



**PENGEMBANGAN BIOSENSOR BERBASIS ALKOHOL OKSIDASE -
METIL MERAH PADA MEMBRAN SOL-GEL MENGGUNAKAN LDK (LAB
DALAM KEPINGAN) UNTUK DETEKSI FORMALIN PADA SAMPEL
MAKANAN**

SKRIPSI

**Diajukan guna Melengkapi Tugas Akhir dan Memenuhi Persyaratan Menyelesaian
Program Sarjana Farmasi (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember**

Oleh :

DENY ROHLIANA

NIM 072210101057

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2012

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang Maha Segala-galanya;
2. Ibunda tercinta Lilik Sutiani dan Ayahanda Abdul Rokhim, saya haturkan terima kasih yang tak terhingga atas doa, nasehat, pengorbanan, dukungan dan kasih sayang yang tiada hentinya bagi saya;
3. Nenekku Tasni dan alm. Kakek Soetomo, terima kasih atas nasehat, dukungan, serta telah menjadi sosok inspiratif dan teladan bagi saya dalam menjalani hidup.
4. Adekku tersayang Yeni Rohma Liana yang selalu menginspirasi untuk selalu ceria dan pantang menyerah;
5. 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 dan mbak Hani, terima kasih atas segala bantuan yang telah berikan sampai terselesaikannya skripsi ini;
6. Seseorang yang saya sayangi Febri Wibowo sekeluarga yang selalu memberikan semangat dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini;
7. Teman-teman seperjuangan Lindawati Setyaningrum dan Wahyuni Cristiana terima kasih atas bantuan, dukungan serta dorongan semangat selama kebersamaan kita dalam menyelesaikan penelitian ini
8. Sahabatku Yulia Trisnawati dan Alvi Kusuma Wardhani terima kasih karena selalu ada ketika aku merasa jatuh, atas kebersamaan kita di saat suka dan duka,atas kata “semangat” yang selalu menjadi semboyan kita.
9. Sahabat-sahabatku Fiona, Rina, Yuka, Noviana, Santi, Lukboy, Dimas, Lukman and the gank, dan teman-teman kost keluarga wisma selebriti, teman-teman seperjuangan di laboratorium kimia biosensor, teman-teman KKT



Pringgowirawan, dan teman-teman farmasi 2007, terimakasih atas dukungan, nasehat, semangat serta bantuannya;

10. Pahlawan “tanpa tanda jasa”ku di TK Kartika, SDN Simbatan, SMPN 4 Lamongan, SMAN 2 Lamongan, Fakultas Farmasi Universitas Jember, terimakasih atas bimbingan, pembelajaran dan penyaluran ilmu pengetahuan sehingga bermanfaat bagi saya hingga sekarang.
11. Almamater Fakultas farmasi Universitas jember



MOTTO

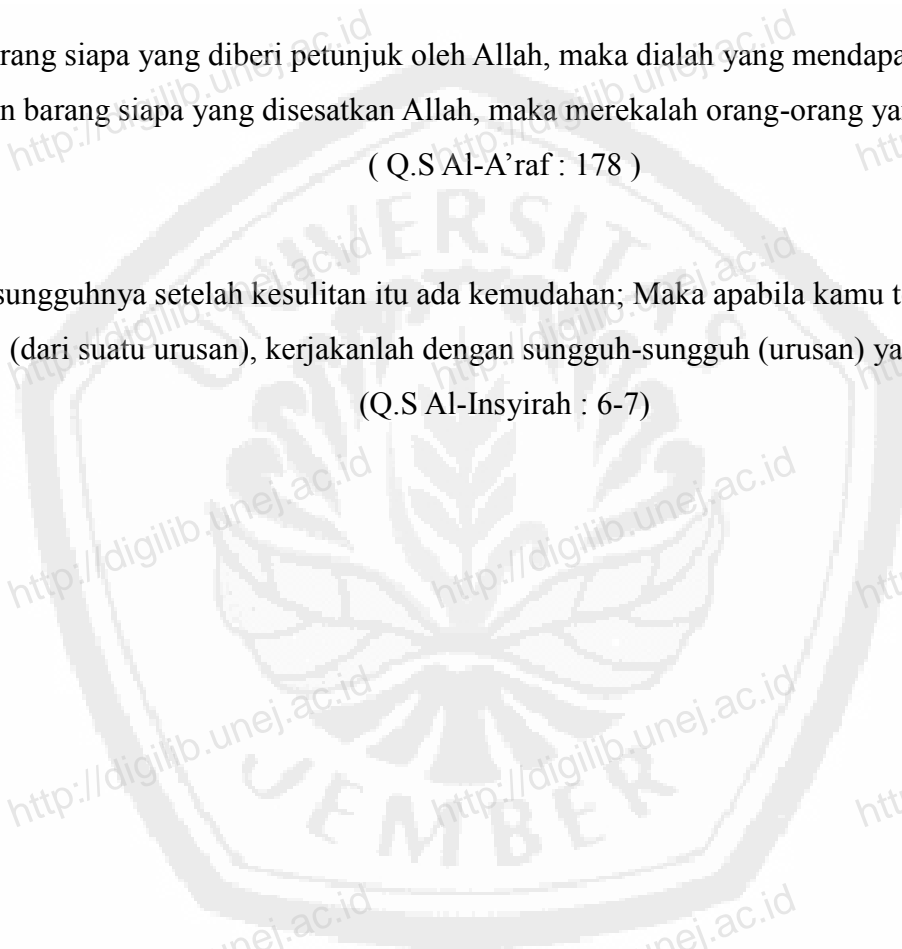
Masa depanku ditentukan oleh perbuatanku
(Anonim)

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)

Sesungguhnya setelah kesulitan itu ada kemudahan; Maka apabila kamu telah selesai
(dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain.

(Q.S Al-Insyirah : 6-7)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Deny Rohliana

NIM : 07 221 0101 057

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Pengembangan Biosensor Berbasis Alkohol Oksidase-Metil Merah Pada Membran Sol-Gel Menggunakan LDK (Lab Dalam Kepingan) Untuk Deteksi Formalin Pada Sampel Makanan* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada insyansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isi sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juni 2012

Yang menyatakan,

Deny Rohliana

NIM 072210101057

SKRIPSI

**PENGEMBANGAN BIOSENSOR BERBASIS ALKOHOL OKSIDASE -
METIL MERAH PADA MEMBRAN SOL-GEL MENGGUNAKAN LDK (LAB
DALAM KEPINGAN) UNTUK DETEKSI FORMALIN PADA SAMPEL
MAKANAN**

Oleh

Deny Rohliana

NIM 072210101057

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 Biosensor Berbasis Alkohol Oksidase-Metil Merah Pada Membran Sol-Gel Menggunakan LDK (Lab Dalam Kepingan) Untuk Deteksi Formalin Pada Sampel Makanan* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari : Kamis

tanggal: 21 Juni 2012

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.19780126 200112 1 004

Anggota I,

Anggota II,

Lestyo Wulandari S.Si., Apt., M.Farm
NIP 19760414 200212 2 001

Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt.M.Si
NIP 19820609 200501 2 004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Prof. Drs. Bambang Kuswandi, MSc., PhD
NIP 19690201 199403 1 002

Pengembangan Biosensor Berbasis Alkohol Oksidase-Metil Merah Pada Membran Sol-Gel Menggunakan LDK (Lab Dalam Kepingan) Untuk Deteksi Formalin Pada Sampel Makanan

Deny Rohliana

Fakultas Farmasi, Universitas Jember

ABSTRAK

Formalin merupakan bahan kimia yang dilarang sebagai bahan pengawet pada makanan. Namun, dalam prakteknya banyak ditemukan kandungan formalin pada makanan yang beredar di masyarakat. Biosensor pada sistem lab dalam kepingan (LDK) merupakan suatu instrumen yang digunakan untuk mendeteksi formalin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum operasional LDK, menentukan karakteristik LDK, dan menentukan apakah LDK dapat diaplikasikan pada sampel makanan. Pengukuran kadar formalin ini menggunakan reagen biologis yaitu enzim alkohol oksidase dengan penambahan indikator pH metil merah. Prosedur analisis formalin dilakukan dengan mengalirkan sampel yang telah dipreparasi, pada LDK yang di dalamnya telah dipasang membran sol-gel alkohol oksidase-metil merah dan diukur pada panjang gelombang maksimum 557,85 nm, dengan waktu respon deteksi pada detik ke ± 190 hingga menimbulkan perubahan warna pada membran (kuning menjadi merah muda). Dari hasil deteksi didapatkan karakteristik daerah linier 1-15 ppm dengan hasil koefisien korelasi 0,998 ; sensitifitas senilai 2,839 intensitas/ppm; batas deteksi 0,208 ppm ; batas kuantitasi 0,694 ppm; kurang selektif oleh adanya garam pada konsentrasi > 500 ppm ; nilai koefisien variasi (KV) pada penentuan presisi (keterulangan) $< 5\%$ dan persen perolehan kembali memenuhi rentang perolehan kembali yang dipersyaratkan yaitu 80 %-110%.

kata kunci : LDK, formalin, biosensor, alkohol oksidase, metil merah

RINGKASAN

Pengembangan Biosensor Berbasis Alkohol Oksidase-Metil Merah Pada Membran Sol-Gel Menggunakan LDK (Lab Dalam Kepingan) Untuk Deteksi Formalin Pada Sampel Makanan; Deny Rohliana, 072210101057; 2012; 80; Fakultas Farmasi Universitas Jember

Penyalahgunaan bahan kimia seperti formalin pada produk makanan semakin banyak ditemukan. Masyarakat dibuat resah dengan berbagai penemuan makanan yang mengandung formalin pada inspeksi mendadak yang dilakukan oleh balai POM. Formalin adalah bahan kimia yang dilarang penggunaannya untuk bahan tambahan makanan, dan akan sangat berbahaya jika dikonsumsi. Bahaya formalin jika dikonsumsi yaitu dapat terjadi beberapa gejala diantaranya tenggorokan terasa panas, mual, muntah dan jika dikonsumsi dalam jangka panjang dapat menyebabkan kanker. Oleh sebab itu maka perlu adanya pendeteksian formalin pada makanan yang akan dikonsumsi untuk menghindari bahaya tersebut.

Berdasarkan berbagai penyalahgunaan tersebut, maka dikembangkan suatu biosensor yang diharapkan lebih efektif dan efisien dalam pendeteksian formalin pada sampel makan ini. Biosensor yang dikembangkan adalah biosensor yang menggunakan fiber optik yang dipasang pada lab dalam kepingan (LDK). Dengan alat ini diharapkan memiliki sensitifitas lebih baik dari pada sensor formalin lainnya. Kelebihan dari metode ini adalah integrasi dari semua proses dalam satu piranti, seperti preparasi sampel, separasi, reaksi kimia, deteksi analit dan analisis data dapat dilakukan dalam satu piranti mikro analisis. Selain itu, dalam metode ini hanya diperlukan bahan yang sangat sedikit sehingga lebih ekonomis. Pada biosensor ini digunakan reagen biologis berupa enzim alkohol oksidase yang diimobilisasi dengan teknik *entrapment* pada membran sol gel sebagai pendeteksi formalin. Selain enzim

juga ditambahkan indikator pH metil merah untuk mengetahui adanya formalin dari perubahan warna merah yang dihasilkan pada membran.

Tahapan yang mengawali penelitian ini adalah dengan menentukan kondisi optimum biosensor formalin dengan reagen alkohol oksidase yang terdiri dari panjang gelombang maksimum, waktu respon membran, waktu alir dan laju alir. Biosensor memberikan intensitas sinyal terbesar pada panjang gelombang 557,85 nm, dengan waktu respon membran pada detik ke-190 untuk menghasilkan intensitas sinyal konstan dan memiliki laju alir 0,96 mL/menit.

Parameter analisis yang diamati adalah daerah linier, batas deteksi dan kuantitasi, sensitifitas, selektifitas, presisi (keterulangan) dan akurasi (kecermatan). Metode ini memberikan hasil linier koefisien korelasi (r) = 0,998, Batas deteksi (LOD) = 0,208 ppm dan batas kuantitasi (LOQ) = 0,694 ppm. Metode ini memberikan sensitifitas sebesar 2,839 ppm. Selektif oleh adanya garam sebagai komponen pengganggu pada sampel dengan konsentrasi <500 ppm. Penentuan presisi ditentukan dengan menghitung koefisien variasi (KV), sehingga berdasarkan hasil perhitungan dapat diketahui nilai $KV \leq 5\%$ dan persen perolehan kembali yang memenuhi rentang 80% - 110%.

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 Biosensor Berbasis Alkohol Oksidase-Metil Merah Pada Membran Sol-Gel Menggunakan LDK (Lab Dalam Kepingan) Untuk Deteksi Formalin Pada Sampel Makanan*. 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, Juni 2012

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| Halaman Sampul | i |
| Halaman Judul | ii |
| Halaman Persembahan | iii |
| Halaman Moto | v |
| Halaman Pernyataan | vi |
| Halaman Pembimbingan | vii |
| Halaman Pengesahan | viii |
| Abstrak | ix |
| Ringkasan | x |
| Prakata | xii |
| Daftar Isi | xiii |
| Daftar Tabel | xvii |
| Daftar Gambar | xviii |
| Daftar Lampiran | xx |
| I. Pendahuluan | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 4 |
| II. Tinjauan Pustaka | 5 |
| 2.1 Formalin | 5 |
| 2.1.1 Fungsi Formalin | 6 |
| 2.1.2 Bahaya Dan Toksikologi Formalin | 7 |
| 2.2 Biosensor | 7 |
| 2.2.1 Biosensor Fiber Optik | 7 |

| | |
|---|----|
| 2.2.2 Kelebihan Biosensor Fiber Optik..... | 9 |
| 2.3 Enzim | 9 |
| 2.3.1 Enzim Biosensor Formalin..... | 9 |
| 2.3.2 Enzim Alkohol Oksidase..... | 10 |
| 2.3.3 Reaksi Alkohol Oksidase Terhadap Formalin..... | 11 |
| 2.4 Indikator pH | 11 |
| 2.5 Teknik Sol-Gel | 13 |
| 2.6 Immobilisasi Enzim | 13 |
| 2.6.1 Metode Immobilisasi Adsorpsi..... | 14 |
| 2.6.2 Metode Immobilisasi Enkapsulasi..... | 15 |
| 2.6.3 Metode Immobilisasi Entrapmen..... | 16 |
| 2.6.4 Metode Immobilisasi Crosslinking..... | 19 |
| 2.6.5 Metode Immobilisasi Ikatan Kovalen..... | 19 |
| 2.7 Laboratorium Dalam Kepingan (LDK) | 20 |
| 2.7.1 Pemindahan Cairan..... | 21 |
| 2.7.2 Pencampuran..... | 22 |
| 2.8 Karakterisasi Biosensor Formalin | 23 |
| 2.8.1 Daerah Linier (Linieritas)..... | 23 |
| 2.8.2 Penentuan Batas Deteksi Dan Batas Kuantitasi..... | 24 |
| 2.8.3 Penentuan Presisi (Keterulangan)..... | 24 |
| 2.8.4 Penentuan Selektifitas..... | 25 |
| 2.8.5 Penentuan Sensitifitas..... | 25 |
| 2.8.6 Kecermatan (Akurasi)..... | 25 |
| III. Metode Penelitian | 27 |
| 3.1 Jenis Penelitian | 27 |
| 3.2 Tempat Dan Waktu Penelitian | 27 |
| 3.3 Rancangan Penelitian | 27 |
| 3.3.1 Rancangan Percobaan..... | 27 |
| 3.3.2 Diagram Alir Penelitian..... | 28 |

| | |
|---|----|
| 3.4 Alat dan Bahan | 29 |
| 3.4.1 Alat | 29 |
| 3.4.2 Bahan | 29 |
| 3.5 Membuat Larutan | 29 |
| 3.5.1 Pembuatan Larutan Formalin | 29 |
| 3.5.2 Larutan Alkohol Oksidase | 30 |
| 3.5.3 Larutan Indikator Metil Merah | 30 |
| 3.5.4. Larutan Buffer pH 7,5 | 30 |
| 3.6 Pembuatan Sol-gel | 30 |
| 3.7 Immobilisasi Enzim Alkohol Oksidase Dan Indikator Metil Merah | 30 |
| 3.8 Perangkaian Lab Dalam Kepingan | 31 |
| 3.9 Optimasi Parameter Biosensor Formalin | 32 |
| 3.9.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum | 33 |
| 3.9.2 Penentuan Waktu Respon Membran | 33 |
| 3.9.3 Penentuan Waktu Alir | 33 |
| 3.9.4 Penentuan Laju Alir | 33 |
| 3.10 Karakterisasi Biosensor Formalin | 34 |
| 3.10.1 Daerah Linier (Linieritas) | 34 |
| 3.10.2 Penentuan Batas Deteksi Dan Batas Kuantitasi | 34 |
| 3.10.3 Penentuan Presisi (Keterulangan) | 35 |
| 3.10.4 Penentuan Selektifitas | 35 |
| 3.10.5 Penentuan Sensitifitas | 36 |
| 3.10.6 Kecermatan (Akurasi) | 36 |
| 3.11 Aplikasi Biosensor pada Sampel Nyata | 37 |
| 3.11.1 Preparasi Sampel | 37 |
| 3.11.2 Penentuan Kadar Formalin Dalam Sampel Makanan Menggunakan Biosensor | 37 |
| IV. Hasil Dan Pembahasan | 38 |
| 4.1 Immobilisasi Reagen Alkohol Oksidase Pada Sol Gel | 38 |

| | |
|--|----|
| 4.2 Optimasi Parameter Biosensor Formalin | 39 |
| 4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum | 39 |
| 4.2.2 Waktu Respon Membran | 40 |
| 4.2.3 Waktu Alir | 41 |
| 4.2.4 Laju Alir | 42 |
| 4.3 Karakterisasi Biosensor Formalin | 42 |
| 4.3.1 Daerah Linier (Linieritas) | 42 |
| 4.3.2 Batas Deteksi Dan Batas Kuantitasi | 48 |
| 4.3.3 Presisi (Keterulangan) | 49 |
| 4.3.4 Selektifitas | 50 |
| 4.3.5 Sensitifitas | 51 |
| 4.3.6 Akurasi (Kecermatan) | 52 |
| 4.4 Aplikasi Biosensor Formalin Pada Sampel Makanan (Ikan Asin) | 53 |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN | 54 |
| 5.1 Kesimpulan | 54 |
| 5.2 Saran | 56 |
| Daftar Pustaka | 57 |
| Lampiran | 60 |

DAFTAR TABEL

| | halaman |
|--|---------|
| 2.1 Beberapa indikator asam basa | 12 |
| 4.1 Hasil pengukuran presisi | 49 |
| 4.2 Data hasil penentuan selektifitas | 51 |
| 4.3 Persen perolehan kembali dari kurva kalibrasi terhadap sampel simulasi | 52 |
| 4.4 Hasil penetapan kadar formalin pada sampel nyata | 53 |



DAFTAR GAMBAR

| | halaman |
|---|---------|
| 2.1 Struktur formalin..... | 5 |
| 2.2 Konsep dasar sensor optik yang memanfaatkan sifat-sifat cahaya sebagai media pengukuran komponen kimia dan biologi..... | 8 |
| 2.3 Reaksi oksidasi antara formaldehid - enzim AOX | 11 |
| 2.4 Struktur Metil Merah | 12 |
| 2.5 Berbagai metode immobilisation dari reagen, R pada material pendukung | 14 |
| 2.6 Teknik immobilisasi reagen secara adsorpsi pada sensor kimia optik (optode)..... | 15 |
| 2.7 Proses immobilisasi reagen/indikator dengan teknik sol-gel..... | 17 |
| 2.8 Diagram skematis desain mikrochip dengan pompa EOF..... | 22 |
| 2.9 Daerah kerja (<i>dynamic range</i>) dari suatu sensor, yang dibatasi oleh LOQ dan LOL..... | 24 |
| 3.1 Diagram alir penelitian | 28 |
| 3.2 Rangkaian peralatan Lab Dalam Kepingan (LDK) | 31 |
| 3.3 Skema LDK..... | 32 |
| 3.4 Diagram alir prosedur preparasi sampel | 37 |
| 4.1 Kurva intensitas reaksi alkohol oksidase dengan formalin menggunakan dapar fosfat pH 7,5..... | 40 |
| 4.2 Grafik pengukuran intensitas terhadap waktu paparan standart formalin 8 ppm..... | 41 |
| 4.3 Profil pengukuran intensitas standar formalin pada konsentrasi 1 ppm sampai 15 ppm..... | 43 |
| 4.4 Grafik sinyal pengukuran intensitas puncak standar formalin 1 ppm sampai 15 ppm..... | 44 |
| 4.5 Profil pengukuran intensitas terhadap waktu pada linieritas secara dinamis kontinyu..... | 45 |

| | | |
|-----|--|----|
| 4.6 | Grafik sinyal pengukuran intensitas terhadap waktu pada konsentrasi standar formalin 1 ppm sampai 15 ppm secara dinamis kontinyu | 46 |
| 4.7 | Profil pengukuran intansitas terhadap waktu pada linieritas secara dinamis tercuci | 47 |
| 4.8 | Grafik sinyal pengukuran intensitas terhadap waktu pada linieritas secara dinamis tercuci | 47 |
| 4.9 | Profil spektra pada uji selektifitas | 50 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | halaman |
|---|---------|
| A Penentuan panjang gelombang maksimum | 60 |
| B Penentuan Waktu Respon | 61 |
| C Penentuan Linieritas | 62 |
| D Penentuan Batas Deteksi Dan Batas Kuantitasi | 65 |
| E Penentuan Presisi (keterulangan) | 66 |
| F Penentuan Selektifitas | 75 |
| G Penentuan Akurasi | 76 |
| H Penentuan kadar pada sampel nyata | 81 |
| I Warna membran sol-gel alkohol oksidase-metil merah dan sampel ikan Asin | 84 |
| J Sampel makanan ikan asin | 85 |
| K Bahan penelitian | 86 |