



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR POLIFENOL BERBASIS POLIFENOL
OKSIDASE DARI EKSTRAK PISANG (*Musa paradisiaca* L.) DAN 3-
METHYL-2-BENZOTHIAZOLINONE HYDRAZONE UNTUK DETEKSI
POLIFENOL PADA PRODUK MINUMAN TEH HIJAU DALAM KEMASAN**

SKRIPSI

Oleh

**Gray Metalina Ayundasari Rizam
092210101084**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2013**



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR POLIFENOL BERBASIS POLIFENOL
OKSIDASE DARI EKSTRAK PISANG (*Musa paradisiaca* L.) DAN 3-
METHYL-2-BENZOTHIAZOLINONE HYDRAZONE UNTUK DETEKSI
POLIFENOL PADA PRODUK MINUMAN TEH HIJAU DALAM KEMASAN**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Gray Metalina Ayundasari Rizam
NIM 092210101084**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2013**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang Maha segala-galanya;
2. Papa Samsul Wiaji, (alm) Mama Umi Sriwayati tercinta dan Ibu Aminatin, kuhaturkan terima kasih yang tak terhingga atas doa, dukungan, pengorbanan dan kasih sayang yang tiada henti kepadaku;
3. Keluarga besar di Pronojiwo (Emak, Pakwek, Mbah Oto, Nya2, Om, Mak Micin, Pak Men, Mas Ida, Mas Fiyy, Nisa, Mintil) yang sudah menemani sepanjang hidupku dan adik-adikku Winda Ulifia dan Mutiara Najwa yang selalu menjadi penyemangatu untuk segera menyelesaikan studi ini;
4. Bapak Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. dan bapak Moch. Amrun Hidayat, S.Si., M.Farm., Apt., terimakasih telah memberikan bantuan serta bimbingan dengan segala perhatian sehingga penelitian ini dapat terselesaikan. Bu Wayan, Mbak Hani, Mbak Dini dan Mbak Indri terimakasih atas bantuan dan saran yang telah membantu saya dalam menyelesaikan penelitian ini;
5. Seseorang yang aku sayang Yayan Mariwiyanto yang selalu memberikan semangat dan dukungan dalam menyelesaikan studi ini;
6. Teman-teman seperjuangan Diah Ayu Maharani dan Fadilatul Jannah terima kasih atas bantuan, dorongan serta semangat selama kebersamaan kita dalam melakukan penelitian;
7. Teman-teman sensor *researcher* (Vika, Anggih, Nandari, Zakiah, Anis, Dian, Lail, Prisma, Sabrina, Atika dan Bayu) terima kasih atas bantuan, dorongan serta semangat selama kebersamaan kita dalam melakukan penelitian;
8. Teman-temanku *the niners* terima kasih atas dukungan, semangat serta bantuanya;
9. Adik-adikku kosan 43 yang selalu menemani hari-hariku selama di kosan terima kasih atas semangat dan dukungannya;

10. Pahlawan "tanpa tanda jasa" ku di SDN Pronojiwo 1, SMPN 1 Ampelgading, SMAN 3 Lumajang, Fakultas Farmasi Universitas Jember, atas kesabarannya dalam membimbing dan menyalurkan ilmunya, menjadikanku sebagai sosok yang berpendidikan;
11. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Ya Allah, mudahkanlah aku dalam berusaha, karena memudahkan setiap yang sukar merupakan suatu kemudahan bagi-Mu. Aku memohon kemudahan dan keselamatan di dunia dan akhirat

(HR. Thabrani)

Jika engkau kecewa dan mengeluh terhadap kekurangan yang ada pada dirimu sendiri, maka datanglah kepada arsitek yang telah merancang dan menciptamu

(Zig Ziglar)

Hidup memang bermula dengan 'B' (*Birth*) dan berakhir dengan 'D' (*Death*). Dan yang harus senantiasa teringat antara 'B' dan 'D' ada 'C' (*Choise*). Hidup adalah pilihan. Tetapi sebelum B,C,D selalu ada 'A' (ALLAH)

(Ahmad Rifa'i Rif'an)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Gray Metalina Ayundasari Rizam

NIM : 092210101084

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “*Pengembangan Biosensor Polifenol Berbasis Polifenol Oksidase dari Ekstrak Pisang (Musa paradisiaca L.) dan 3-Methyl-2-Benzothiazolinone Hydrazone untuk Deteksi Polifenol pada Produk Minuman Teh Hijau dalam Kemasan*” adalah benar-benar 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 September 2013

Yang menyatakan,

Gray Metalina A.R

NIM 092210101084

SKRIPSI

PENGEMBANGAN BIOSENSOR POLIFENOL BERBASIS POLIFENOL OKSIDASE DARI EKSTRAK PISANG (*MUSA PARADISIACA* L.) DAN 3- *METHYL-2-BENZOTHIAZOLINONE HYDRAZONE* UNTUK DETEKSI POLIFENOL PADA PRODUK MINUMAN TEH HIJAU DALAM KEMASAN

Oleh

Gray Metalina Ayundasari Rizam
NIM 092210101084

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 berjudul “Pengembangan Biosensor Polifenol Berbasis Polifenol Oksidase dari Ekstrak Pisang (*Musa paradisiaca* L.) dan *3-Methyl-2-Benzothiazolinone Hydrazone* untuk Deteksi Polifenol pada Produk Minuman Teh Hijau dalam Kemasan” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Jumat, 20 September 2013

tempat : Fakultas Farmasi

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

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

NIP 197801262001121004

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

NIP 196902011994031002

Anggota I,

Anggota II,

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

NIP 197806092005012004

Ayik Rosita P, S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP 198102012006042001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

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

NIP 197604142002122001

*Pengembangan Biosensor Polifenol Berbasis Polifenol Oksidase dari Ekstrak Pisang (*Musa paradisiaca L.*) dan 3-Methyl-2-Benzothiazolinone Hydrazone untuk Deteksi Polifenol pada Produk Minuman Teh Hijau dalam Kemasan (The Development of Polyphenol Biosensor Based of Polyphenol Oxidase from Banana Extract (*Musa paradisiaca L.*) and 3-Methyl-2-Benzothiazolinone Hydrazone for Polyphenols Detection in Beverage Green Tea Product)*

Gray Metalina Ayundasari Rizam

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRACT

Polyphenol biosensor based on Polyphenol oxidase from banana extract (*Musa paradisiaca L.*) and 3-Methyl-2-Benzothiazolinone Hydrazone is an analysis device for detecting polyphenol in beverage tea product. The purpose of biosensor development is for detecting polyphenol in beverage tea product especially green tea product simply, easily, and efficiently. The polyphenol biosensor has been made by immobilized mixed of 100% m/v extract banana standarized and 24 mg/ml 3-methyl-2-benzothiazolinone (1:1 v/v) on paper chip with a volume of 15 μ l. Polyphenol biosensor has been characterized and the result is biosensor polyphenol has response time about 17 minutes, has linearity at concentration range 25-300 ppm, with correlation coefficient (r) =0,997. This polyphenol biosensor has sensitivity about 0,1732 per ppm, while LOD = 24,873 mg/L CE and LOQ = 83,006 mg/L CE. Interference or selectivity of the polyphenol biosensor by Vitamin C produce % interference more than 5% at concentration 400 ppm. Biosensor precision parameter comply with RSD < 5,3% which exactly 3,568% and the accuracy parameter of polyphenol biosensor has a value of %recovery about 98,141%. This polyphenol biosensor has been applied to some beverage green tea product and this metode as good as *Folin-ciocalteu*.

Keywords: green tea, MBTH, *Musa paradisiaca L.*, polyphenol biosensor, polyphenol oxidase

RINGKASAN

Pengembangan Biosensor Polifenol Berbasis Polifenol Oksidase dari Ekstrak Pisang (*Musa paradisiaca* L.) dan *3-Methyl-2-Benzothiazolinone Hydrazone* untuk Deteksi Polifenol pada Produk Minuman Teh Hijau dalam Kemasan; Gray Metalina Ayundasari Rizam; 092210101084; 2013; 118 halaman; Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Teh hijau merupakan salah satu minuman yang paling umum dikonsumsi oleh masyarakat ditujukan untuk menikmati aroma, rasa dan fungsi fisiologis positifnya. Teh hijau juga merupakan minuman kesehatan yang digunakan pada beberapa negara antara lain India, China, Jepang dan Thailand sejak 500.000 tahun yang lalu. Manfaat yang dimiliki oleh minuman teh berasal dari kandungan bioaktif yang terdapat dalam daun teh yaitu polifenol. Polifenol memiliki manfaat sebagai antioksidan, mengurangi atau membantu untuk mencegah kerusakan tubuh, antikanker, antiinflamasi, termogenik, probiotik dan antimikroba. Selain itu polifenol juga bermanfaat untuk mencegah penyakit kardiovaskular, neurogeneratif, parkinson, alzheimer, iskemia dan diabetes.

Jumlah kandungan polifenol merupakan parameter utama kualitas produk minuman teh terutama katekin. Biosensor berbasis polifenol oksidase (PPO) menjadi metode yang menjanjikan untuk mendeteksi polifenol karena sederhana, cepat dan sensitif. PPO adalah enzim yang mengandung tembaga dan mengkatalisis hidroksilasi *o*-monofenol menjadi *o*-difenol dan mengoksidasi dari *o*-difenol menjadi *o*-kuinon. Biosensor berbasis PPO yang telah ada memiliki kekurangan seperti: tidak bisa diamati langsung dan memerlukan instrumen dalam penggunaannya sehingga tidak bisa digunakan oleh masyarakat luas. Pada penelitian ini, dikembangkan biosensor polifenol berbasis kertas saring yang lebih sederhana dan lebih mudah pemakaiannya. Enzim PPO diekstraksi dari buah pisang Ambon. Pisang Ambon mudah didapat dan harganya ekonomis. Sebagai indikator warna digunakan *3-methyl-2-*

benzothiazolinone (MBTH) yang dapat membentuk kompleks berwarna merah *maroon* dengan *O*-kuinon (dari reaksi oksidasi polifenol oleh PPO). Biosensor ini juga memiliki kelebihan dalam hal kemudahan imobilisasi reagen dan perubahan warna dapat diamati oleh mata.

Pada penelitian ini fabrikasi biosensor polifenol dilakukan dengan mengimobilisasi reagen pada *chip* kertas dengan diameter 0,8 cm. Reagen yang digunakan merupakan campuran ekstrak pisang 100% b/v dan MBTH 24 mg/ml dengan perbandingan volume 1:1. Volume campuran yang digunakan adalah 15 μ l yang merupakan volume optimum yang menghasilkan intensitas warna yang baik saat biosensor diaplikasikan pada standar dan sampel. Kemudian biosensor dikeringkan selama \pm 45 menit.

Hasil standarisasi ekstrak pisang yaitu ekstrak mengandung enzim PPO sebesar 588,854 unit/ml ekstrak pisang. Karakterisasi biosensor polifenol berbasis enzim PPO dari ekstrak pisang dan MBTH sebagai kontrol kualitas produk minuman teh dalam kemasan meliputi : waktu respon biosensor polifenol adalah 17 menit, linieritas biosensor polifenol terhadap standar katekin berada pada rentang 25-300 ppm, dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,997 dan persamaan regresi yang diperoleh adalah $y=0,1732x+19,254$; sensitivitas biosensor polifenol adalah 0,1732 / mg/L *CE*; LOD sensor polifenol sebesar 24,873 mg/L *CE* dan LOQ sebesar 83,006 mg/L *CE*; interferensi oleh vitamin C memberikan %interferensi $> 5\%$ pada konsentrasi 400 ppm; biosensor polifenol memenuhi parameter presisi dengan RSD $< 5,3\%$ yaitu 3,568%; biosensor polifenol juga memenuhi parameter akurasi dengan %*recovery* sebesar 98,141%. Biosensor polifenol stabil pada penyimpanan suhu 0⁰ C selama 8 hari dan pada suhu 4⁰ C selama 5 hari. Biosensor polifenol dapat diaplikasikan pada sampel produk minuman teh hijau dalam kemasan botol plastik yang beredar di pasaran. Pengukuran konsentrasi polifenol berdasarkan pada perubahan warna yang setara dengan dengan mg/L *CE*. Metode biosensor polifenol tidak memberikan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan metode pengukuran polifenol dengan *Folin-ciocalteu*.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala limpahan rahmat, kenikmatan, petunjuk dan hidayah sehingga proses penyusunan skripsi yang berjudul Pengembangan Biosensor Polifenol Berbasis PPO dari Ekstrak Pisang (*Musa Paradisiaca* L.) dan MBTH untuk Deteksi Polifenol pada Produk Minuman Teh Hijau dalam Kemasan berjalan lancar. Skripsi ini merupakan salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Dalam kesempatan ini, penulis bermaksud mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang mendukung terselesaikannya penyusunan skripsi ini, yaitu :

1. Prof. Drs. Bambang Kuswandi M.Sc., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA), serta pimpinan *Bio and Chemosensor Research Group* yang telah membimbing, membantu dan memberikan ide, masukan serta perbaikan dalam penyusunan skripsi ini.
2. Moch. Amrun Hidayat S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) yang telah membimbing, membantu, memberikan masukan dan perbaikan untuk kelancaran penyusunan skripsi ini.
3. Teman-teman *Sensor Researcher* yang telah memberikan dukungan untuk kelancaran penyusunan skripsi ini.
4. Semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu kritik dan saran sangat penulis harapkan. Semoga penelitian ini bermanfaat bagi pembaca dan mampu berkontribusi bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi khususnya di bidang farmasi (kesehatan).

Jember, September 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN BIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
ABSTRAK	viii
RINGKASAN	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
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 Tinjauan tentang Tanaman Teh.....	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Teh.....	6
2.1.2 Morfologi Tanaman Teh.....	6
2.1.3 Jenis Tanaman Teh	7
2.1.4 Kandungan Teh Hijau.....	7

2.2 Tinjauan tentang Polifenol	8
2.2.1 Flavonoid.....	9
2.2.2 Asam fenolat.....	10
2.2.3 Stilben.....	10
2.2.4 Diferuloylmetana.....	10
2.2.5 Tanin.....	11
2.3 Tinjauan tentang Biosensor	11
2.3.1 Prinsip Pengukuran Biosensor.....	11
2.3.2 Komponen Penyusun Biosensor.....	11
2.3.3 Penggunaan Biosensor.....	13
2.3.4 Karakteristik Biosensor.....	13
2.4 Tinjauan tentang Enzim Polifenol Oksidase	17
2.4.1 Enzim.....	17
2.4.2 Enzim Polifenol Oksidase.....	19
2.4.3 Enzim Polifenol Oksidase Pisang.....	21
2.5 Tinjauan tentang 3-Methyl-2-Benzothiazolinone Hydrazone	22
2.6 Imobilisasi Enzim	23
2.7 Tinjauan tentang Karakterisasi Teknik Imobilisasi	23
2.7.1 Imobilisasi Fisika.....	23
2.7.2 Imobilisasi Kimia.....	25
2.8 Tinjauan tentang <i>ImageJ</i>	26
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	28
3.1 Jenis Penelitian	28
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	28
3.3 Rancangan Penelitian	28
3.3.1 Rancangan Operasional.....	28
3.3.2 Definisi Operasional.....	29
3.3.3 Diagram Alur Penelitian.....	29
3.4 Alat dan Bahan	30

3.4.1	Alat	30
3.4.2	Bahan	30
3.5	Prosedur Penelitian.....	30
3.5.1	Preparasi Bahan	30
3.5.2	Fabrikasi Biosensor Polifenol.....	32
3.5.3	Optimasi konsentrasi MBTH.....	32
3.5.4	Optimasi perbandingan volume ekstrak dan MBTH	32
3.5.5	Optimasi volume ekstrak pisang dan MBTH	33
3.5.6	Standarisasi ekstrak pisang.....	33
3.5.7	Karakteristik Biosensor Polifenol.....	33
3.5.8	Aplikasi pada Sampel	36
3.5.9	Metode pembanding	36
BAB 4.	PEMBAHASAN.....	38
4.1	Fabrikasi Biosensor Polifenol.....	38
4.2	Optimasi Biosensor Polifenol	39
4.2.1	Optimasi konsentrasi MBTH.....	39
4.2.2	Optimasi perbandingan volume ekstrak dan MBTH	41
4.2.3	Optimasi volume ekstrak PPO dan MBTH	42
4.3	Standarisasi Ekstrak Pisang	44
4.4	Karakteristik Biosensor Polifenol.....	46
4.4.1	Waktu respon.....	46
4.4.2	Linieritas.....	48
4.4.3	Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi.....	49
4.4.4	Sensitivitas.....	50
4.4.5	Selektifitas (Interferensi).....	50
4.4.6	Presisi	51
4.4.7	Akurasi	52
4.4.8	Waktu pakai.....	53
4.5	Aplikasi Biosensor pada Sampel Teh Hijau	54

4.6 Metode Pembanding (<i>Folin-Ciocalteu</i>)	56
BAB 5. KESIMPULAN	59
5.1 Kesimpulan.....	59
5.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
DAFTAR LAMPIRAN.....	65

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kriteria penerimaan RSD.....	16
2.2 Kriteria penerimaan % perolehan kembali.....	17
2.3 Sifat fisika kimia MBTH.....	22
4.1 Hasil optimasi konsentrasi MBTH.....	39
4.2 Hasil optimasi perbandingan volume ekstrak pisang dan MBTH	41
4.3 Hasil optimasi volume campuran.....	43
4.4 Hasil pengukuran dengan metode Bradford.....	45
4.5 Hasil pengukuran respon biosensor setiap waktu	47
4.6 Hasil Pengukuran Linieritas	48
4.7 Hasil pengukuran % interferensi	51
4.8 Hasil pengukuran presisi	52
4.9 Hasil pengukuran % <i>recovery</i>	53
4.10 Hasil aplikasi biosensor pada sampel teh hijau.....	55
4.11 Hasil pengukuran <i>Folin-Ciocalteu</i> (UV-Vis).....	57

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman teh	6
2.2 Struktur katekin mayor pada teh hijau	8
2.3 Klasifikasi polifenol	9
2.4 Skema komponen penyusun biosensor	12
2.5 Grafik kinetika enzim.....	19
2.6 Reaksi enzimatik dan kondensasi enzimatik dalam pembentukan melanin.....	20
2.7 Pembentukan intermediet radikal bebas pada reaksi oksidasi o-difenol.....	20
2.8 Pisang Ambon	21
2.9 Struktur MBTH	22
2.10 Pembentukan kompleks berwarna merah hingga <i>maroon</i>	22
2.11 Teknik adsorpsi	23
2.12 Teknik enkapsulasi	24
2.13 Teknik Entrapmen	24
2.14 Teknik Cross-linking.....	25
2.15 Teknik Kovalen	25
2.16 Program ImageJ	27
3.1 Digram alur penelitian.....	29
3.2 Desain biosensor polifenol	32
4.1 Perubahan warna biosensor sebelum dan sesudah diaplikasikan pada sampel	38
4.2 Grafik pengaruh konsentrasi MBTH.....	40
4.3 Perubahan warna biosensor pada berbagai konsentrasi MBTH.....	40
4.4 Grafik pengaruh perbandingan volume ekstrak pisang dan MBTH	42
4.5 Perubahan warna biosensor pada berbagai perbandingan volume.....	42
4.6 Grafik pengaruh volume campuran ekstrak pisang dan MBTH	43

4.7	Perubahan warna biosensor pada berbagai volume campuran.....	44
4.8	Kurva linieritas standar PPO.....	45
4.9	Kurva waktu respon	46
4.10	Kurva Linieritas	49
4.11	Waktu pakai biosensor polifenol pada	54
4.12	Kurva linieritas metode <i>Folin-Ciocalteu</i>	56
4.13	Grafik aplikasi sampel pada biosensor polifenol dan Folin Ciocalteu.....	58
4.14	Kurva korelasi 2 metode	58

DAFTAR LAMPIRAN

A. Optimasi Konsentrasi MBTH	65
B. Optimasi perbandingan MBTH dan ekstrak cair pisang	66
C. Optimasi volume	67
D. Standarisasi ekstrak pisang	68
E. Waktu respon	69
F. Linieritas	72
G. Perhitungan LOD dan LOQ	74
H. Selektivitas (Interferensi)	76
I. Perhitungan presisi	77
J. Perhitungan akurasi	79
K. Waktu pakai Biosensor	82
L. Metode Pembandingan	85
M. Aplikasi sampel	86
N. Nilai t-tabel	93
O. Hasil <i>paired t-test</i>	93
P. Foto alat dan bahan penelitian	94
Q. Desain kemasan produk	98
R. Brosur produk	99