



**PENGEMBANGAN LDK (LABORATORIUM DALAM KERTAS) UNTUK
BIOSENSOR FORMALIN BERBASIS IMOBILISASI ALKOHOL OKSIDASE
PADA SAMPEL PLASMA**

SKRIPSI

Oleh

**Lindawati Setyaningrum
NIM 072210101056**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2011**



**PENGEMBANGAN LDK (LABORATORIUM DALAM KERTAS) UNTUK
BIOSENSOR FORMALIN BERBASIS IMOBILISASI ALKOHOL OKSIDASE
PADA SAMPEL PLASMA**

SKRIPSI

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

Oleh

Lindawati Setyaningrum
NIM 072210101056

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2011

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang Maha segala-galanya;
2. Papa dan Mama tercinta, kuhaturkan terima kasih yang tak terhingga atas doa, dukungan, pengorbanan dan kasih sayang yang tiada henti kepadaku;
3. Kakakku yang jauh dipulau seberang sana yang selalu menjadi penyemangatku untuk segera menyelesaikan studi ini;
4. Bapak Bambang Kuswandi, terima kasih telah memberikan bantuan berupa jurnal, bahan, alat, serta bimbingan–bimbingan dengan segala perhatian hingga terselesaikan skripsi ini. Bapak Moch. Amrun Hidayat, terima kasih atas segala saran dan nasihat yang selama ini bapak berikan. Bu Wayan, terimah kasih atas segala bantuan yang ibu berikan sampai terselesaikannya skripsi ini;
5. Seseorang yang aku sayang Andi Purwanto sekeluarga yang selalu memberikan semangat dan dukungan dalam menyelesaikan studi ini;
6. Teman–teman seperjuangan Wahyuni Cristiana dan Deny Rohliana terima kasih atas bantuan, dorongan serta semangat selama kebersamaan kita dalam melakukan penelitian.
7. Sahabat-sahabatku Fiona, Noviana, Yuka, lukboy, santi, mbote, cempe and the gank, om yudho, mas beny, teman-teman kost biru tercinta, teman-teman laboratorium biosensor, teman-teman KKT tempurejo, dan teman–teman farmasi 2007, terima kasih atas dukungan, nasehat, semangat serta bantuanya;
8. Pahlawan ”tanpa tanda jasa” ku di SDN 1 Wonoasri, SMPN 1 Ambulu, SMAN 2 Jember, Fakultas Farmasi Universitas Jember, atas kesabarannya dalam membimbing dan menyalurkan ilmunya, menjadikanku sebagai sosok yang berpendidikan;
9. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Sesuatu yang aku sayang akan selalu dihatiku selamanya
(Anonim)

Dan sungguh akan Kami berikan cobaan kepadamu, dengan sedikit ketakutan, kelaparan, kekurangan harta, jiwa, dan buah-buahan. Dan berikanlah berita gembira kepada orang-orang yang sabar.
(Q.S. Al-Baqarah : 155)

Barang siapa yang diberi petunjuk oleh Allah, maka dialah yang mendapat petunjuk, dan barang siapa yang disesatkan Allah, maka merekalah orang-orang yang merugi.
(Q.S Al-A'raf : 178)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Lindawati Setyaningrum

NIM : 072210101056

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Pengembangan LDK (Laboratorium Dalam Kertas) Untuk Biosensor Formalin Berbasis Imobilisasi Alkohol Oksidase Pada Sampel Plasma* 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Desember 2011

Yang menyatakan,

Lindawati Setyaningrum

NIM : 072210101056

SKRIPSI

**PENGEMBANGAN LDK (LABORATORIUM DALAM KERTAS) UNTUK
BIOSENSOR FORMALIN BERBASIS IMOBILISASI ALKOHOL OKSIDASE
PADA SAMPEL PLASMA**

Oleh

Lindawati Setyaningrum
NIM 072210101056

Pembimbing :

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Pengembangan LDK (Laboratorium Dalam Kertas) Untuk Biosensor Formalin Berbasis Imobilisasi Alkohol Oksidase Pada Sampel Plasma* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari :

tanggal:

tempat : Fakultas Farmasi

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

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

NIP 19690201 199403 1 002

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

NIP.197801262001121004

Anggota I,

Anggota II,

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

NIP 198206092005012004

Diana Holiday, M.Farm, Apt

NIP 197812212005012002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Prof. Drs. Bambang Kuswandi, MSc., PhD

NIP 196902011994031002

*Pengembangan LDK (Laboratorium Dalam Kertas) Untuk Biosensor Formalin
Berbasis Imobilisasi Alkohol Oksidase Pada Sampel Plasma*

Lindawati Setyaningrum

Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRAK

LDK (Laboratorium Dalam Kertas) adalah suatu instrumen analitik biosensor yang dapat digunakan untuk mendeteksi formalin. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan cara fabrikasi LDK, Menentukan karakteristik LDK, Menentukan bagaimana aplikasi LDK dalam mendeteksi adanya kadar formalin dalam matrik darah. Untuk mendeteksi formalin diperlukan reagen biologis berupa alkohol oksidase dengan indikator tetrametylbenzidine (TMB) konsentrasi 20.000 ppm, dengan waktu deteksi selama kurang lebih 2 menit hingga menimbulkan perubahan warna, dari hasil deteksi didapatkan karakteristik daerah linier 0,5-5 ppm dengan hasil koefisien korelasi 0,996; limit deteksi 0,079 ppm dan limit kuantitasi 0,264 ppm, selektif oleh adanya pengganggu garam dan gula. Penentuan presisi ditentukan dengan menghitung standar deviasi relatif (RSD) yang didapatkan yaitu lebih kecil dari 2 % dan persen perolehan kembali yang memenuhi rentang yaitu 80 % - 110 %. LDK untuk deteksi formalin dapat diaplikasikan pada matrik darah dimana hasil konsentrasi yang sama juga diperoleh dari metode dengan spektrofotometri.

Kata kunci : LDK, biosensor, formalin, alkohol oksidase

RINGKASAN

Pengembangan LDK (Laboratorium Dalam Kertas) Untuk Biosensor Formalin Berbasis Imobilisasi Alkohol Oksidase Pada Sampel Plasma; Lindawati Setyaningrum, 0762210101056; 2011; 81 Halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diketahui bahwa ditahun 2005-2006 lalu, masyarakat diresahkan dengan penyalahgunaan formalin dalam berbagai jenis makanan. Bahaya dari formalin jika digunakan sebagai bahan pengawet untuk pangan yaitu dapat menyebabkan beberapa gejala diantaranya adalah tenggorokan terasa panas, mual, muntah dan pada jangka panjang dapat menyebabkan kanker. Oleh sebab itu perlu pendeteksian formalin dengan menggunakan matrik darah untuk mengetahui kadar yang terkandung didalamnya. Plasma darah dipilih pada pendeteksian ini karena tidak mengandung antikoagulan sehingga tidak terjadi pembekuan darah dan tidak mempengaruhi hasil uji analisis. Pada hasil uji analisis jika ditemukan bahwa suatu darah mengandung formalin maka hal tersebut berpotensi dapat membahayakan tubuh.

Untuk itu dikembangkan suatu biosensor berupa LDK yang diharapkan lebih efektif dan efisien dalam penggunaannya dibandingkan menggunakan instrumen yang lebih rumit. Dipilih biosensor karena memiliki sensitivitas dan selektivitas yang menjadi kelebihan dibandingkan dengan sensor kimia. Dalam pengembangan biosensor, penggunaan imobilisasi enzim adalah sangat bermanfaat dan menjanjikan. LDK difabrikasi dengan teknik cetak sablon dan alkohol oksidase yang ditambah indikator *tetrametilbenzidin* diimmobilisasi dengan teknik adsorpsi, kemudian reagen yang telah diimmobilisasi bereaksi dengan analit maka akan terbentuk hidrogen peroksida, dimana penambahan indikator *tetrametilbenzidin* menyebabkan terjadinya perubahan warna biru. Dengan adanya perubahan warna ini maka kita dapat mendeteksi formalin dalam matrik darah dengan mudah dan dengan biaya yang relatif murah.

Hasil optimasi ini menunjukkan bahwa tinta sablon yang sesuai untuk LDK kertas merupakan campuran pasta karet warna, emulsifier dan tinta hitam karena mampu menahan cairan sampel dari perembesan dengan matrik pendukungnya ialah kertas saring jenis halus 150 mm. Kondisi optimum LDK antara lain: volume sampel optimum yaitu 15 μL , volume reagen optimum yaitu 1,0 μL , waktu respon optimal dari LDK adalah ± 1 menit 20 detik dan LDK dapat bekerja dengan baik dalam waktu tidak lebih dari 2 minggu pada suhu 8°C.

Untuk hasil karakterisasi LDK ini meliputi: daerah linier LDK adalah rentang konsentrasi 0,5-5 ppm dengan hasil koefisien korelasi 0,996. Limit deteksi 0,079 ppm dan limit kuantitasi 0,264 ppm, selektif oleh adanya pengganggu garam dan gula. Penentuan presisi ditentukan dengan menghitung standar deviasi relatif (RSD) yang didapatkan yaitu lebih kecil dari 2 % dan persen perolehan kembali yang memenuhi rentang yaitu 80 % - 110 %. LDK untuk deteksi formalin dapat diaplikasikan pada matrik darah dimana hasil konsentrasi yang sama juga diperoleh dari metode dengan spektrofotometri.

PRAKATA

Ucapan syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Pengembangan LDK (Laboratorium Dalam Kertas) Untuk Biosensor formalin berbasis imobilisasi alkohol oksidase pada sampel plasma*. Maksud dari penyusunan proposal ini adalah untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan program Strata Satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyampaikan terima kasih atas berbagai pihak yang membantu dalam terselesaikannya proposal ini, antara lain kepada:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
2. Ketua Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember.
3. Dosen Pembimbing Utama dan Pembimbing Anggota atas motivasi dan waktu yang diberikan serta dengan penuh kesabaran membimbing penulis dari penentuan topik sampai terselesaikannya skripsi ini.
4. Dosen penguji yang telah memberikan saran dan kritik atas perbaikan skripsi ini.
5. Seluruh staf dosen dan administrasi Fakultas Farmasi UNEJ.
6. Ketua dan teknisi Laboratorium Bio-Kemosensor dan Kimia Farmasi.
7. Semua pihak yang dengan sadar dan tanpa sadar telah memberikan inspirasi pada penulis dalam penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari proposal ini jauh dari sempurna sehingga saran dan kritik penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga proposal ini dapat memberi kontribusi terhadap kemajuan ilmu pengetahuan.

Jember, Desember 2011

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
ABSTRAK	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan formalin	4
2.1.1 Definisi formalin	4
2.1.2 Fungsi formalin	5
2.1.3 Karsinogenisitas Formalin	6
2.2 Tinjauan biosensor.....	6
2.2.1 Definisi biosensor	6
2.2.2 Enzim Biosensor Formalin	9

2.2.3 Alkohol Oksidase	10
2.2.4 3,3',5,5' Tetramethylbenzidine (TMB)	11
2.3 Darah	12
2.3.1 Karakteristik Darah	12
2.3.2 Komponen Darah	12
2.4 Imobilisasi Enzim	13
2.4.1 Adsorpsi	13
2.4.2 Enkapsulasi	14
2.4.3 Entrapment	14
2.4.4 Cross-linking	15
2.4.5 Ikatan kovalen	16
2.5 Karakteristik biosensor	16
2.5.1 Daerah Linier	16
2.5.2 Limit Deteksi (LOD) dan Kuantitasi (LOQ)	16
2.5.3 Presisi	17
2.5.4 Selektivitas	17
2.5.5 Akurasi	18
2.6 Mikrototal Analisis Sistem (μTAS)	18
2.7 Teknik sablon	20
2.7.1 Alat	20
2.7.2 Proses cetak sablon	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	25
3.1 Jenis Penelitian	25
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.3 Tahapan Penelitian	25
3.3.1 Tahapan Percobaan	25
3.3.2 Diagram Alur Penelitian	26
3.4 Alat Dan Bahan Penelitian	26
3.4.1 Bahan	26

3.4.2 Alat	27
3.5 Prosedur Penelitian	27
3.5.1 Penyiapan larutan standar formalin.....	27
3.5.2 Pembuatan larutan dapar pH 7	27
3.5.3 Penyiapan larutan alkohol oksidase	27
3.5.4 Penyiapan larutan TMB 20.000 ppm	27
3.5.5 Pembuatan LDK	28
3.5.6 Optimasi LDK	29
3.5.7 Proses Imobilisasi reagen	30
3.5.8 Proses Pengukuran warna	30
3.6 Karakterisasi LDK	31
3.6.1 Daerah linier	31
3.6.2 Limit deteksi dan Limit kuantitasi	31
3.6.3 Selektivitas	31
3.6.4 Presisi	32
3.6.5 Akurasi	32
3.7 Aplikasi Sampel simulasi plasma darah pada LDK dan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis sebagai metode pembandingan	33
BAB 4. HASIL dan PEMBAHASAN	34
4.1 Kualitas LDK Sebagai biosensor	34
4.1.1 Fabrikasi LDK dengan teknik sablon	34
4.1.2 Proses Imobilisasi LDK	35
4.2 Optimasi LDK	36
4.2.1 Optimasi perbandingan bahan untuk LDK	36
4.2.2 Optimasi volume sampel.....	36
4.2.3 Optimasi volume enzim	38
4.2.4 Optimasi konsentrasi indicator <i>Tetramethylbenzidine</i>	39
4.2.5 Optimasi waktu respon	40

4.2.6 Optimasi kondisi penyimpanan dan waktu pakai	40
4.3 Karakteristik LDK sebagai biosensor	41
4.3.1 Daerah Linier	41
4.3.2 Limit Deteksi dan Limit kuantitasi	44
4.3.3 Selektivitas	46
4.3.4 Presisi	47
4.3.5 Akurasi	49
4.4 Aplikasi Sampel simulasi plasma darah pada LDK dan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis sebagai metode pembandingan	51
BAB 5. KESIMPULAN dan SARAN	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	57

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Optimasi perbandingan bahan	36
4.2 Optimasi volumen sampel	37
4.3 Optimasi volume enzim	38
4.4 Optimasi konsentrasi indikator <i>Tetramethylbenzidine</i>	39
4.5 Optimasi Stabilitas LDK pada penyimpanan suhu kamar dan lemari es	41
4.6 Data pengukuran nilai $\Delta mean RGB$ untuk daerah linier	42
4.7 Hasil pengukuran nilai $\Delta mean RGB$ untuk kurva kalibrasi limit deteksi dan limit kuantitasi	45
4.8 Hasil pengukuran nilai $\Delta mean RGB$ untuk selektivitas	46
4.9 Hasil pengukuran $\Delta mean RGB$ untuk presisi	48
4.10 Persen perolehan kembali dari kurva kalibrasi terhadap sampel simulasi...	50
4.11 Hasil pengukuran kedua metode analisis	51

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur Formalin.....	4
2.2 Desain biosensor enzim.....	8
2.3 Struktur 3,3,5,5-tetramethylbenzidin	11
2.4 Teknik adsorpsi	14
2.5 Teknik Enkapsulasi	14
2.6 Teknik Teknik <i>Entrapment</i>	15
2.7 Teknik <i>Cross-linking</i>	15
2.8 Teknik Ikatan kovalen	16
2.9 Skematik dari μ TAS dengan detektor optik dan LDK (inzet)	19
2.10 Rakel	20
2.11 Skema teknik sablon	24
3.1 Diagram Alur Penelitian	26
3.2 Skema proses fabrikasi LDK	28
4.1 Bentuk LDK dari hasil cetak sablon	35
4.2 Enzim dan indicator yang telah diimobilisasi	35
4.3 Garis persamaan regresi deteksi formalin	44
4.4 kurva penentuan limit deteksi dan limit kuantitasi	46
4.5 kurva kalibrasi untuk akurasi dan presisi.....	49
5.1 LDK menggunakan pegangan.....	53

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan LOD dan LOQ	57
B. Perhitungan Selektifitas	58
C. Perhitungan Presisi	59
D. Perhitungan Akurasi	60
E. Alat dan bahan Sablon	62
F. Kemasan LDK	63
G. Brosur Kemasan LDK	64

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diketahui bahwa ditahun 2005-2006 lalu, masyarakat diresahkan dengan penyalahgunaan formalin dalam berbagai jenis makanan. Wakil Ketua Badan Perlindungan Konsumen Nasional (BPKN) Franciscus Welirang mengatakan sampai sekarang formalin masih dipakai sebagai pengawet bahan pangan tertentu dalam masyarakat. BPKN sudah merekomendasikan dan mendesak pemerintah memberlakukan ketentuan tentang penambahan zat tambahan berupa perasa getir/pahit pada formalin supaya bahan kimia berbahaya tersebut tidak lagi digunakan dalam pengolahan bahan pangan. Tetapi masih ada yang menggunakannya untuk mengawetkan ikan, tahu, dan mie basah. Rekomendasi itu disampaikan kepada Kementerian Perindustrian yang berwenang mengatur produksi dan distribusi formalin di dalam negeri serta Kementerian Perdagangan yang berwenang mengatur distribusi formalin impor (Bhirawa, 2011).

Bahaya dari formalin jika digunakan sebagai bahan pengawet untuk pangan yaitu dapat menyebabkan beberapa gejala diantaranya adalah tenggorokan terasa panas, mual, muntah dan pada jangka panjang dapat menyebabkan kanker. Konsentrasi yang tinggi dalam tubuh dapat menimbulkan reaksi kimia dengan hampir semua zat di dalam sel, sehingga menekan fungsi sel dan menyebabkan kerusakan organ tubuh. Kerusakan di dalam sel terjadi karena formalin mengkoagulasi protein yang terdapat pada protoplasma dan nukleus (Saraswati, 2009).

Oleh sebab itu perlu dilakukan pendeteksian formalin pada darah untuk mengetahui kadar yang terkandung didalamnya. Darah digunakan sebagai uji analisis karena merupakan matrik yang komplek , dimana terdiri dari dua bagian yaitu plasma darah dan sel darah. Plasma darah dipilih pada pendeteksian ini karena tidak mengandung antikoagulan sehingga tidak terjadi pembekuan darah dan tidak