806092005012004

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Jember

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

NIP. 197801262001121004

Pengembangan Biosensor Polifenol Polifenol Oksidase (PPO) dan 3-Metil-2-Benzothiazolinon Hidrazon (MBTH) untuk Deteksi Polifenol pada Produk Minuman Teh dalam Kemasan (The Development of Polyphenol Biosensor Based on Polyphenol Oxidase and 3-Methyl-2-Benzothiazolinone Hydrazone for Polyphenols Detection in Beverage Tea Products)

Diah Ayu Maharani

Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRACT

The purpose of biosensor development is for polyphenols detection in beverage tea products especially green tea product easily and efficiently. The polyphenol biosensor has been made by immobilizing 5.0 μ l reagent (500 unit/ml PPO enzyme and 12.0 mg/ml MBTH (1:1 v/v) is mixture) on whatman filter paper. Polyphenol biosensor has been characterized and the results are polyphenol biosensor has response time about 13-18 minutes, has linearity at concentration range of 25-300 ppm, with correlation coefficient (r) =0.997. This polyphenol biosensor has sensitivity about 0.1078/ppm CE, while LOD = 20.601 ppm CE and LOQ = 68.671 ppm CE. Interference or selectivity of the polyphenol biosensor by catechin and vitamin C concentration ratio of 1:3,33 is 6.117% . Biosensor precision parameter comply with RSD 3.111% and the accuracy parameter with recovery about 103.068 %. Biosensor self-live is 8 days when stored on freezer [(-20)-(0) °C]. This polyphenol biosensor has been applied to some beverage green tea product and this method is as good as Folin-Ciocalteu.

Keywords: catechine, MBTH, polyphenol biosensor, PPO.

RINGKASAN

Pengembangan Biosensor Polifenol Berbasis Polifenol Oksidase (PPO) dan 3-Metil-2-Benzothiazolinon Hidrazon (MBTH) untuk Deteksi Polifenol pada Produk Minuman Teh dalam Kemasan; Diah Ayu Maharani; 092210101088; 2013; 103 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Teh merupakan salah satu jenis minuman yang digemari oleh seluruh lapisan masyarakat. Salah satu jenis teh adalah teh hijau, teh ini banyak dikonsumsi sebagai minuman kesehatan. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa teh hijau memiliki aktivitas sebagai anti bakteri, antiinflamasi, antiobesitas, antidiabetes, antikanker serta anti HIV. Manfaat tersebut berasal dari polifenol yang merupakan kandungan bioaktif dalam teh.

Produk minuman teh dapat diukur kualitasnya dengan mengukur jumlah kandungan polifenol di dalamnya. Jumlah kandungan polifenol dapat diukur dengan menggunakan berbagai instrumen namun dalam aplikasinya membutuhkan langkah yang rumit dan waktu cukup lama. Sehingga dilakukan pengembangan suatu biosensor polifenol yang didesain dalam bentuk *chip* kertas, yang diharapkan lebih efektif dan efisien dalam aplikasinya dibandingkan dengan menggunakan instrumen. Pada penelitian ini biosensor polifenol dibuat dengan mengimmobilisasi polifenol oksidase (PPO) dan 3-metil-2 benzothiazolinon hidrazon (MBTH) pada kertas saring. PPO merupakan enzim yang dapat mengkatalisis reaksi *o*-difenol menjadi *o*-kuinon. *O*-kuinon yang merupakan produk hasil oksidasi polifenol dapat bereaksi dengan MBTH membentuk kompleks berwarna merah. Oleh karena itu, kadar polifenol dapat ditentukan berdasarkan perubahan warna merah yang dihasilkan oleh biosensor polifenol tersebut.

Fabrikasi biosensor polifenol dilakukan dengan mengimmobilisasi reagen pada kertas saring berbentuk lingkaran dengan diameter 0,8 cm. Reagen merupakan

campuran 500 unit/ml PPO dan 12,0 mg/ml MBTH dengan perbandingan volume 1:1. Volume reagen yang digunakan adalah 5,0 μ l. Pada pengaplikasiannya biosensor polifenol perlu ditetesi dengan larutan dapar fosfat pH 6,5 terlebih dahulu sebelum ditetesi dengan analit. Pengukuran kadar polifenol ditentukan berdasarkan perubahan intensitas warna yang terjadi dari putih kekuningan menjadi merah. Semakin tinggi konsentrasi polifenol maka warna yang terbentuk akan semakin merah. Konsentrasi polifenol dinyatakan setara dengan ppm *Catechin Equivalen (CE)*.

Hasil karakterisasi biosensor polifenol berbasis PPO dan MBTH untuk kontrol kualitas produk minuman teh dalam kemasan meliputi: waktu respon biosensor polifenol adalah 13-18 menit, linieritas biosensor polifenol terhadap standar katekin berada pada rentang 25-300 ppm dengan persamaan regresi $y = 0,1078x + 28,231$ dan nilai koefisien korelasi (r) 0,997 serta nilai koefisien variasi dari fungsi (V_{x_0}) adalah 4,7 %; sensitivitas biosensor polifenol adalah 0,1078/ppm *CE*; batas deteksi biosensor polifenol sebesar 20,601 ppm *CE* dan batas kuantitasi sebesar 68,671 ppm *CE*; Biosensor polifenol terganggu oleh vitamin C dengan konsentrasi vitamin C 3,33 kali lebih besar dari katekin, nilai interferensinya adalah 6,117 %; biosensor polifenol memenuhi parameter presisi dengan nilai RSD 3,111 % dengan kriteria penerimaan RSD kurang dari 5,3 %; biosensor polifenol juga memenuhi parameter akurasi dengan perolehan kembali sebesar 103,068 % dengan kriteria penerimaan perolehan kembali adalah 90-107 %. Biosensor polifenol memiliki waktu pakai selama 8 hari dengan penyimpanan pada suhu *freezer* [(-20)-(0) °C], Sedangkan penyimpanan pada suhu *chiller* (2-8°C) menghasilkan waktu pakai selama 4 hari. Biosensor polifenol dapat diaplikasikan pada sampel produk minuman teh hijau dalam kemasan yang tidak mengandung vitamin C. Metode biosensor polifenol ini tidak memberikan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan metode pengukuran polifenol dengan menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu*.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan laporan hasil penelitian dalam bentuk proposal skripsi berjudul “Pengembangan Biosensor Polifenol Berbasis Polifenol Oksidase (PPO) dan 3-Metil-2-Benzothiazolinon hidrazon (MBTH) untuk Deteksi Polifenil pada Produk Minuman Teh dalam Kemasan”. Skripsi ini ditulis untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu (S1) pada Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Moch. Amrun H, S.Si.,Apt.,M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama dan Prof. Drs. Bambang Kuswandi, Msc., PhD selaku Dosen Pembimbing Anggota atas bantuan dan dukungannya baik berupa materi, motivasi waktu dan pemikiran dalam penulisan skripsi ini.
2. Endah Puspitasari S.Farm.,M.Sc., Apt .dan Yuni Retnaningtyas, S.Si.,Apt.M.Si selaku Dosen Penguji I dan Dosen Penguji II atas bantuan maupun dukungan baik berupa materi, motivasi waktu dan pemikiran dalam penulisan skripsi ini.
3. Ketua dan teknisi Laboratorium Bio-Kemosensor dan Kimia Farmasi.
4. Segenap keluarga yang selalu ada, memberi doa, semangat dan dorongan.
5. Teman seperjuangan yang selalu memberikan dukungan.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, September 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
ABSTRAK	viii
RINGKASAN	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Batasan Masalah	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Teh	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Teh.....	6
2.1.2 Morfologi Tanaman Teh.....	7
2.1.3 Jenis Teh	8

2.2	Senyawa Polifenol	9
2.2.1	Klasifikasi Polifenol.....	9
2.2.2	Polifenol dalam Teh.....	10
2.3	Biosensor	13
2.3.1	Komponen Penyusun Biosensor	13
2.3.2	Imobilisasi Reagen.....	15
2.3.3	Karakteristik Biosensor	18
2.4	Enzim	21
2.4.1	Polifenol Oksidase (PPO).....	22
2.5	3-Metil-2-Benzothiazolinon Hidrazon (MBTH)	25
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN		26
3.1	Jenis Penelitian	26
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.3	Rancangan Penelitian	26
3.3.1	Definisi Operasional	26
3.3.2	Rancangan Operasional	27
3.3.3	Diagram Alur Penelitian	28
3.4	Alat dan Bahan	28
3.4.1	Alat	28
3.4.2	Bahan	29
3.5	Prosedur Penelitian	29
3.5.1	Penyiapan Bahan	29
3.5.2	Fabrikasi Biosensor Polifenol.....	30
3.5.3	Karakteristik Biosensor Polifenol.....	32
3.5.4	Aplikasi pada Sampel	36
3.5.5	Perbandingan Metode	37

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Fabrikasi Biosensor Polifenol	38
4.1.1 Optimasi Konsentrasi MBTH	39
4.1.2 Optimasi Perbandingan Volume Reagen.....	40
4.1.3 Optimasi Volume Reagen.....	42
4.2 Karakteristik Biosensor	43
4.2.1 Waktu Respon.....	43
4.2.2 Linieritas	44
4.2.3 Sensitivitas.....	46
4.2.4 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	46
4.2.5 Selektivitas.....	47
4.2.6 Presisi.....	49
4.2.7 Akurasi.....	50
4.2.8 Waktu Pakai.....	51
4.3 Aplikasi Sampel	53
4.4 Perbandingan Metode	53
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	55
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kriteria penerimaan nilai <i>RSD</i>	20
2.2 Kriteria penerimaan % perolehan kembali	21
3.1 Contoh perhitungan simpangan baku residual (<i>Sy</i>).....	33
3.2 Contoh perhitungan presisi	35
4.1 Data hasil pengukuran <i>mean RGB</i> untuk linieritas	45
4.2 Data nilai % interferensi	48
4.3 Data hasil pengukuran presisi sampel teh hijau A.....	50
4.4 Data hasil pengukuran akurasi.....	51
4.5 Data konsentrasi polifenol (ppm <i>CE</i>) dalam sampel menggunakan metode biosensor polifenol dan <i>FC</i>	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman teh.....	7
2.2 Struktur katekin dan katekin mayor dalam teh hijau	12
2.3 Prinsip kerja biosensor.....	13
2.4 Skema komponen penyusun biosensor	14
2.5 Teknik adsorpsi.....	16
2.6 Teknik <i>entrapment</i>	17
2.7 Teknik ikatan kovalen.....	18
2.8 Struktur PPO.....	23
2.9 Reaksi o-fenol menjadi o-kuinon dan monofenol menjadi o-difenol	24
2.10 Rumus bangun MBTH.....	25
2.11 Pembentukan kompleks berwarna merah	25
3.1 Diagram alur penelitian	28
3.2 Desain biosensor polifenol	30
3.3 Contoh kurva linieritas	33
4.1 Perubahan warna biosensor polifenol.....	39
4.2 Perubahan warna yang terjadi pada optimasi konsentrasi MBTH.....	39
4.3 Grafik hasil pengukuran <i>mean RGB</i> untuk optimasi konsentrasi	40
4.4 Perubahan warna yang terjadi pada optimasi perbandingan volume reagen.....	41
4.5 Grafik hasil pengukuran <i>mean RGB</i> untuk optimasi perbandingan volume reagen.....	41
4.6 Optimasi volume reagen	42
4.7 Kurva waktu respon.....	43
4.8 Kurva linieritas	44

4.9	Grafik <i>mean RGB</i> untuk selektifitas biosensor polifenol terhadap vitamin C	48
4.10	Grafik % penurunan respon biosensor.....	52

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Optimasi Konsentrasi MBTH	63
B. Optimasi Perbandingan Reagen.....	64
C. Optimasi Volume.....	65
D. Waktu Respon.....	66
E. Linieritas	67
F. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	69
G. Selektivitas.....	70
H. Presisi.....	72
I. Akurasi.....	74
J. Waktu Pakai.....	77
K. Aplikasi Sampel.....	80
L. Metode Pembanding	81
M. Perbandingan Metode (Uji t-perpasangan).....	82
N. Sampel	83
O. Brosur dan Kemasan.....	84