

STUDI IMMOBILISASI "CROSS-LINKING"
KATALASE HATI SAPI
PADA MEMBRAN NATA DE COCO
DENGAN ASAM 3-MERKAPTO PROPIONAT

SKRIPSI



Dijukan untuk Memenuhi Persyaratan Meraih Gelar Sarjana Sains
Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember



Angka
Terima
No. Buk
Pembelian
Tel. 20 NOV 2002
ldaw

S
Klas
574.192
WAT
5
C-1

Oleh

Jka Oktaviana Wati

NIM. 981810301016

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2002

MOTTO

Bila kita yakin bahwa sesuatu itu tak mungkin,
maka pikiran kita akan memberi bukti mengapa hal itu tidak mungkin.
Akan tetapi, bila kita percaya dan yakin bahwa sesuatu itu mungkin,
maka pikiran kita jualah yang akan menuntun kita untuk mendapatkannya.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Jika Allah membiarkan kita hidup tanpa hambatan
Kita mungkin lumpuh tak berdaya
Juga mungkin tidak sekuat seharusnya

Kita mohon kebijakan
Allah memberikan kita persoalan agar bisa diselesaikan

Kita mohon cinta
Allah memberi kita orang-orang untuk diberi dan ditolong

Memang
Kita tidak memperoleh semua yang kita inginkan
Tetapi mendapatkan semua yang kita butuhkan

PERSEMBAHAN

Terima kasih atas segala rahmat dan rezeki yang telah **Allah** berikan padaku. Segala puja dan cintaku hanya pada-Mu ya **Allah**, pembimbingku menuju shiraathal mustaqim.

Karya tulis ini kupersembahkan untuk bapak **Soemani** dan bu **Muryati** sebagai salah satu ungkapan terima kasihku atas didikan dan bimbingannya selama ini. "Hidup yang berharga adalah hidup yang dapat memberikan kehidupan kepada orang lain". Terima kasih masih memberiku kasih sayang yang tulus hingga umurku yang kedua puluh dua ini.

Untuk kedua adikku **Dwi** dan **Galuh**, terima kasih selalu membanggakanku. Jadilah kebanggaan bagiku juga. "Bersikaplah tenang menghadapi kemalangan, karena dari kemalangan, kita akan mendapatkan pengalaman berharga yang dapat menuntun kita kepada kesuksesan".

Untuk sahabat-sahabatku tempat berbagi rahasia **Diana**, **Tanti** dan **Kurnia**, terima kasih telah jadi saudaraku dan mau mendengar keluh-kesahku selama ini.

Buat teman-temanku sekota kelahiran yang keren dan tidak disangka punya banyak *fans* **Yanti**, **Neny**, **Dayat**, **Hendri**' dan **Jacky**' , persahabatan selalu !.

Khusus buat **Remy** terima kasih atas persahabatannya yang pertama kali saat baru menjadi mahasiswa kimia unej dan segala bantuannya (terutama beli bahan).

Buat **Ato**' terima kasih dulu sering menemaniku lembur penelitian sampai malam.

Buat teman-teman PMDKku, **Nafril**, **Heru**, **Nurul**, **Handoko**, **Uji** dan **Remy**, buktikan bahwa pmdk bukan berarti penerimaan mahasiswa atas dasar belas kasihan tapi atas dasar kemampuan.

Buat **semua temanku di Kimia'98**, terima kasih atas persahabatan dan pengertian yang kalian berikan padaku selama lebih dari 4 tahun ini. "Rasa hormat tidak selalu membawa kepada persahabatan, namun persahabatan tidak akan ada tanpa rasa hormat. Ini merupakan salah satu hal yang membuat persahabatan lebih dari sekedar rasa cinta". Khusus buat sobat-sobat dekatku selama ini, maafkan aku bila pernah tak sadari itu saat sedang jatuh cinta.

Buat kakangku dari Solo, **Mas Budi Santosa** yang masih aku ingat dan aku rindukan sampai sekarang, terima kasih telah menjadi kakak terbaik yang tidak pernah kupunyai sebelumnya. *"All my life, I pray for someone like you"*.

Buat kakak tingkatku yang pernah sangat dekat, sayang dan mengerti aku, **Mas Sugeng Hariyadi**, terima kasih telah tunjukkan bagaimana dunia nyata itu sebenarnya. "Nilai dari seseorang itu ditentukan dari keberaniannya dalam memikul tanggung jawab, mencintai hidup dan pekerjaannya".

Buat **Pak Bambang Kuswandi** yang *cool and funky*, terima kasih atas persahabatannya. Maaf bila perkataanku pernah menyakiti pak Bambang *"I don't meant that"*.

Buat **Lembaga Dakwah Kampus UNEJ dan Darun Najah** tempatku mencari ilmu mengenal **Allah**, terima kasih telah membantu dan mendukungku untuk menunaikan salah satu kewajiban ataupun beban (taklif) yang dulu terasa berat bagiku menjadi ringan dan indah. "Hal kecil membentuk kesempurnaan, namun kesempurnaan bukanlah hal yang kecil".

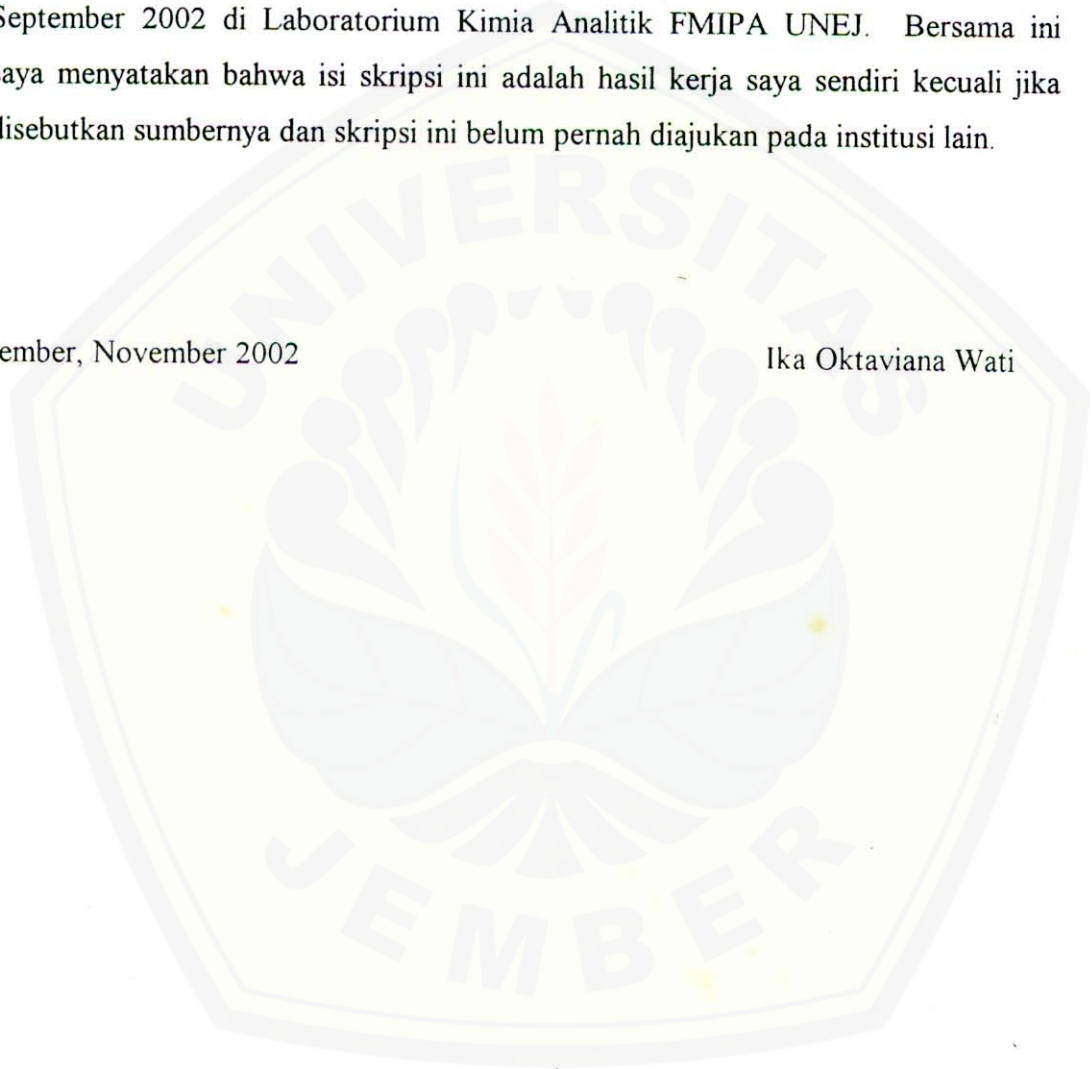
Ya **Allah**, terima kasih telah kau berikan kebahagiaan yang nikmat dan cobaan-cobaan yang mampu membuatku menjadi sosok yang lebih tegar. "**Allah** tidak memberati manusia, melainkan sekedar tenaganya....." (Al-Baqarah: 286)

DEKLARASI

Skripsi ini berisi hasil kerja/penelitian mulai bulan Mei 2002 sampai dengan bulan September 2002 di Laboratorium Kimia Analitik FMIPA UNEJ. Bersama ini saya menyatakan bahwa isi skripsi ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali jika disebutkan sumbernya dan skripsi ini belum pernah diajukan pada institusi lain.

Jember, November 2002

Ika Oktaviana Wati



ABSTRAK

Ika Oktaviana Wati (981810301016), 2002, Studi Immobilisasi Cross-Linking Katalase Hati Sapi pada Membran Nata de Coco dengan Asam 3-Merkapto Propionat, Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember, Dosen Pembimbing Utama: Drs. Zulfikar, PhD dan Dosen Pembimbing Anggota: Drs. Bambang Kuswandi, MSc, PhD.

Kata kunci: katalase, asam 3-merkapto propionat, nata de coco, immobilisasi

Penelitian mengenai modifikasi nata de coco dengan asam 3-merkapto propionat sebagai membran untuk immobilisasi katalase hati sapi secara cross-linking. Proses modifikasi diawali dengan mengaktivasi nata menjadi bentuk nata terhidrolisis menggunakan asam sulfat. Preparasi membran selulosa nata de coco dilakukan dengan pencucian nata menggunakan NaOH 0,5M dan penambahan etanol absolut. Perlakuan hidrolisis dengan penambahan asam sulfat 2M pada nata de coco dan pengadukan dilakukan selama 60 menit, dilanjutkan penambahan 3-MPA 5M selama 24 jam dalam wadah tertutup. Selanjutnya dilakukan immobilisasi enzim dengan menambahkan katalase hati sapi pada nata yang telah dimodifikasi. Antara filtrat dan nata pada setiap perlakuan dipisahkan menggunakan corong buchner. Nata hasil saringan (endapan) dibuat menjadi membran dengan cara menekan bahan pada tekanan 10,01 kPa selama 24 jam. Membran yang diperoleh dikarakterisasi dengan FTIR, spektrofotometer dan photomikroskop. Hasil karakterisasi FTIR membran nata yang dimodifikasi dengan 3-MPA menunjukkan bahwa telah terbentuk ester antara alkohol selulosa nata de coco dan karboksilat 3-MPA. Hasil karakterisasi FTIR membran nata-enzim menunjukkan bahwa terbentuk ikatan disulfida antara gugus thiol 3-MPA dan thiol enzim. Kecepatan sesaat rata-rata reaksi enzimatik enzim cair terhadap H_2O_2 lebih tinggi dibanding enzim terimmobilisasi. Hal ini menunjukkan bahwa afinitas enzim terimmobilisasi terhadap H_2O_2 menurun dibanding saat enzim dalam keadaan cair.

Skripsi ini diterima oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 19 NOV 2002

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua



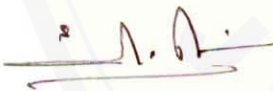
(Drs. Zulfikar, PhD)
NIP. 131 660 785

Sekretaris



(Drs. Bambang K, MSc, PhD)
NIP. 132 094 129

Dosen Penguji I



(Drs. Sudarko, PhD)
NIP. 132 005 050

Dosen penguji II




(Ir. Neran, MKes)
NIP. 131 521 900

Mengesahkan

Dekan Fakultas MIPA

Universitas Jember



(Ir. Sumadi, MS)
NIP 130 368 784

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena penulis telah diberi kekuatan dan kemampuan untuk menyelesaikan skripsi yang berjudul “Studi Immobilisasi Cross-Linking Katalase Hati Sapi pada Membran Nata de Coco dengan Asam 3-Merkapto Propionat” ini.

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada segenap pihak yang telah banyak membantu terselesainya skripsi ini:

1. Drs. Zulfikar, PhD selaku Dosen Pembimbing Utama yang dengan sabar telah membimbing penulis mulai dari penentuan topik sampai dengan bentuk karya tulis ini
2. Drs. Bambang Kuswandi, MSc, PhD selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah membimbing dan memberikan pandangan-pandangan yang belum pernah terpikir sebelumnya terhadap masalah akademik ataupun non-akademik
3. Ir. Neran, MKes atas bimbingan gratisnya, selayaknya sebagai dosen pembimbing skripsi penulis
4. Drs. Sudarko, PhD yang telah memberikan koreksi dengan sangat teliti untuk kesempurnaan skripsi ini
5. seluruh dosen Kimia FMIPA Unej atas semua ilmu yang telah diberikan
6. keluargaku atas doa dan dukungannya
7. rekan-rekan seperjuangan Kimia angkatan'98 atas segala bentuk dukungan dan bantuan yang diberikan.

Akhirnya penulis berharap skripsi ini dapat memberi kontribusi terhadap kemajuan ilmu pengetahuan khususnya bidang ilmu biokimia-analitik dan biosensor.

Jember, November 2002

Penulis,

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN MOTTO	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN DEKLARASI	v
ABSTRAK	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Bioaktif Molekul	3
2.1.1 Enzim	3
2.1.2 Katalase (Hidrogen Peroksida Oksidoreduktase)	4
a. Reaksi Katalisis oleh Katalase	4
b. Katalase dari Hati Sapi	5
2.2 Hidrogen Peroksida	7
2.3 Immobilisasi	9
2.3.1 Adsorpsi	9
2.3.2 Cross-linking	9
2.3.3 Entrapment	10

2.3.4	Microencapsulasi	10
2.3.5	Ikatan Kovalen	10
2.4	Membran	11
2.4.1	Membran Selulosa Bakteri (Bacterial Cellulose) Nata de Coco ..	11
	a. Karakteristik Selulosa	11
	b. Struktur Membran Selulosa	12
2.5	Teknik Karakterisasi dan Pengujian Enzim	13
2.5.1	Spektrofotometri Ultraviolet-Visible	13
2.5.2	Spektrofotometri Infra Red.....	14
III. METODE PENELITIAN		15
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.2	Definisi Operasional	15
3.3	Desain Penelitian	15
3.4.1	Bahan dan Alat Penelitian	15
3.4.2	Eksperimen	16
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		18
4.1	Membran Bioselulosa Nata de Coco	18
4.1.1	Karakteristik FTIR Membran Nata de Coco Murni	19
4.1.2	Karakteristik Spektrofotometri Membran Nata de Coco Murni ..	20
4.1.3	Karakteristik Fotomikroskop Membran Nata de Coco Murni	21
4.2	Hidrolisis Nata de Coco	22
4.2.1	Karakteristik FTIR Membran Nata Terhidrolisis	22
4.2.2	Karakteristik Spektrofotometri Membran Nata Terhidrolisis	24
4.2.3	Karakteristik Fotomikroskop Membran Nata Terhidrolisis	25
4.3	Modifikasi Membran Selulosa	26
4.3.1	Karakteristik FTIR Membran Nata yang dimodifikasi dengan 3-MPA	27
4.3.2	Karakteristik Spektrofotometri Membran Nata yang dimodifikasi dengan 3-MPA	28

4.3.3 Karakteristik Fotomikroskop Membran Nata yang dimodifikasi dengan 3-MPA	29
4.4 Immobilisasi Enzim	30
4.4.1 Karakteristik FTIR Membran Nata-Enzim	30
4.4.2 Karakteristik Spektrofotometri Membran Nata-Enzim	31
4.4.3 Karakteristik Fotomikroskop Membran Nata-Enzim	32
4.5 Karakterisasi Enzim Cair dan Enzim Terimmobilisasi	33
4.5.1 Karakteristik FTIR Enzim	33
4.5.2 Penentuan Kecepatan Sesaat Reaksi Enzimatik Katalase terhadap H ₂ O ₂	34
V. KESIMPULAN DAN SARAN	38
DAFTAR PUSTAKA	40
DAFTAR LAMPIRAN	43
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Signal FTIR Membran Nata Terhidrolisis

Tabel 2. Karakteristik Katalase Hati Sapi Hasil Pengenceran 1000 kali

Tabel 3. Data Kecepatan Sesaat Katalase terhadap H_2O_2



DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1. Molekul H_2O_2 Tidak Memiliki Pusat Simetri
- Gambar 2. Reaksi Katalitik Hidrogen Peroksida oleh Katalase
- Gambar 3. Struktur (a) heme b (b) heme d
- Gambar 4. Koordinasi Heme Besi: Heksakoordinat (a) Bilangan Oksidasi/Spin $Fe=Fe^{III}$ ($S=1/2$) (b) Bilangan Oksidasi/Spin $Fe=Fe^{IV}$ ($S=1$)
- Gambar 5. Perwakilan Pita Kompleks Katalase dengan NADPH
- Gambar 6. Struktur Selulosa
- Gambar 7. Scanning Electron Micrograph dari Bacterial Cellulose
- Gambar 8. Teknik Penentuan Kecepatan Sesaat Reaksi Enzimatik
- Gambar 9. Spektra FTIR Membran Nata de Coco
- Gambar 10. Spektra Spektrofotometri Membran Nata de Coco
- Gambar 11. Photomikrograf Membran Nata de Coco Murni
- Gambar 12. Spektra Spektrofotometri Membran Nata de Coco Terhidrolisis
- Gambar 13. Photomikrograf Membran Nata de Coco Terhidrolisis
- Gambar 14. Spektra FTIR Membran Nata yang dimodifikasi dengan 3-MPA
- Gambar 15. Spektra Spektrofotometri Membran Nata yang dimodifikasi 3-MPA
- Gambar 16. Photomikrograf Membran Nata yang dimodifikasi dengan 3-MPA
- Gambar 17. Spektra FTIR Membran Nata-Enzim
- Gambar 18. Spektra Spektrofotometri Membran Nata-Enzim
- Gambar 19. Photomikrograf Membran Nata-Enzim
- Gambar 20. Spektra FTIR Enzim Katalase Hati Sapi
- Gambar 21. Spektra Reaksi Enzimatik Katalase dan H_2O_2
- Gambar 22. Kurva Kecepatan Sesaat Reaksi Enzimatik Enzim Cair dan Enzim Terimmobilisasi terhadap H_2O_2



1.1 Latar Belakang

Reaksi biokimia dalam tubuh menekankan pada fakta bahwa produk enzimatik yang dapat terdeteksi merupakan koreaktan predominan antara lain proton, H_2O_2 , NADH, mediator oksidasi-reduksi, O_2 , CO_2 dan NH_3 (Cunningham, 1998). Hidrogen peroksida sebagai salah satu produk reaksi enzimatik dapat mewakili analisa konsentrasi senyawa yang menghasilkannya, misal oksidasi enzimatik asam urat oleh *uricase*.

Atas dasar hal tersebut, alat dan metode deteksi klinis berbasis hasil reaksi enzimatik berupa hidrogen peroksida semakin banyak dikembangkan (Mulchandani *et al.*, 1995; Daly *et al.*, 1999; Zhou *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2000). Peralatan yang menggabungkan elemen sensor bioreagen secara khusus pada atau diintegrasikan dalam transduser ini disebut *biosensor*. Signal yang dihasilkan oleh transduser akan sebanding dengan konsentrasi analit.

Harga enzim yang tinggi adalah faktor yang membatasi kegunaannya untuk mendeteksi hidrogen peroksida. Immobilisasi enzim pada pendukung padat, membuat enzim dapat digunakan kembali sehingga mampu mengurangi biaya analisa. Teknik immobilisasi dalam biosensor antara lain adsorpsi, entrapment, microencapsulasi, cross-linking dan ikatan kovalen. Teknik immobilisasi yang sering digunakan adalah adsorpsi dan cross-linking. Adsorpsi umum digunakan karena kecepatan dan kemudahannya dalam immobilisasi (Hall, 1990). Glutaraldehid sebagai agen cross-linking merupakan metode favorit untuk menghasilkan matriks gel dimana spesies reseptor ditahan secara fisika (Albareda-Sirvent *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 1998).

Peroksidase analog dengan katalase telah diimmobilisasi pada berbagai pendukung seperti bubuk grafit, membran polycarbonate, film polymer redox, sepharose, film polyanilin, membran polyamide, solgel, gelas berpori, dan selulosa (Bhargava *et al.*, 1999).

Berdasarkan penelitian biosensor hidrogen peroksida sebelumnya (Mulchandani *et al.*, 1995; Daly *et al.*, 1999; Zhou *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2000) ada beberapa hal yang kurang mendapatkan perhatian seperti teknik immobilisasi enzim melalui pembentukan cross-linking dengan penggunaan membran selulosa dari nata de coco sebagai matriks pendukung.

Mengacu pada hal tersebut, maka penelitian ini difokuskan untuk merancang suatu teknik immobilisasi katalase pada membran selulosa nata de coco yang dimodifikasi dengan asam 3-merkaptopropionat sebagai bagian dari biosensor untuk hidrogen peroksida.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

apakah katalase hati sapi dapat diimmobilisasi pada membran nata de coco melalui agen cross-linking asam 3-merkaptopropionat ?

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk :

- mengetahui karakteristik spektra FTIR ester pada membran nata de coco yang dimodifikasi dengan asam 3-merkaptopropionat
- mengetahui karakteristik spektra FTIR disulfida antara katalase hati sapi dan membran nata de coco yang telah dimodifikasi dengan asam 3-merkaptopropionat
- mengetahui karakteristik spektra uv-vis enzim dan membran saat sebelum dan setelah immobilisasi
- membandingkan kecepatan katalisis enzim saat sebelum dan setelah immobilisasi

Penelitian ini diharapkan memiliki manfaat sebagai berikut :

- mendapatkan suatu teknik immobilisasi baru untuk enzim katalase pada membran nata de coco melalui pembentukan cross-linking
- menambah khasanah ilmu pengetahuan dan teknologi dalam bidang biosensor.

II. TINJAUAN PUSTAKA



2.1 Bioaktif Molekul

Bioaktif molekul dalam pengertian biosensor merupakan senyawa biologi yang sangat selektif dan umumnya diperangkap dalam membran yang berkontak langsung dengan detektor. Bioaktif molekul yang dipergunakan dapat digolongkan kedalam empat group yang meliputi *enzim*, *antibody*, *asam nukleat* dan *reseptor* (Eggins, 1996).

2.1.1 Enzim

Enzim memiliki kemampuan katalitik luar biasa yang umumnya jauh lebih besar dari katalisator sintetik. Spesifisitas enzim sangat tinggi terhadap substratnya, enzim mempercepat reaksi kimiawi spesifik dengan cara menurunkan energi aktivasi reaksi. Molekul enzim umumnya berfungsi didalam larutan pada keadaan suhu dan pH normal.

Kejenuhan suatu enzim dalam mengkatalisis substrat ditunjukkan dengan adanya kecepatan maksimum (V_{maks}) (Lehninger, 1997). Kecepatan maksimum merupakan kecepatan yang dibutuhkan agar semua enzim E_t berada dalam bentuk kompleks enzim-substrat ES . Pemikiran ini diperluas menjadi suatu teori umum kerja enzim, terutama oleh Leonor Michaelis dan Maud Menten pada tahun 1913. Mereka mengemukakan bahwa enzim pertama-tama bergabung dengan substratnya dalam reaksi dapat balik, membentuk kompleks enzim-substrat. Reaksi ini berlangsung relatif cepat.

Mekanisme dasar katalisis enzim :



dimana S adalah substrat, E enzim dan P adalah produk. Kompleks ES lalu terurai dalam reaksi kedua, yang lebih lambat, menghasilkan produk reaksi P dan enzim bebas E .

2.1.2 Katalase (hidrogen peroksida: hidrogen peroksida oksidoreduktase;

EC 1.11.1.6)

Katalase memiliki berat molekul 247.500 (Zubay, 1989; White, 1978) – 250.000 (White, 1978), $K_M (M) = 2,5 \cdot 10^{-2}$ (Voet and Voet, 1995), konstanta difusi (D) = $4,1 \cdot 10^7$, konstanta sedimentasi (s) = 11,3, pI = 5,6 (Zubay, 1989), dan pH optimum 7,0 (Harrow and Mazur, 1962).

Aktivitas katalase muncul pada hampir semua sel dan organ hewan; hati, eritrosit dan ginjal adalah sumber terbesar. Aktivitas ini muncul pada tumbuhan dan semua mikroorganisme selain yang harus anaerob (White, 1978). Katalase berada hampir di semua peroksisom sel aerobik, bertindak sebagai pelindung sel dari pengaruh racun hidrogen peroksida dengan mengkatalisa dekomposisinya menjadi oksigen molekuler dan air tanpa menghasilkan radikal bebas (Boon *et al.*, 2001).

a. Reaksi katalisis oleh katalase

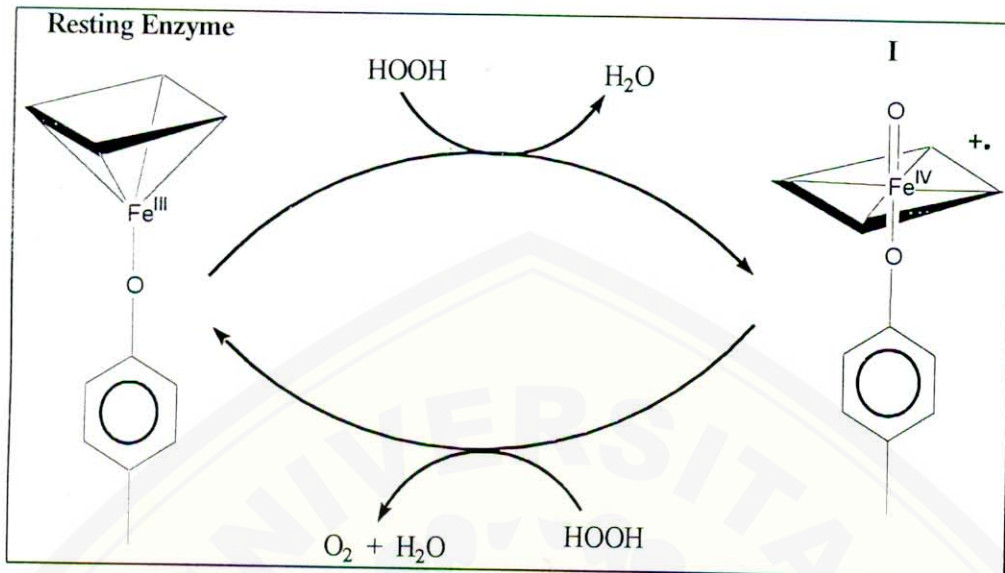
Katalase adalah enzim yang mengandung heme dan mengkatalisa reaksi:



dimana R adalah hidrogen atau gugus alkil atau asil dan HQOH adalah donor dua elektron. Katalase dapat memanfaatkan kedua molekul hidrogen peroksida (H_2O_2) sebagai akseptor elektron dan donor elektron (aktivitas 'katalitik') menghasilkan molekul oksigen (O_2) dan air dalam reaksi:



Kimiawi katalisis katalase belum diketahui secara pasti, namun mekanisme yang mirip dengan peroksidase sitokrom c, telah dibuat (Boon *et al.*, 2001). Siklus reaksi katalase dimulai dengan keadaan ferri (Fe^{III}) spin tinggi yang bereaksi dengan molekul peroksida untuk membentuk senyawa intermediet (I), radikal kation porphyrin yang mengandung Fe^{IV} . Selanjutnya, oksidasi satu donor elektron mengembalikan senyawa I menjadi keadaan awal (*native resting state*). Reaksi tersebut dapat diamati dalam gambar 1.

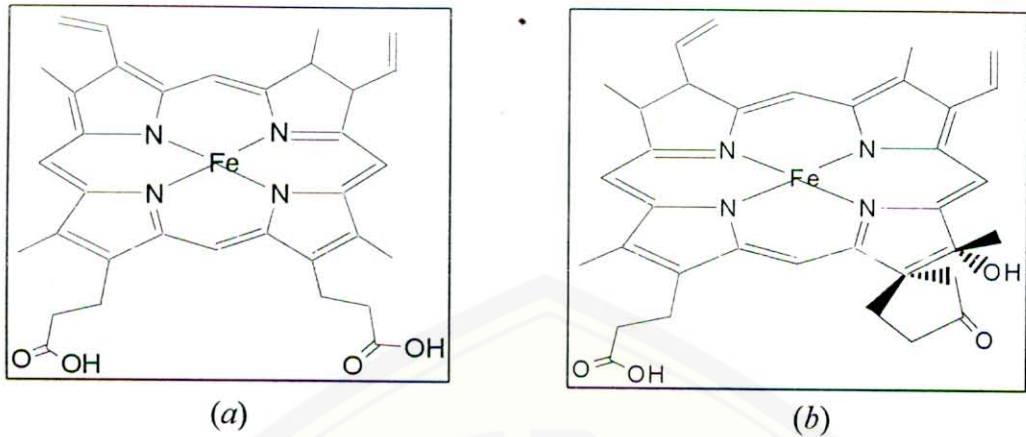


Gambar 1. Reaksi Katalitik Hidrogen Peroksida oleh Katalase

Peroksida memasuki ruang heme, dirintangi secara sterik dan harus berinteraksi dengan His^{74} (asam amino ke 74: histidin) dan Asn^{147} (asam amino ke 147: Asparagin). Dalam posisi inilah tingkat katalisis pertama terjadi. Transfer proton dari satu oksigen peroksida ke yang lainnya, lewat His^{74} , memperpanjang dan mempolarisasi ikatan $\text{O}-\text{O}$, yang akhirnya putus secara heterolitik karena oksigen peroksida terkoordinasi ke pusat besi. Koordinasi ini memindahkan air dan membentuk $\text{Fe}(\text{IV})=\text{O}$ dan radikal heme. Radikal secara cepat terdegradasi dalam transfer elektron lain untuk menghilangkan elektron radikal, meninggalkan cincin heme yang tak berubah. Selama tingkat kedua, dalam dua reaksi transfer elektron yang mirip, $\text{Fe}(\text{IV})=\text{O}$ bereaksi dengan hidrogen peroksida kedua menghasilkan $\text{Fe}(\text{III})-\text{E}$ awal, air dan satu mol molekul oksigen (Boon *et al.*, 2001).

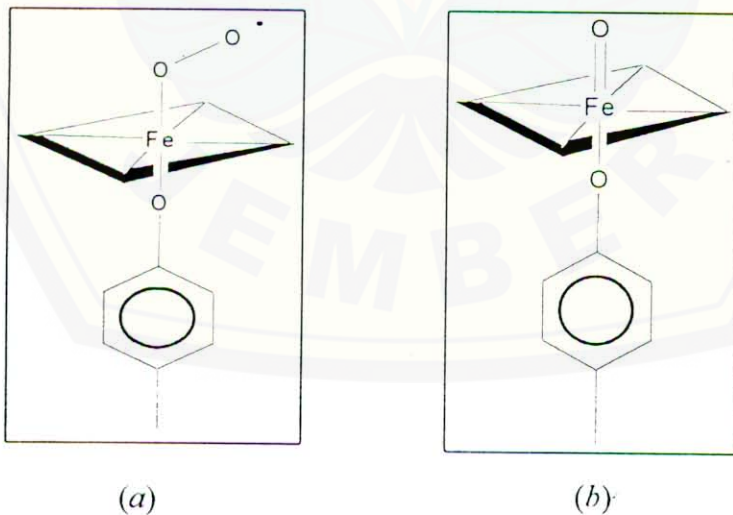
b. Katalase dari hati sapi

Katalase hati memiliki berat molekul 248.000 (White, 1978) – 250.000 (Kiseler *et al.*, 1967). Katalase hati sapi dan beberapa katalase dari sumber lain umumnya memiliki heme *b* sebagai gugus prostetikanya, namun katalase sejumlah jamur dan bakteri mengandung heme tipe klorin atau heme *d* (lihat gambar 2).



Gambar 2. Struktur (a) Heme b (b) Heme d

Seperti terlihat pada gambar 3, dalam semua jenis katalase ligan kelima (proksimal) heme besi adalah residu tirosin; residu histidin yang diperlukan untuk katalisis ditempatkan pada sisi distal heme (<http://bmbgsi11.leeds.ac.uk/promise/1CAF.html>). Sisi rantai fenolik dari Tyr³⁵⁷ berlaku sebagai ligan besi heme kelima, 4 yang lainnya berikatan dengan nitrogen dari cincin protoporphyrin heme.



Gambar 3. Koordinasi Heme Besi: Heksakoordinat (a) Bilangan oksidasi/spin Fe = Fe^{III} (S=1/2) (b) Bilangan oksidasi/spin Fe = Fe^{IV} (S=1)

pH optimum katalase hati sapi kira-kira 7,0 (Maehly and Chance, 1954) dan titik isoelektriknya 5,4 (Samejima *et al.*, 1962). Monomer katalase hati sapi terdiri dari rantai polipeptida 506 asam amino ditambah satu gugus heme dan satu molekul NADP (lihat gambar 4). NADP ini berlaku sebagai pelindung enzim dari oksidasi substrat H_2O_2 . Gugus residu yang menyilang ikatan *barrel* untuk berinteraksi dengan NADP meliputi Ser²⁰⁰, Arg²⁰², Asp²¹², Lys²³⁶, His³⁰⁴, Val³⁰¹, Trp³⁰², Tyr²¹⁴, His²³⁴.



Gambar 4. Perwakilan Pita Kompleks Katalase dengan NADPH. Daerah β -Barrel = hijau; Semua Daerah α = sian (<http://bmbgsi11.leeds.ac.uk/promise/ICAF.html>)

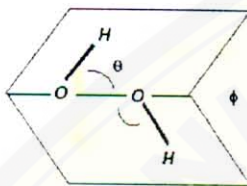
Phe¹⁶⁰ dihubungkan paralel ke salah satu cincin pirol heme dan Val⁷³ membuat kontak hidrofobik dengan cincin pirol lain. His⁷⁴ juga paralel pada heme, dengan sudut ikatan secara normal hanya untuk residu glisin. Konformasi ini distabilkan oleh interaksi dengan Arg¹¹¹ dan Thr¹¹⁴ yang kemungkinan berhubungan langsung dengan aktivitas enzim (Boon, *et al.*, 2001).

2.2 Hidrogen peroksida

H_2O_2 merupakan metabolit alami dari beberapa organisme, yang terdekomposisi menjadi oksigen dan air. Singkatnya, H_2O_2 tak memiliki masalah pengeluaran gas ataupun residu kimia yang berbahaya bila bergabung dengan oksidan kimia lainnya (www.H2O2.com).

Dekomposisi hidrogen peroksida membebaskan oksigen dan panas. Dalam larutan encer, kalor yang dibentuk dengan cepat diadsorb oleh air. H_2O_2 termasuk salah satu oksidator kuat yang terkenal, lebih kuat dari pada klorin, klorin dioksida dan potassium permanganat.

Hidrogen peroksida bening, tak berwarna, berpenampakan seperti air, dan memiliki karakteristik bau yang tajam. Zat ini tak dapat menyala, larut dalam air dalam semua perbandingan dan dijual dalam bentuk larutan.



Gambar 5. Molekul H_2O_2 Tidak Memiliki Pusat Simetri

Sudut ikatan:	θ (sudut H-O-O): $95^\circ \pm 2^\circ$ ϕ (sudut dihedral): $120^\circ \pm 3^\circ$
Panjang ikatan:	O-H: 0.097 ± 0.001 nm O-O: 0.149 ± 0.001 nm
Kekuatan ikatan:	HO-OH: 51 ± 1 kkal/mol H-OOH: 90 ± 2 kkal/mol
Momen dipol:	$\mu = 2,2$ debyes (www.H ₂ O ₂ .com)

Kecepatan dekomposisi hidrogen peroksida meningkat pada suasana basa, kontak dengan material tertentu dan peningkatan temperatur. Laju dekomposisi meningkat kira-kira 2,2 kali tiap peningkatan $10^\circ C$ dalam range $20^\circ C$ hingga $100^\circ C$, atau 1,5 kali tiap $10^\circ F$ dari $68^\circ F$ hingga $212^\circ F$.

H_2O_2 adalah elektrolit yang lemah dengan konduktivitas listrik larutannya mirip dengan air. Nilai maksimum konstanta dielektrik terjadi pada H_2O_2 55% pada $0^\circ C$ (www.H₂O₂.com).

2.3 Immobilisasi

Tingginya harga enzim yang digunakan dalam biosensor adalah faktor yang membatasi kegunaan meluas dari metode enzimatik ini untuk tujuan rutin. Immobilisasi enzim pada pendukung yang tak larut membuat enzim dapat digunakan kembali sehingga mampu mengurangi biaya analisa. Syarat memerangkap bioaktif molekul ini adalah bioaktif molekul harus tetap terjaga aktivitasnya bila terperangkap dalam matriks yang berhubungan dengan transduser.

2.3.1 Adsorpsi

Adsorpsi fisik berdasar pada gaya elektrostatik antara enzim dengan permukaan pendukung padat adalah metode yang paling sering digunakan karena kemudahannya. Kekurangannya adalah gaya ikatan antara enzim dan pendukung tak dapat dengan mudah terkontrol

2.3.2 Metode Cross-linking

Menurut Eggins (1996) dalam metode ini bioaktif molekul diikat secara kimia dengan membran atau bahan pendukung padat lainnya. Senyawa dengan dua gugus fungsi (*bifunctional reagent*) dapat mengikat sisi bioaktif molekul dan membran atau bahan pendukung lainnya

Senyawa yang umumnya digunakan sebagai agen cross-linking adalah glutaraldehida, heksametilen diisosianat dan 1,5-dinitro-2,4-difluorobenzena (Eggins, 1996). Asam 3-merkaptopropionat (3-merkaptopropionat, 3-MPA) merupakan salah satu agen cross-linking yang belum umum digunakan (www.Pierce.com).

MPA termasuk agen cross-linking karena dapat memautkan silang protein satu dengan protein lainnya. MPA merupakan agen bifungsional yaitu memiliki dua gugus fungsi. Namun gugus fungsi ini juga dapat digunakan untuk mengikatkan biomaterial ke pendukung padat.

3-MPA memiliki gugus thiol (-SH) dan karboksilat (-COOH) disisi lainnya. Struktur asam 3-merkaptopropionat adalah: $\text{HS} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$. Melalui gugus karboksilatnya, 3-MPA dapat beresterifikasi dengan alkohol (-OH) dari selulosa (Fessenden dan Fessenden, 1999). Reaksi esterifikasi ini merupakan cara pengikatan agen pada pendukung padatan. Gugus -SHnya akan mengalami oksidasi membentuk ikatan disulfida (S-S) dengan enzim yang mengandung gugus sulfur yaitu residu asam amino sistein (Eggins, 1996).

2.3.3 Entrapment

Dalam teknik ini bioaktif molekul diperangkap dalam sela-sela pori membran sehingga proses preparasi membutuhkan teknik yang sangat spesifik. Beberapa teknik ini telah dikembangkan dengan cara mencampurkan bioaktif material dengan monomer yang selanjutnya dipolimerisasi.

2.3.4 Microencapsulasi

Bioaktif material diperangkap dalam membran inert yang selanjutnya dilekatkan pada transduser. Membran dapat melindungi bioaktif molekul sehingga teknik ini menghasilkan performa biosensor yang cukup baik dan secara tak langsung membran sendiri memiliki pori-pori dengan ukuran yang relatif kecil sehingga hanya dapat dilewati oleh molekul yang berukuran kecil, gas dan ion.

2.3.5 Ikatan Kovalen

Menurut Eggins (1996), ikatan kovalen dirancang dengan memberikan gugus fungsi terhadap membran ataupun bahan pendukung lainnya, sehingga memungkinkan terjadinya ikatan antara bioaktif molekul dengan gugus fungsi yang ditambahkan. Bagian dari bioaktif molekul yang akan diikatkan bukan merupakan sisi aktif (katalisis). Metode ini menggunakan gugus-gugus nukleofilik untuk kopling kimia seperti NH_3 , COOH , OH , $\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$, SH dan imidazole.

2.4 Membran

Pengertian membran secara umum adalah pemisah selektif antara dua fase (Mulder, 1996). Membran dalam pengertian biosensor adalah suatu lapisan berpori, biasanya berupa polimer yang digunakan sebagai matriks atau pendukung immobilisasi. Matriks immobilisasi harus menunjukkan karakteristik penyimpanan yang memadai, khususnya dalam stabilisasi molekul terimmobilisasinya (Hall, 1990).

2.4.1 Membran Selulosa Bakteri (*Bacterial Cellulose*) Nata de Coco

Karena sifat mekanik yang ditemukan 15 tahun yang lalu sangat luar biasa, ketertarikan mengenai bacterial cellulose semakin berkembang seiring dengan kegunaannya sebagai bahan baku dalam pembuatan nata de coco, makanan asli Asia Timur Tengah (Iguchi *et al.*, 2000).

a. Karakteristik Selulosa

Apabila selulosa awalnya diartikan oleh Anselme Payen sebagai substansi yang merupakan konstituen mayor dari dinding sel tumbuhan tingkat tinggi (Nevell and Zeronian dalam Iguchi *et al.*, 2000), maka bacterial cellulose adalah produk luar terakhir dari bakteri vinegar yang digambarkan oleh Louis Pasteur sebagai “sejenis kulit yang basah, mengembang, seperti gel dengan permukaan yang licin” (Ring dalam Iguchi *et al.*, 2000). Isolasi sistem enzimnya dari bakteri, *Acetobacter xylinum*, telah dilaporkan oleh Iguchi *et al.* (2000) untuk menyempurnakan sintesis ekstraselluler selulosa. Meskipun bentuk padat dalam bahan seperti gel lebih kecil dari 1%, selulosa murni hampir tidak mengandung lignin dan substansi lain.

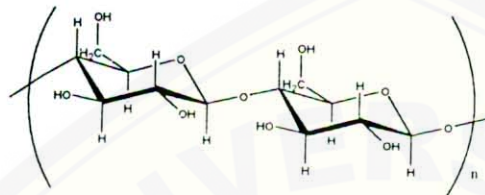
Disamping higroskopisnya, selulosa ternyata tidak larut dalam air, namun selulosa akan larut dalam larutan asam pekat. Selulosa mengalami hidrolisis dalam larutan asam pada suhu kamar, namun hidrolisis akan lambat pada suhu yang rendah (Kirk-Othmer, 1964).

Karena adanya sedikit kontaminan yang dicurigai mempengaruhi ikatan hydrogen dalam nata de coco, penambahan larutan oksidan dan basa dilakukan dengan hati-hati (Nishi *et al.* dalam Iguchi *et al.*, 2000). Dengan konsentrasi

NaClO dan NaOH sekitar 0,5% dan 5%, perubahan modulus Young adalah maksimal. Konsentrasi yang lebih tinggi dari itu akan menyebabkan selulosa rusak.

b. Struktur Membran Selulosa

Selulosa adalah polimer polidispers dengan berat molekul tinggi yang disusun rantai panjang unit *D*-glukosa, bergabung dengan ikatan glikosidik β -1,4.



Gambar 6. Struktur Selulosa

Rotasi optik dan kinetika hidrolisis asam menunjukkan bahwa paling sedikit 99,9% ikatan adalah konfigurasi β . Pembentukan variasi turunan selulosa membuktikan bahwa gugus hidroksil alkohol adalah bebas dan menjalankan reaksi substitusi. Analisa lebih jauh dari turunan selulosa menunjukkan bahwa dua jenis gugus hidroksil adalah sekunder dan satu primer (Kirk-Othmer, 1964).



Gambar 7. Scanning Electron Micrograph dari *Bacterial Cellulose* (Frants and Schiebold dalam Iguchi *et al.*, 2000).

Melalui difraksi sinar X dapat diamati bahwa bacterial cellulose secara kristalografi termasuk dalam selulosa I, sesuai dengan selulosa alami dari sayur-sayuran, yang mana dua unit selubiosa disusun paralel dalam satu unit sel, dan molekul selulosa cenderung memiliki orientasi planar spesifik dalam film yang

dikeringkan (Mark and Susich dalam Iguchi *et al.*, 2000). Sedangkan menggunakan mikroskop elektron, gel selulosa yang mengembang karena air, tampak terdiri dari kumpulan acak mikrofibril dengan diameter kurang dari 100Å.

2.5 Teknik karakterisasi dan pengujian enzim

Penentuan aktivitas enzim berdasar pada laju penggunaan substrat atau pembentukan produk pada kondisi terkontrol. Uji enzim juga meliputi struktur dan konformasi molekuler enzim. Beberapa teknik uji enzim antara lain menggunakan metode spektrofotometri uv-vis, spektrofluorimetri, infra red, difraksi sinar X dan electron spin resonance (Wilson and Goulding, 1986).

2.5.1 Spektrofotometri Ultraviolet-Visible

Spektrum senyawa yang mengabsorb ultra-violet ada pada daerah 200 hingga 400 nm, sedangkan yang berada pada daerah visible 400 hingga 700 nm. Spektra absorpsi pada kedua daerah ini terjadi karena adanya transisi elektron dari suatu molekul. Biasanya elektron terdelokalisasi dilibatkan seperti elektron ikatan π dari ikatan ganda karbon-karbon dan pasangan elektron menyendiri dari nitrogen dan oksigen. Karena panjang gelombang dari cahaya teradsorb ditentukan melalui reaksi yang terjadi, puncak absorpsi spesifik yang tercatat berhubungan dengan sub-struktur molekulernya. Dasar teknik spektrofotometri adalah hukum Lambert-Beer:

$$A = a b C \quad (1)$$

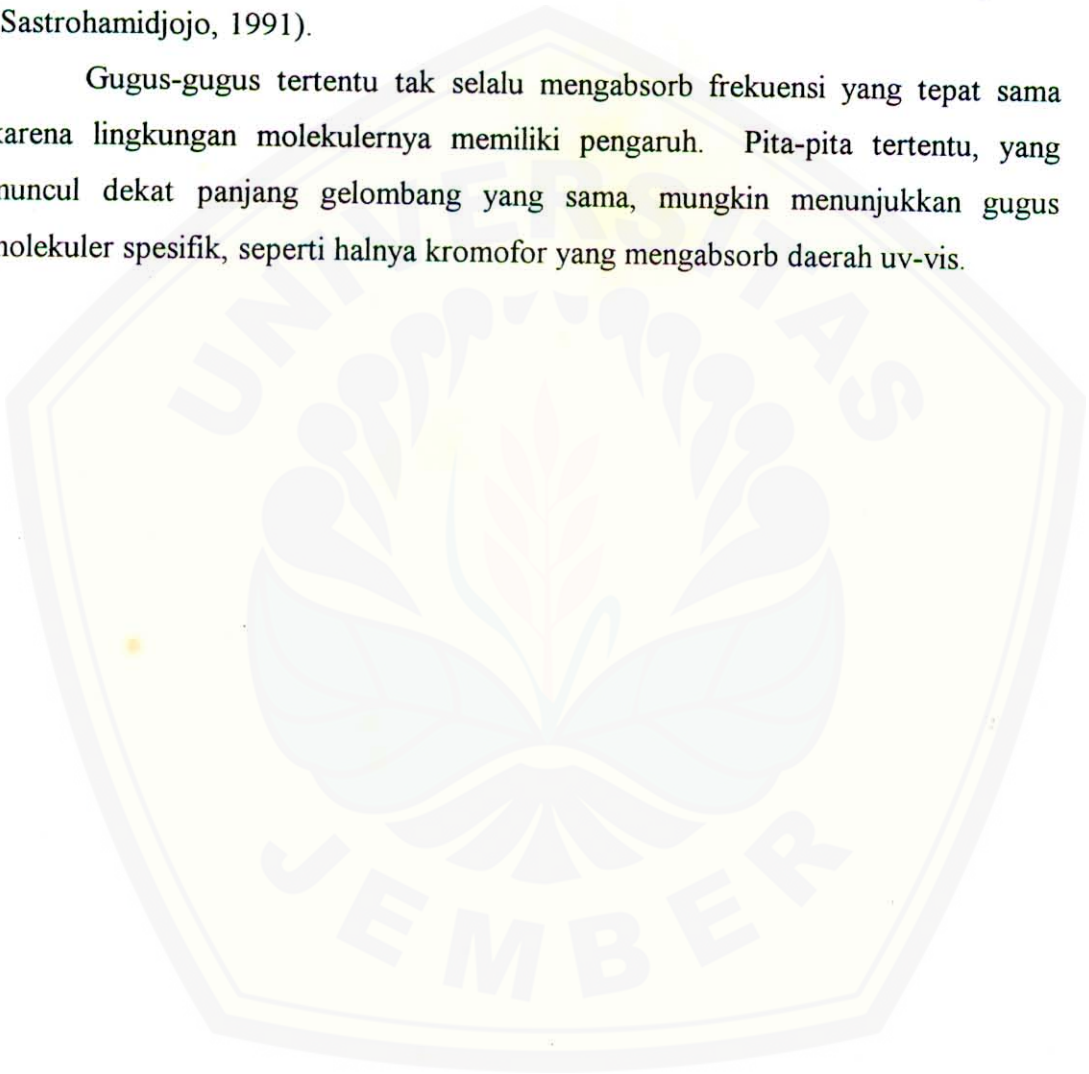
dengan A absorbans, a koefisien absorpsi molar, b lebar kuvet, C konsentrasi larutan.

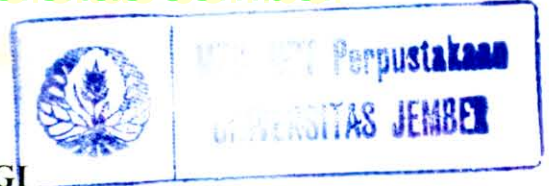
Spektra uv-vis digunakan untuk mengidentifikasi kelas senyawa dalam keadaan murni dan dalam preparat biologis, misal protein, asam nukleat, klorofil. Teknik ini digunakan untuk menunjukkan struktur kimia dan intermediet yang terjadi dalam sistem.

2.5.2 Spektrofotometri infra red

Vibrasi yang menyebabkan perubahan momen dipol dapat diamati dalam daerah infra merah. Infra merah yang digunakan dalam bidang kimia organik meliputi daerah $650 - 4000 \text{ cm}^{-1}$. Spektrofotometri infra red ini digunakan untuk studi detail struktur makromolekul biologis dalam lingkungan non-aqueous (Sastrohamidjojo, 1991).

Gugus-gugus tertentu tak selalu mengabsorb frekuensi yang tepat sama karena lingkungan molekulernya memiliki pengaruh. Pita-pita tertentu, yang muncul dekat panjang gelombang yang sama, mungkin menunjukkan gugus molekuler spesifik, seperti halnya kromofor yang mengabsorb daerah uv-vis.





III. METODOLOGI

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik, Biologi Molekuler, Mikro Biologi Universitas Jember dan LDB Universitas Airlangga.

3.2 Definisi Operasional

Enzim katalase diimmobilisasi pada membran selulosa nata de coco melalui 3-mercapto propionic acid (3-MPA). Faktor kuat yang mempengaruhi reaksi enzimatik H_2O_2 pada membran adalah proses difusi.

Parameter-parameter diamati :

- a. karakteristik infra red, photomikrograf dan uv-vis enzim, membran sebelum dan setelah modifikasi
- b. kecepatan sesaat reaksi enzimatik katalase terhadap H_2O_2 .

3.3 Desain Penelitian

3.3.1 Bahan dan Alat Penelitian

a. Bahan

Enzim katalase hati sapi (*bovine liver catalase*) EC 1.11.1.6 dengan aktivitas ~52.638 U/mg protein. 3-mercapto propionic acid, nata de coco, H_2O_2 , NaOH, H_2SO_4 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $KMnO_4$, etanol, aquades.

b. Alat

Spektrofotometer, FTIR, photomikroskop, mikrometer, pH meter, penyaring buchner, oven, beaker glass, labu ukur, pipet.

3.3.2 Eksperimen

a. Preparasi Bahan

1) Larutan standart H_2O_2

Larutan standart dengan range 0,02 – 1,0 M dibuat dari pengenceran H_2O_2 35% dan distandarisasi terlebih dahulu dengan $KMnO_4$ yang telah distandarisasi pula dengan natrium oksalat (Furniss, et al., 1989).

2) Larutan enzim

Larutan enzim 1000 kali pengenceran diperoleh dengan melarutkan 0,1 mL enzim katalase dengan buffer fosfat pH 7,0 hingga 100 mL.

3) Larutan buffer

Buffer fosfat pH 7,0 mengandung 30,5 mL K_2HPO_4 0,2M dan 19,5 mL KH_2PO_4 0,2M yang diencerkan menjadi 100 mL. Buffer disiapkan secara *fresh* setiap akan digunakan (Perrin and Dempsey, 1974).

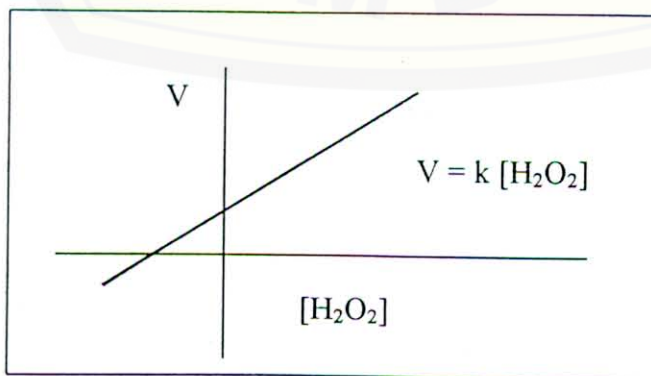
b. Karakterisasi enzim

Enzim dimasukkan dalam kuvet spektrofotometer yang diset pada panjang gelombang 280 nm (Beers and Sizer, 1952).

$$\text{mg protein/mL} = A_{280} \times 0,667$$

dengan A_{280} adalah absorbans pada panjang gelombang 280 nm.

Kecepatan sesaat reaksi enzimatik katalase dan H_2O_2 ditentukan dengan menggunakan data peningkatan absorbans pada 405 nm selama 5 menit pada kuvet yang berisi enzim dan H_2O_2 . Dari kurva kecepatan awal (V) lawan konsentrasi H_2O_2 ($[H_2O_2]$) akan diperoleh slope kurva (gambar 8).



Gambar 8. Teknik Penentuan Kecepatan Rata-Rata Reaksi Enzimatik.

d. Preparasi Bioselulosa Nata de Coco

Nata de coco dicuci menggunakan NaOH 0,5 M lalu dipanaskan. Nata de coco dicuci kembali dengan aquades hingga pH netral. Nata de coco lalu dijus menggunakan blender. Nata de coco jus ditambah dengan etanol.

e. Hidrolisis Nata de Coco

Jus ditimbang sebanyak 15 gram (basah) dan diletakkan dalam beaker glass. 20 mL H₂SO₄ 2M ditambahkan pada jus sambil diaduk selama 60 menit. Campuran diletakkan diatas corong buchner yang dilapisi kertas saring kemudian disaring.

f. Modifikasi Membran Selulosa

Nata de coco terhidrolisis ditambah 10 mL 3-MPA 5M dan diaduk selama 5 menit. Campuran jus didiamkan selama 24 jam pada tempat gelap lalu disaring.

g. Immobilisasi Enzim

Membran selulosa nata de coco yang telah dimodifikasi direaksikan dengan enzim katalase. Nata termodifikasi ditambah 10 mL enzim dan diaduk selama 1 menit. Jus didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar di tempat gelap. Jus yang telah didiamkan semalam tersebut diaduk dan disaring.

h. Karakterisasi Membran

Untuk karakterisasi, membran dicetak dengan cara dipress menggunakan kaca dan diberi beban 2 kg selama 24 jam, lalu dikeringkan.

Katalase, membran selulosa sebelum dan setelah dimodifikasi dengan 3-MPA serta katalase dikarakterisasi menggunakan FTIR dan spektrofotometer uv-vis.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Katalase hati sapi yang diimmobilisasi pada membran nata de coco melalui pembentukan cross-linking antara gugus thiol enzim dan thiol membran yang telah dimodifikasi dengan asam 3-merkaptopropionat memiliki karakteristik spektra sebagai berikut :

1. Karakteristik FTIR :

- a. IR membran nata setelah dimodifikasi dengan 3-MPA menghasilkan signal keberadaan ester yang menunjukkan bahwa esterifikasi antara alkohol selulosa dan karboksilat 3-MPA telah terjadi
- b. IR membran nata de coco setelah terdapat enzim terimmobilisasi menghasilkan signal adanya ikatan disulfida yang menunjukkan bahwa gugus thiol enzim dan thiol membran nata yang telah dimodifikasi dengan 3-MPA telah berikatan.

2. Karakteristik spektrofotometri membran nata murni dan nata dengan berbagai perlakuan memiliki serapan maksimum pada:

- a. nata murni : 380 dan 600 nm
- b. nata terhidrolisis : 420 dan 600 nm
- c. nata yang dimodifikasi dengan 3-MPA : 350, 380 dan 600 nm
- d. nata-enzim : 380 dan 600 nm

3. Kecepatan reaksi enzimatik sesaat katalase cair terhadap H_2O_2 lebih tinggi dibanding katalase terimmobilisasi. Hal ini sangat dipengaruhi oleh proses difusi H_2O_2 dalam membran nata yang memerlukan letak dan orientasi tertentu bagi substrat untuk mencapai sisi aktif enzim.



5.2 Saran

Immobilisasi enzim pada nata de coco yang dimodifikasi dengan 3-MPA memungkinkan teknik ini sebagai dasar desain sensor hidrogen peroksida. Berdasar pada hasil penelitian yang diperoleh, masih banyak aspek pendukung yang perlu dipelajari lebih lanjut. Dalam hal ini disarankan penggunaan karakterisasi lain yaitu oksidasi reduksi dengan cyclic voltametry dan proses oksidasi dengan oksigen meter.



DAFTAR PUSTAKA

- Albareda-Sirvent, M., A. Merkoci, S. Alegret. 2000. "Configuration used in the design of screen-printed enzymatic biosensors. A review". Dalam *Sensors and Act. B*. Vol. 69. p. 153-163.
- Beers, R.; I. Sizer. 1952. "A Spectrophotometric Method for Measuring the Breakdown of Hydrogen Peroxide by Catalase". Dalam *J. Biol. Chem.* Vol. 195. p: 133. ([http:// www.worthington.biochem.com](http://www.worthington.biochem.com)).
- Bhargava, A. K., H. Lal, C. S. Pundir. 1999. "Discrete analysis of serum uric acid with immobilized uricase and peroxidase". Dalam *J. Biochem. Biophys. Methods*. Vol. 39. p. 125-136.
- Boon, E. M., A. Downs, and D. Marcey. 2001. "Catalase: H₂O₂: H₂O₂ Oxidoreductase. © David Marcey: (<http://www.clunet.edu/BioDev/omm/catalase/frames/cattx>).
- Chen, J., U. Wollenberger, F. Lisdat, B. Ge, F. W. Scheller. 2000. "Superoxide sensor based on hemin modified electrode". Dalam *Sensors and Actuators B*. Vol. 70. p: 115-120.
- Conley, R. T. 1970. *Infrared Spectroscopy*. Allyn and Bacon, Inc.
- Cunningham, A. J. 1998. *Introduction to Bioanalytical Sensors*. John Willey and Sons.
- Daly, D. J., C. K. O'Sullivan, and G. G. Guilbault. 1999. "The use of polymers coupled with metallised electrodes to allow H₂O₂ detection in the presence of electrochemical interferences". Dalam *Talanta*. Vol. 49. No. 3. p: 667-678.
- Eggins, B. R. 1996. *Biosensors: an introduction*. John Wiley and Sons Ltd.
- Fessenden, R. J., J. S. Fessenden. 1999. *Kimia Organik*. Jilid 2. Terjemahan Pudjaatmaka, A. H. dari *Organic Chemistry* (1986). Jakarta: penerbit Erlangga.
- Furniss, B. S., A. J. Hannaford, P. W. G. Smith, A. R. Tatchell. 1989. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*. 5th edition. Longman Inc.
- Hall, E. A. H. 1990. "Biosensor". Dalam Kellner, R., J. M. Mermet, M. Otto, H. M. Widmer (Ed). *Analytical Chemistry*. 1st edition. Weinheim: Wiley-VCH.

Harrow, B., and A. Mazur. 1962. *Textbook of Biochemistry*. 8th edition. WB Saunders Company.

Holme, D. J., and H. Peck. 1998. *Analytical Biochemistry*. Third Edition. Addison Wesley Longman Limited.

<http://bmbg11.leeds.ac.uk/promise/ICAF.html>

Iguchi, M., S. Yamanaka, and A. Budhiono. 2000. "Review bacterial cellulose-a masterpiece of nature's arts". Dalam *Journal of materials science*. Vol. 35. p. 1-10.

Jacobs, A. 1997. *Understanding Organic Reaction Mechanism*. Cambridge University Press.

Kirk-Othmer. 1964. *Encyclopedia of chemical technology*. 6th edition. John Wiley and Sons Inc.

Kiseler *et al.* 1967. (<http://www.worthington.biochem.com>).

Lehninger, A. L. 1997. *Dasar-dasar biokimia*. Jilid 1. Terjemahan Maggy Thenawidjaja dari *Principles of biochemistry* (1982). Jakarta: Penerbit Erlangga.

Maehly, A., and Chance, B. 1954. *The Assay of Catalases and Peroxidases*. Dalam *Methods of Biochemical Analysis*, I, (Glick, D., ed.). NY, 357: Interscience Publishers. (<http://www.worthington.biochem.com>).

Mulchandani, A., C. L. Wang, and H. H. Weetall. 1995. "Amperometric detection of peroxides with poly(anilinomethylferrocene)-modified enzyme electrodes". Dalam *Anal. Chem.* Vol. 67. p: 94-100.

Mulder, M. 1996. *Basic Principles of Membrane Technology*. Kluwer Academic Publisher.

Omar, M. A. 1975. *Elementary Solid State Physics: Principles and Applications*. Addison-Wesley Publishing Company.

Perrin, D. D. and B. Dempsey. 1974. *Buffers for pH and Metal Ion Control*. Chapman and Hall: London.

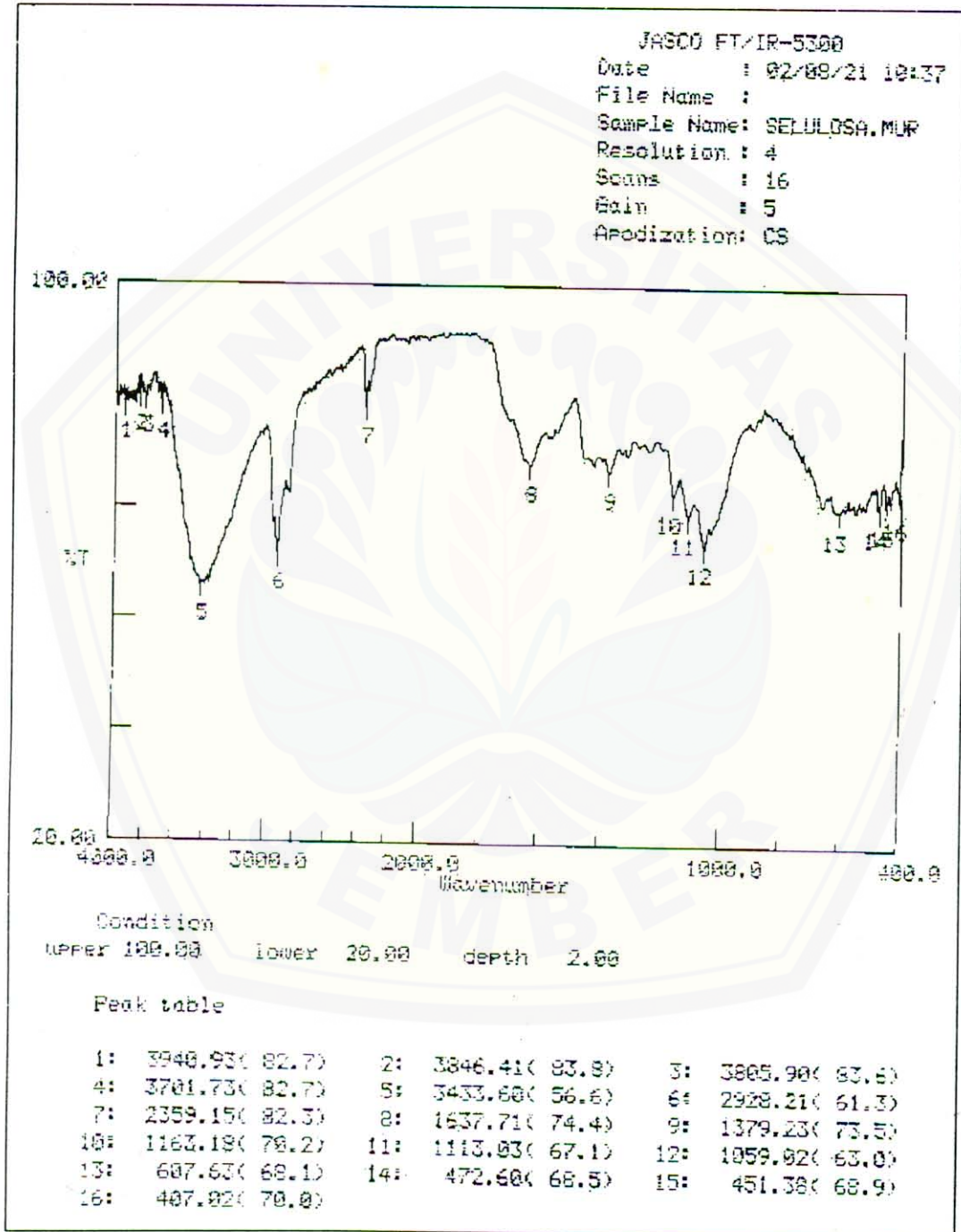
Piluharto, B. 2001. *Studi Awal Penggunaan Nata de Coco sebagai Membran Ultra Filtrasi*. Thesis ITB. Bandung.

- Samejima, T., M. Kamata, and K. Shibata. 1962. "Dissociation of Bovine Liver Catalase at Low pH". Dalam *J. Biochem. Japan*. Vol. 51. 181. (<http://www.worthington.biochem.com>).
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi*. Penerbit Liberty: Yogyakarta.
- Voet, O., and J. G. Voet. 1995. *Biochemistry*. 2nd edition. John Willey and Sons Inc.
- White, A., Handler, P., Smith, E. L., Hill, R. L., Lehman, I. R. 1978. *Principles of biochemistry*. McGraw-Hill.
- Wilson, K., K. H. Goulding. 1986. *A Biologist's Guide to Principles and Techniques of Practical Biochemistry*. Edward Arnold Publisher Ltd.
- [www. H₂O₂.com](http://www.H2O2.com)
- [www. Pierce. com](http://www.Pierce.com)
- Zhang, Y. Q., W. D. Shen, R. A. Gu, J. Zhu, R. Y. Xue. 1998. "Amperometric biosensor for uric acid based on uricase-immobilized silk fibroin membrane". Dalam *Anal. Chim. Acta*. Vol. 369. 1-2. p: 123-128.
- Zhou, G. J., G. Wang, J. J. Xu, H. Y. Chen. 2002. "Reagentless chemiluminescence biosensor for determination of hydrogen peroxide based on the immobilization of horseradish peroxidase on biocompatible chitosan membrane". Dalam *Spectrochimica Acta Part A : Mol & Biomol. Spectroscopy*. Vol. 81. 2-3. p: 334-339
- Zubay, G. 1989. *Biochemistry*. 2nd edition. MacMillan Publishing Company.
- Zulfikar. 1995. *Novel enzim electrodes for hydrogen peroxide, ethanol, glucose based on a tungsten coated wire, graphite and perovskite-epoxy transducers*. Disertasi. New South Wales: University of New South Wales.
- Zulfikar. 2001. "Surface Study of Pure and Hydrolized Nata de Coco Membranes". Dalam *Jurnal Agribisnis*. Vol. V. No. 2. p. 18-26.

DAFTAR LAMPIRAN

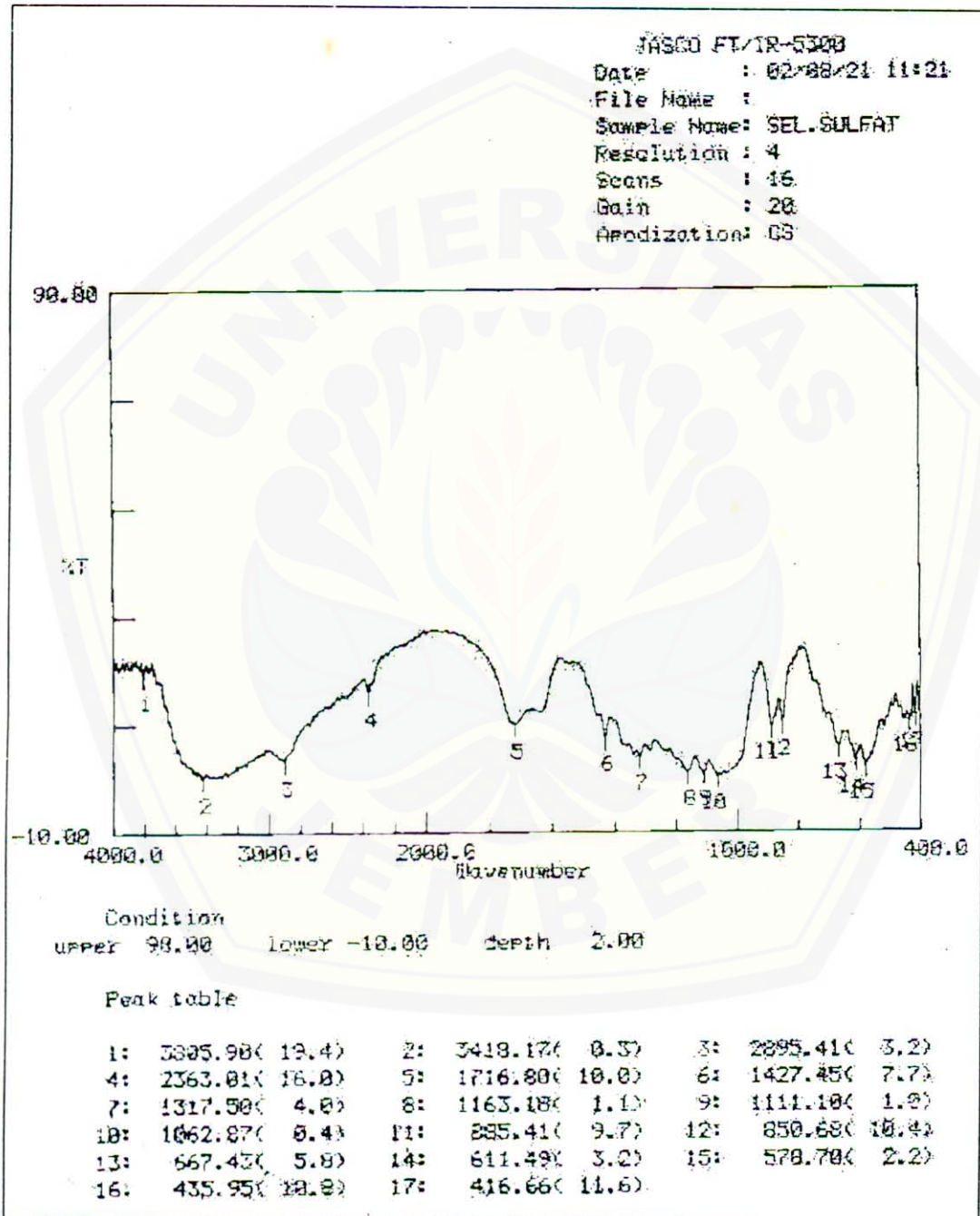
- Lampiran 1. Spektra FTIR Membran Nata Murni
- Lampiran 2. Spektra FTIR Nata Terhidrolisis
- Lampiran 3. Spektra FTIR Nata yang dimodifikasi dengan Asam 3-Merkapto
Propionat
- Lampiran 4. Spektra FTIR Nata-Enzim
- Lampiran 5. Spektra FTIR Enzim Katalase Hati Sapi
- Lampiran 6. Data Spektra Membran Nata Murni
- Lampiran 7. Data Spektra Membran Nata Terhidrolisis
- Lampiran 8. Data Spektra Membran Nata yang dimodifikasi dengan 3-MPA
- Lampiran 9. Data Spektra Membran Nata-Enzim
- Lampiran 10. Data Spektra Reaksi Enzimatik: Enzim + H₂O₂
- Lampiran 11. Pembuatan Membran

Lampiran 1
 Spektra FTIR Membran Nata Murni

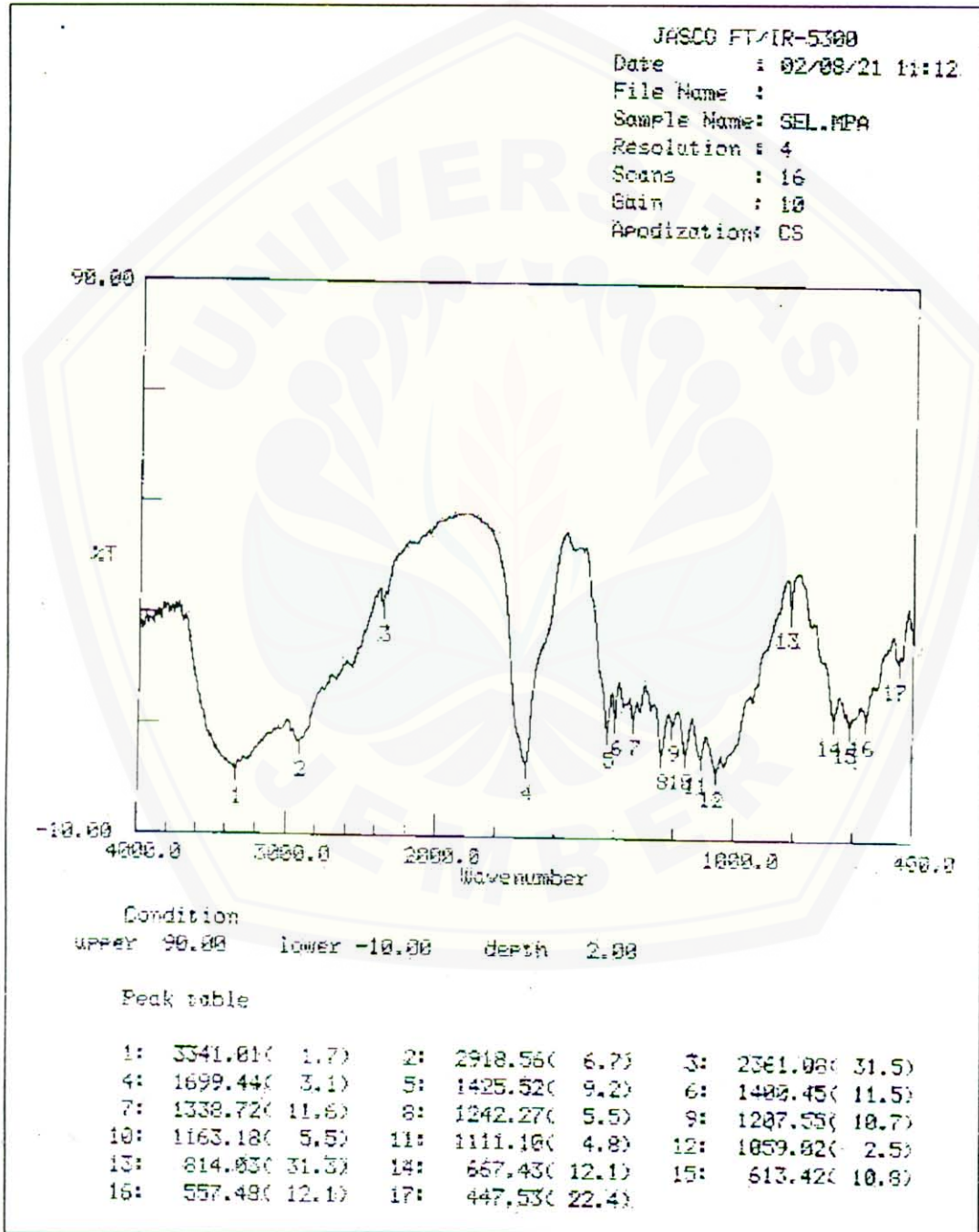


Lampiran 2

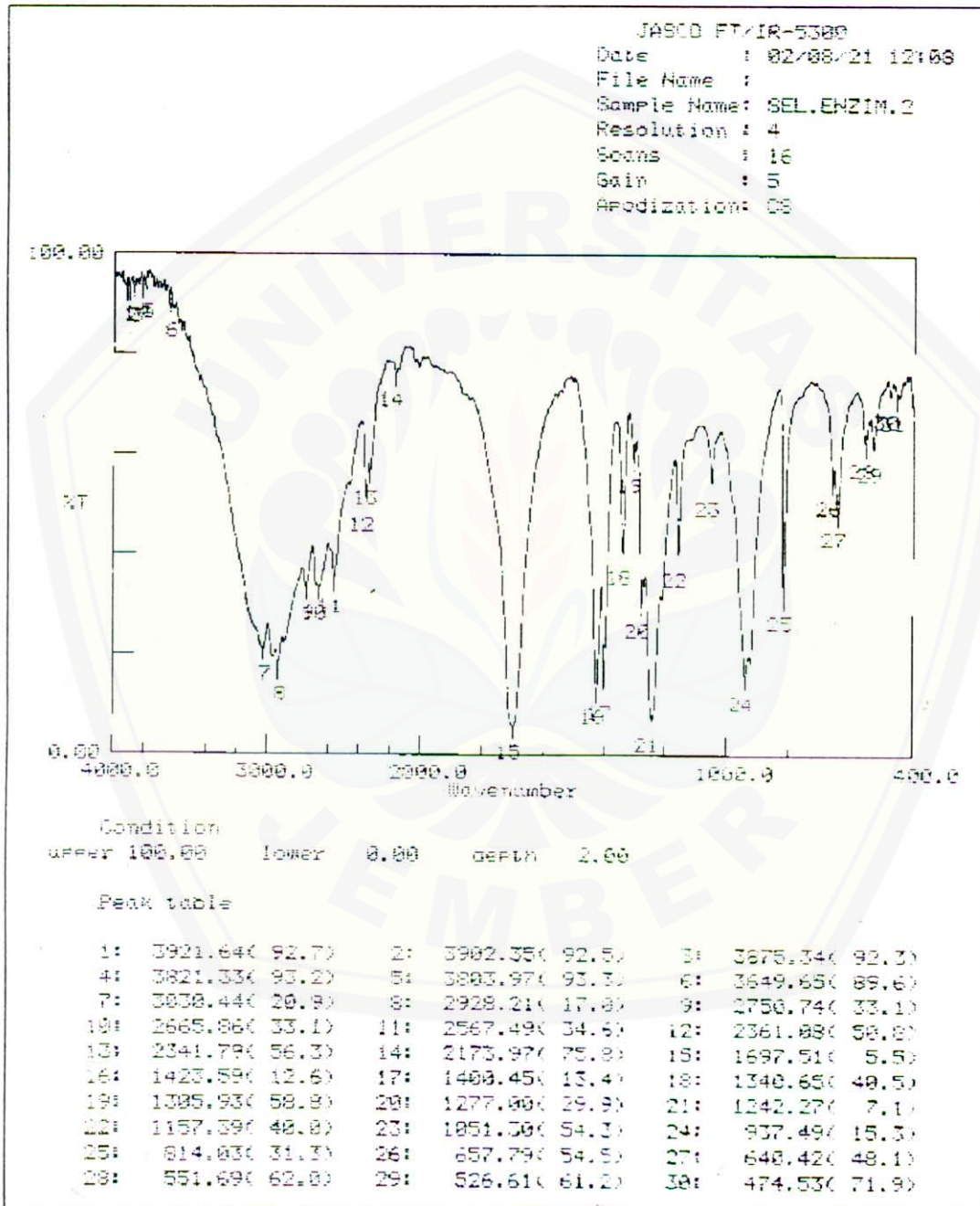
Spektra FTIR Membran Nata Terhidrolisis



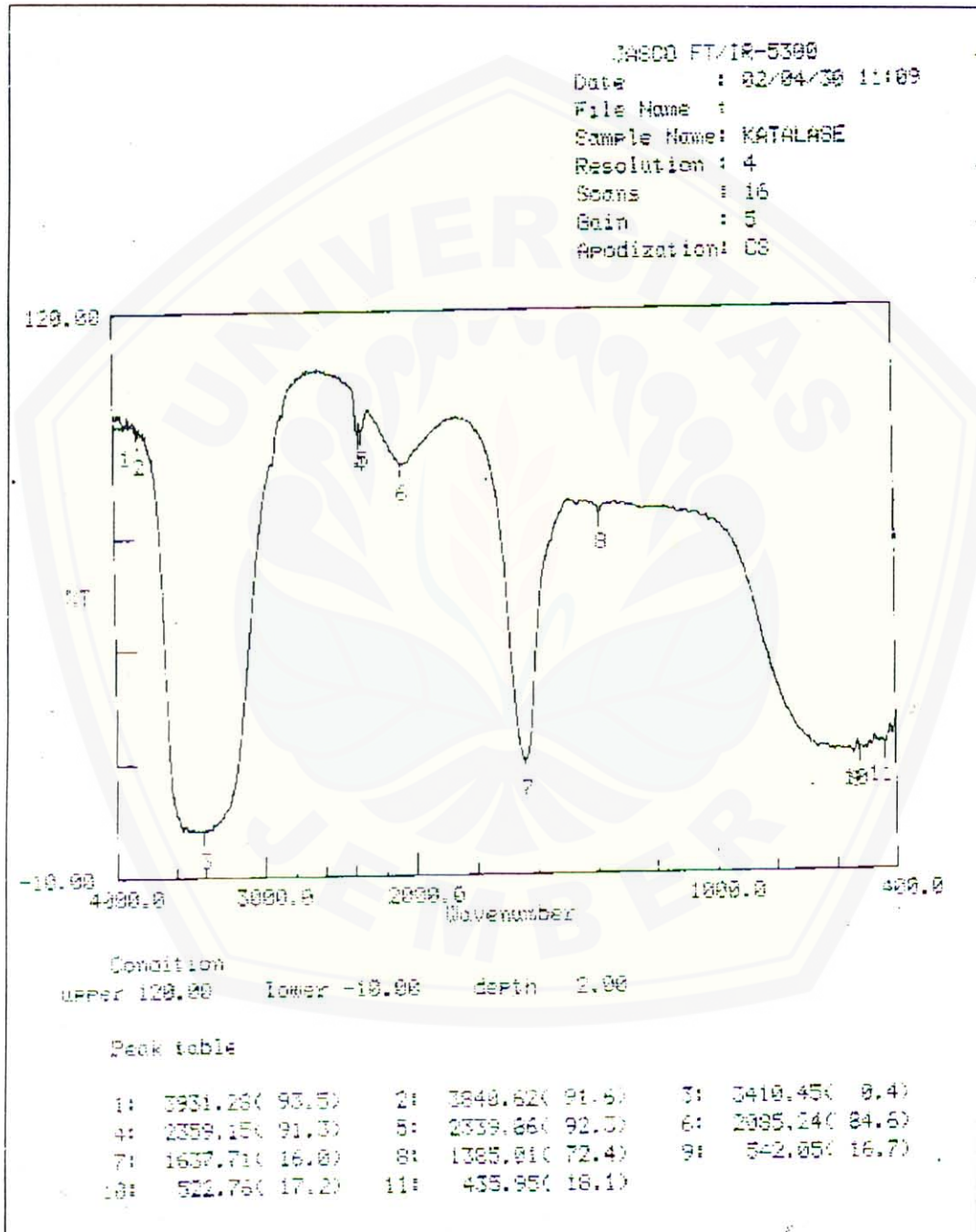
Lampiran 3
 Spektra FTIR Membran Nata yang dimodifikasi
 dengan Asam 3-Merkapto Propionat



Lampiran 4
 Spektra FTIR Membran Nata-Enzim



Lampiran 5
 Spektra FTIR Enzim Katalase Hati Sapi



Lampiran 6
Data Spektra UV-Vis Membran Nata Murni

P. Gel (λ)	1	2	3	Rata-rata	St.Deviasi
700	1,703	1,636	2,020	1,786	0,205
695	1,709	1,638	2,023	1,790	0,205
690	1,711	1,643	2,025	1,793	0,204
685	1,717	1,645	2,027	1,796	0,203
680	1,720	1,649	2,030	1,800	0,203
675	1,725	1,652	2,034	1,804	0,203
670	1,729	1,656	2,036	1,807	0,202
665	1,734	1,661	2,041	1,812	0,202
660	1,739	1,663	2,042	1,815	0,201
655	1,741	1,668	2,045	1,818	0,200
650	1,748	1,670	2,048	1,822	0,200
645	1,752	1,675	2,050	1,826	0,198
640	1,757	1,678	2,053	1,829	0,198
635	1,762	1,681	2,056	1,833	0,197
630	1,766	1,685	2,059	1,837	0,197
625	1,771	1,689	2,061	1,840	0,195
620	1,776	1,693	2,064	1,844	0,195
615	1,780	1,699	2,071	1,850	0,196
610	1,787	1,702	2,072	1,854	0,194
605	1,797	1,709	2,095	1,867	0,202
600	1,901	1,771	2,184	1,952	0,211
595	1,885	1,758	2,151	1,931	0,201
590	1,877	1,760	2,145	1,927	0,197
585	1,879	1,762	2,148	1,930	0,198
580	1,883	1,768	2,139	1,930	0,190
575	1,881	1,769	2,128	1,926	0,184
570	1,880	1,770	2,125	1,925	0,182
565	1,886	1,774	2,124	1,928	0,179
560	1,885	1,777	2,123	1,928	0,177
555	1,892	1,781	2,127	1,933	0,177
550	1,896	1,786	2,130	1,937	0,176
545	1,898	1,789	2,134	1,940	0,176
540	1,909	1,798	2,137	1,948	0,173
535	1,915	1,805	2,142	1,954	0,172
530	1,924	1,812	2,152	1,963	0,173
525	1,932	1,821	2,158	1,970	0,172
520	1,947	1,829	2,167	1,981	0,172
515	1,954	1,835	2,179	1,989	0,175
510	1,973	1,848	2,191	2,004	0,174
505	1,989	1,862	2,212	2,021	0,177
500	2,000	1,871	2,220	2,030	0,176
495	2,009	1,888	2,231	2,043	0,174
490	2,029	1,891	2,245	2,055	0,178
485	2,038	1,907	2,255	2,067	0,176

P. Gel (λ)	1	2	3	*Rata-rata	St.Deviasi
480	2,056	1,915	2,274	2,082	0,181
475	2,075	1,929	2,294	2,099	0,184
470	2,089	1,947	2,301	2,112	0,178
465	2,094	1,969	2,306	2,123	0,170
460	2,108	1,975	2,309	2,131	0,168
455	2,108	1,980	2,312	2,133	0,167
450	2,109	2,011	2,318	2,146	0,157
445	2,125	2,033	2,356	2,171	0,166
440	2,136	2,058	2,378	2,191	0,167
435	2,164	2,087	2,413	2,221	0,170
430	2,188	2,115	2,454	2,252	0,178
425	2,225	2,167	2,512	2,301	0,185
420	2,335	2,202	2,574	2,370	0,189
415	2,384	2,275	2,621	2,427	0,177
410	2,444	2,323	2,663	2,477	0,172
405	2,645	2,456	2,751	2,617	0,149
400	2,750	2,555	2,812	2,706	0,134
395	3,001	2,785	2,968	2,918	0,116
390	3,031	3,084	3,101	3,072	0,037
385	3,333	3,102	3,541	3,325	0,220
380	3,734	3,738	3,738	3,737	0,002
375	3,735	3,739	3,739	3,738	0,002
370	3,737	3,741	3,741	3,740	0,002
365	3,738	3,742	3,742	3,741	0,002
360	3,739	3,743	3,743	3,742	0,002
355	3,740	3,744	3,744	3,743	0,002
350	3,741	3,745	3,745	3,744	0,002
345	3,742	3,746	3,746	3,745	0,002
340	3,743	3,747	3,747	3,746	0,002
335	3,744	3,748	3,748	3,747	0,002
330	3,745	3,749	3,749	3,748	0,002
325	3,746	3,750	3,750	3,749	0,002
320	3,747	3,751	3,751	3,750	0,002
315	3,748	3,751	3,752	3,750	0,002
310	3,749	3,752	3,752	3,751	0,002
305	3,750	3,753	3,753	3,752	0,002
300	3,750	3,754	3,754	3,753	0,002
295	3,751	3,754	3,754	3,753	0,002
290	3,751	3,755	3,755	3,754	0,002
285	3,751	3,755	3,755	3,754	0,002
280	3,751	3,755	3,755	3,754	0,002
275	3,750	3,753	3,752	3,752	0,002
270	3,749	3,752	3,752	3,751	0,002
265	3,745	3,750	3,749	3,748	0,003
260	3,744	3,748	3,748	3,747	0,002
255	3,741	3,745	3,743	3,743	0,002
250	3,738	3,741	3,741	3,740	0,002
245	3,735	3,737	3,738	3,737	0,002
240	3,730	3,734	3,733	3,732	0,002

P. Gel (λ)	1	2	3	*Rata-rata	St.Deviasi
235	3,729	3,729	3,729	3,729	0,000
230	3,722	3,726	3,726	3,725	0,002
225	3,718	3,720	3,720	3,719	0,001
220	3,713	3,717	3,717	3,716	0,002
215	3,709	3,708	3,707	3,708	0,001
210	3,702	3,706	3,706	3,705	0,002
205	3,694	3,695	3,697	3,695	0,002
200	3,683	3,687	3,687	3,686	0,002



Lampiran 7

Data Spektra UV-Vis Membran Nata Terhidrolisis

P. Gel (λ)	1	2	3	Rata-rata	St.Deviasi
700	1,916	1,478	1,697	1,697	0,219
695	1,919	1,484	1,702	1,702	0,218
690	1,922	1,487	1,702	1,704	0,218
685	1,925	1,498	1,712	1,712	0,214
680	1,929	1,501	1,715	1,715	0,214
675	1,931	1,509	1,720	1,720	0,211
670	1,934	1,518	1,726	1,726	0,208
665	1,937	1,525	1,731	1,731	0,206
660	1,941	1,535	1,738	1,738	0,203
655	1,945	1,565	1,755	1,755	0,190
650	1,948	1,576	1,762	1,762	0,186
645	1,954	1,606	1,780	1,780	0,174
640	1,956	1,601	1,780	1,779	0,178
635	1,960	1,605	1,790	1,785	0,178
630	1,963	1,612	1,791	1,789	0,176
625	1,969	1,615	1,792	1,792	0,177
620	1,972	1,625	1,801	1,799	0,174
615	1,979	1,635	1,807	1,807	0,172
610	1,981	1,641	1,811	1,811	0,170
605	2,048	1,745	1,895	1,896	0,152
600	2,079	1,754	1,920	1,918	0,163
595	2,054	1,676	1,865	1,865	0,189
590	2,028	1,665	1,844	1,846	0,182
585	2,032	1,664	1,848	1,848	0,184
580	2,040	1,662	1,851	1,851	0,189
575	2,037	1,651	1,844	1,844	0,193
570	2,033	1,648	1,841	1,841	0,193
565	2,035	1,651	1,843	1,843	0,192
560	2,037	1,652	1,851	1,847	0,193
555	2,042	1,664	1,853	1,853	0,189
550	2,049	1,675	1,862	1,862	0,187
545	2,054	1,688	1,871	1,871	0,183
540	2,063	1,702	1,883	1,883	0,181
535	2,069	1,707	1,888	1,888	0,181
530	2,075	1,718	1,897	1,897	0,179
525	2,096	1,722	1,909	1,909	0,187
520	2,107	1,731	1,919	1,919	0,188
515	2,125	1,755	1,940	1,940	0,185
510	2,143	1,762	1,953	1,953	0,191
505	2,166	1,795	1,981	1,981	0,186
500	2,186	1,821	2,001	2,003	0,183
495	2,199	1,852	2,001	2,017	0,174
490	2,228	1,899	2,064	2,064	0,165
485	2,255	2,001	2,128	2,128	0,127

P. Gel (λ)	1	2	3	Rata-rata	St.Deviasi
480	2,277	2,015	2,146	2,146	0,131
475	2,312	2,025	2,168	2,168	0,144
470	2,352	2,058	2,205	2,205	0,147
465	2,402	2,105	2,253	2,253	0,149
460	2,461	2,250	2,353	2,355	0,106
455	2,552	2,331	2,441	2,441	0,111
450	2,590	2,456	2,523	2,523	0,067
445	2,734	2,666	2,700	2,700	0,034
440	2,864	2,798	2,831	2,831	0,033
435	3,211	3,115	3,163	3,163	0,048
430	3,530	3,420	3,475	3,475	0,055
425	3,612	3,522	3,567	3,567	0,045
420	3,726	3,725	3,733	3,728	0,004
415	3,727	3,727	3,731	3,728	0,002
410	3,728	3,727	3,727	3,727	0,001
405	3,729	3,728	3,729	3,729	0,001
400	3,731	3,730	3,730	3,730	0,001
395	3,731	3,730	3,731	3,731	0,001
390	3,731	3,731	3,731	3,731	0,000
385	3,733	3,734	3,732	3,733	0,001
380	3,734	3,733	3,735	3,734	0,001
375	3,736	3,735	3,735	3,735	0,001
370	3,737	3,736	3,737	3,737	0,001
365	3,738	3,737	3,738	3,738	0,001
360	3,739	3,738	3,740	3,739	0,001
355	3,740	3,741	3,742	3,741	0,001
350	3,741	3,740	3,743	3,741	0,002
345	3,742	3,742	3,743	3,742	0,001
340	3,743	3,743	3,744	3,743	0,001
335	3,745	3,743	3,744	3,744	0,001
330	3,745	3,744	3,745	3,745	0,001
325	3,746	3,745	3,746	3,746	0,001
320	3,749	3,746	3,747	3,747	0,002
315	3,749	3,747	3,748	3,748	0,001
310	3,750	3,748	3,749	3,749	0,001
305	3,750	3,750	3,750	3,750	0,000
300	3,750	3,750	3,750	3,750	0,000
295	3,751	3,751	3,751	3,751	0,000
290	3,751	3,750	3,750	3,750	0,001
285	3,751	3,750	3,751	3,751	0,001
280	3,751	3,750	3,750	3,750	0,001
275	3,750	3,749	3,750	3,750	0,001
270	3,749	3,749	3,749	3,749	0,000
265	3,746	3,748	3,747	3,747	0,001
260	3,744	3,744	3,744	3,744	0,000
255	3,743	3,742	3,742	3,742	0,001
250	3,738	3,738	3,738	3,738	0,000
245	3,735	3,734	3,737	3,735	0,002
240	3,735	3,733	3,734	3,734	0,001

P. Gel (λ)	1	2	3	Rata-rata	St.Deviasi
235	3,731	3,729	3,730	3,730	0,001
230	3,725	3,722	3,723	3,723	0,002
225	3,720	3,722	3,721	3,721	0,001
220	3,713	3,712	3,712	3,712	0,001
215	3,709	3,710	3,710	3,710	0,001
210	3,702	3,700	3,701	3,701	0,001
205	3,699	3,697	3,698	3,698	0,001
200	3,683	3,683	3,680	3,682	0,002



Lampiran 8

Data Spektra UV-Vis Membran Nata yang dimodifikasi dengan 3-MPA

P.Gel (λ)	1	2	3	Rata-rata	St.Deviasi
700	1,756	1,622	1,802	1,727	0,094
695	1,756	1,624	1,804	1,728	0,093
690	1,758	1,626	1,806	1,730	0,093
685	1,761	1,628	1,808	1,732	0,093
680	1,762	1,630	1,809	1,734	0,093
675	1,765	1,632	1,811	1,736	0,093
670	1,768	1,634	1,813	1,738	0,093
665	1,771	1,636	1,815	1,741	0,093
660	1,774	1,638	1,816	1,743	0,093
655	1,778	1,640	1,818	1,745	0,093
650	1,779	1,642	1,820	1,747	0,093
645	1,783	1,644	1,821	1,749	0,093
640	1,785	1,646	1,823	1,751	0,093
635	1,789	1,648	1,825	1,754	0,094
630	1,795	1,651	1,827	1,758	0,094
625	1,799	1,653	1,829	1,760	0,094
620	1,806	1,655	1,831	1,764	0,095
615	1,809	1,658	1,833	1,767	0,095
610	1,812	1,661	1,836	1,770	0,095
605	1,822	1,664	1,839	1,775	0,097
600	1,885	1,691	1,922	1,833	0,124
595	1,828	1,684	1,847	1,786	0,089
590	1,824	1,684	1,843	1,784	0,087
585	1,823	1,683	1,843	1,783	0,087
580	1,829	1,687	1,844	1,787	0,087
575	1,833	1,687	1,841	1,787	0,087
570	1,835	1,687	1,842	1,788	0,088
565	1,829	1,689	1,843	1,787	0,085
560	1,829	1,691	1,843	1,788	0,084
555	1,830	1,692	1,844	1,789	0,084
550	1,834	1,696	1,848	1,793	0,084
545	1,836	1,700	1,850	1,795	0,083
540	1,840	1,704	1,854	1,799	0,083
535	1,844	1,708	1,858	1,803	0,083
530	1,847	1,714	1,861	1,807	0,081
525	1,853	1,718	1,867	1,813	0,082
520	1,852	1,724	1,873	1,816	0,081
515	1,857	1,729	1,878	1,821	0,081
510	1,864	1,736	1,885	1,828	0,081
505	1,871	1,743	1,892	1,835	0,081
500	1,878	1,750	1,899	1,842	0,081
495	1,885	1,757	1,906	1,849	0,081
490	1,892	1,764	1,913	1,856	0,081
485	1,883	1,771	1,918	1,857	0,077

P.Gel (λ)	1	2	3	Rata-rata	St.Deviasi
480	1,892	1,779	1,927	1,866	0,077
475	1,904	1,790	1,939	1,878	0,078
470	1,913	1,798	1,948	1,886	0,078
465	1,923	1,810	1,958	1,897	0,077
460	1,931	1,818	1,966	1,905	0,077
455	1,940	1,829	1,975	1,915	0,076
450	1,954	1,841	1,989	1,928	0,077
445	1,953	1,856	2,000	1,936	0,073
440	1,967	1,864	2,014	1,948	0,077
435	1,980	1,882	2,027	1,963	0,074
430	2,000	1,897	2,047	1,981	0,077
425	2,019	1,916	2,066	2,000	0,077
420	2,046	1,941	2,093	2,027	0,078
415	2,070	1,963	2,117	2,050	0,079
410	2,087	1,990	2,134	2,070	0,073
405	2,151	2,028	2,198	2,126	0,088
400	2,198	2,065	2,245	2,169	0,093
395	2,244	2,116	2,299	2,220	0,094
390	2,338	2,180	2,393	2,304	0,111
385	2,441	2,275	2,496	2,404	0,115
380	2,889	2,594	3,107	2,863	0,257
375	2,751	2,516	2,950	2,739	0,217
370	2,777	2,506	2,832	2,705	0,175
365	2,968	2,566	3,023	2,852	0,249
360	3,229	2,913	3,284	3,142	0,200
355	3,689	3,744	3,744	3,726	0,032
350	3,750	3,745	3,745	3,747	0,003
345	3,750	3,746	3,746	3,747	0,002
340	3,750	3,746	3,747	3,748	0,002
335	3,750	3,747	3,748	3,748	0,002
330	3,748	3,749	3,749	3,749	0,001
325	3,750	3,750	3,750	3,750	0,000
320	3,751	3,750	3,750	3,750	0,001
315	3,751	3,751	3,751	3,751	0,000
310	3,752	3,751	3,752	3,752	0,001
305	3,753	3,753	3,753	3,753	0,000
300	3,754	3,754	3,754	3,754	0,000
295	3,755	3,755	3,754	3,755	0,001
290	3,755	3,755	3,755	3,755	0,000
285	3,755	3,754	3,755	3,755	0,001
280	3,755	3,754	3,754	3,754	0,001
275	3,754	3,753	3,754	3,754	0,001
270	3,752	3,751	3,752	3,752	0,001
265	3,750	3,748	3,750	3,749	0,001
260	3,748	3,745	3,748	3,747	0,002
255	3,745	3,742	3,745	3,744	0,002
250	3,741	3,739	3,741	3,740	0,001
245	3,738	3,735	3,738	3,737	0,002
240	3,734	3,733	3,734	3,734	0,001

P.Gel (λ)	1	2	3	Rata-rata	St.Deviasi
235	3,729	3,726	3,729	3,728	0,002
230	3,726	3,721	3,726	3,724	0,003
225	3,721	3,718	3,721	3,720	0,002
220	3,717	3,715	3,717	3,716	0,001
215	3,712	3,710	3,712	3,711	0,001
210	3,706	3,701	3,706	3,704	0,003
205	3,698	3,697	3,698	3,698	0,001
200	3,687	3,679	3,685	3,684	0,004



Lampiran 9
Data Spektra UV-Vis Membran Nata-Enzim

P. Gel (λ)	1	2	3	Rata-rata	St.Deviasi
700	1,690	2,041	2,192	1,974	0,258
695	1,693	2,042	2,195	1,977	0,257
690	1,695	2,044	2,197	1,979	0,257
685	1,699	2,046	2,204	1,983	0,258
680	1,701	2,047	2,206	1,985	0,258
675	1,703	2,051	2,212	1,989	0,260
670	1,707	2,052	2,216	1,992	0,260
665	1,711	2,054	2,221	1,995	0,260
660	1,713	2,056	2,226	1,998	0,261
655	1,715	2,058	2,231	2,001	0,263
650	1,719	2,059	2,234	2,004	0,262
645	1,723	2,062	2,237	2,007	0,261
640	1,726	2,064	2,242	2,011	0,262
635	1,731	2,066	2,247	2,015	0,262
630	1,733	2,068	2,251	2,017	0,263
625	1,738	2,070	2,245	2,018	0,258
620	1,740	2,073	2,260	2,024	0,263
615	1,745	2,075	2,267	2,029	0,264
610	1,748	2,080	2,270	2,033	0,264
605	1,801	2,115	2,201	2,039	0,211
600	1,833	2,226	2,445	2,168	0,310
595	1,806	2,156	2,345	2,102	0,273
590	1,808	2,182	2,366	2,119	0,284
585	1,811	2,182	2,358	2,117	0,279
580	1,813	2,181	2,356	2,117	0,277
575	1,814	2,175	2,345	2,111	0,271
570	1,815	2,166	2,338	2,106	0,267
565	1,816	2,166	2,331	2,104	0,263
560	1,819	2,169	2,329	2,106	0,261
555	1,821	2,170	2,329	2,107	0,260
550	1,827	2,174	2,330	2,110	0,257
545	1,831	2,178	2,337	2,115	0,259
540	1,837	2,180	2,341	2,119	0,257
535	1,845	2,188	2,347	2,127	0,257
530	1,850	2,193	2,353	2,132	0,257
525	1,861	2,198	2,364	2,141	0,256
520	1,865	2,207	2,375	2,149	0,260
515	1,872	2,215	2,394	2,160	0,265
510	1,884	2,229	2,408	2,174	0,266
505	1,895	2,235	2,425	2,185	0,269
500	1,903	2,251	2,446	2,200	0,275
495	1,912	2,264	2,456	2,211	0,276
490	1,922	2,277	2,469	2,223	0,278
485	1,935	2,301	2,489	2,242	0,282

P. Gel (λ)	1	2	3	Rata-rata	St.Deviasi
480	1,946	2,302	2,504	2,251	0,283
475	1,954	2,319	2,524	2,266	0,289
470	1,974	2,338	2,568	2,293	0,300
465	1,980	2,364	2,607	2,317	0,316
460	2,003	2,385	2,633	2,340	0,317
455	2,016	2,402	2,705	2,374	0,345
450	2,038	2,436	2,756	2,410	0,360
445	2,055	2,478	2,712	2,415	0,333
440	2,078	2,512	2,824	2,471	0,375
435	2,098	2,568	2,867	2,511	0,388
430	2,127	2,616	2,985	2,576	0,430
425	2,165	2,669	3,001	2,612	0,421
420	2,193	2,796	3,051	2,680	0,441
415	2,241	2,941	3,085	2,756	0,451
410	2,282	3,021	3,116	2,806	0,457
405	2,352	3,102	3,215	2,890	0,469
400	2,464	3,213	3,358	3,012	0,480
395	2,655	3,351	3,446	3,151	0,432
390	2,876	3,442	3,512	3,277	0,349
385	3,333	3,512	3,665	3,503	0,166
380	3,734	3,738	3,734	3,735	0,002
375	3,735	3,737	3,736	3,736	0,001
370	3,737	3,741	3,737	3,738	0,002
365	3,738	3,742	3,738	3,739	0,002
360	3,739	3,743	3,739	3,740	0,002
355	3,740	3,744	3,740	3,741	0,002
350	3,741	3,745	3,741	3,742	0,002
345	3,742	3,746	3,742	3,743	0,002
340	3,743	3,747	3,743	3,744	0,002
335	3,744	3,748	3,744	3,745	0,002
330	3,745	3,749	3,745	3,746	0,002
325	3,746	3,750	3,746	3,747	0,002
320	3,747	3,751	3,747	3,748	0,002
315	3,748	3,751	3,748	3,749	0,002
310	3,749	3,752	3,749	3,750	0,002
305	3,750	3,753	3,750	3,751	0,002
300	3,750	3,754	3,750	3,751	0,002
295	3,750	3,754	3,751	3,752	0,002
290	3,751	3,755	3,751	3,752	0,002
285	3,751	3,755	3,751	3,752	0,002
280	3,751	3,755	3,751	3,752	0,002
275	3,750	3,751	3,750	3,750	0,001
270	3,749	3,752	3,749	3,750	0,002
265	3,746	3,750	3,746	3,747	0,002
260	3,744	3,748	3,744	3,745	0,002
255	3,741	3,746	3,741	3,743	0,003
250	3,738	3,741	3,738	3,739	0,002
245	3,735	3,739	3,732	3,735	0,004
240	3,730	3,734	3,730	3,731	0,002

P. Gel (λ)	1	2	3	Rata-rata	St.Deviasi
235	3,728	3,731	3,728	3,729	0,002
230	3,722	3,725	3,722	3,723	0,002
225	3,716	3,723	3,716	3,718	0,004
220	3,713	3,717	3,713	3,714	0,002
215	3,711	3,712	3,708	3,710	0,002
210	3,702	3,706	3,702	3,703	0,002
205	3,696	3,698	3,693	3,696	0,003
200	3,683	3,687	3,683	3,684	0,002



Lampiran 10

Data Spektra Reaksi Enzimatik: Enzim + H₂O₂

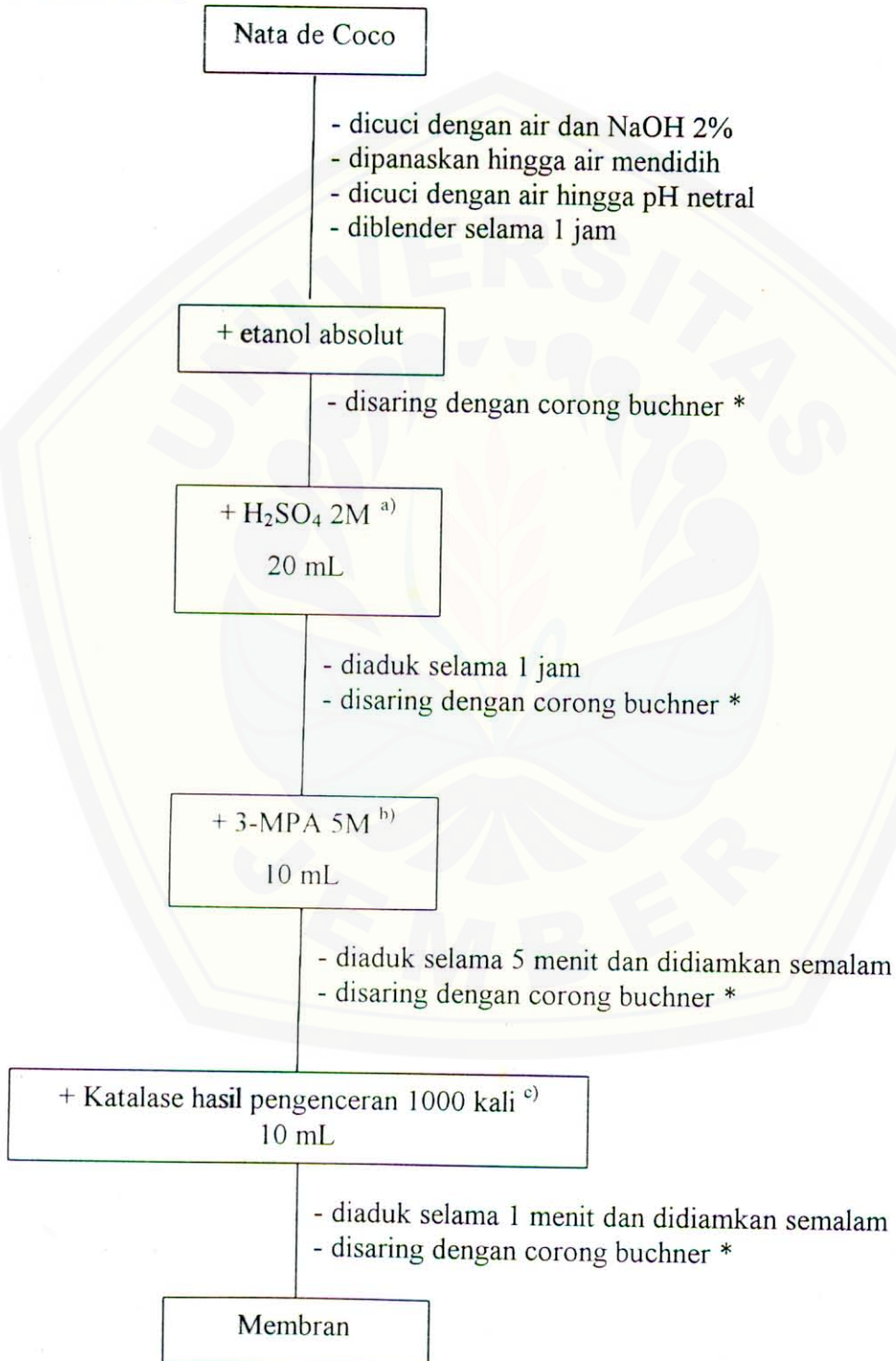
P.Gel (λ)	H2O2.100mM	Enzim	0'	30'
600	-0,009	-0,003	-0,014	-0,003
595	-0,010	-0,004	-0,014	-0,003
590	-0,009	-0,004	-0,014	-0,003
585	-0,009	-0,003	-0,014	-0,002
580	-0,009	-0,003	-0,014	-0,002
575	-0,009	-0,003	-0,015	-0,003
570	-0,009	-0,003	-0,014	-0,002
565	-0,009	-0,002	-0,014	-0,002
560	-0,009	-0,001	-0,014	-0,002
555	-0,009	0,000	-0,014	-0,002
550	-0,009	0,001	-0,014	-0,002
545	-0,009	0,002	-0,013	-0,001
540	-0,009	0,003	-0,013	-0,001
535	-0,008	0,004	-0,012	-0,001
530	-0,008	0,004	-0,011	-0,001
525	-0,008	0,005	-0,011	-0,001
520	-0,008	0,006	-0,010	-0,001
515	-0,007	0,007	-0,010	-0,001
510	-0,007	0,008	-0,010	0,000
505	-0,007	0,009	-0,009	0,000
500	-0,007	0,010	-0,008	0,000
495	-0,007	0,010	-0,008	0,000
490	-0,007	0,010	-0,008	0,000
485	-0,006	0,010	-0,008	0,000
480	-0,005	0,011	-0,007	0,001
475	-0,005	0,012	-0,006	0,002
470	-0,005	0,014	-0,006	0,002
465	-0,004	0,016	-0,005	0,003
460	-0,004	0,019	-0,004	0,004
455	-0,003	0,022	-0,004	0,004
450	-0,002	0,026	-0,003	0,005
445	-0,002	0,031	-0,001	0,007
440	-0,001	0,039	-0,001	0,008
435	0,000	0,051	0,001	0,010
430	0,001	0,069	0,003	0,012
425	0,002	0,096	0,006	0,015
420	0,003	0,130	0,009	0,019
415	0,004	0,167	0,013	0,022
410	0,005	0,199	0,016	0,023
405	0,006	0,214	0,018	0,025
400	0,008	0,208	0,019	0,029
395	0,009	0,191	0,020	0,029
390	0,010	0,171	0,019	0,029
385	0,012	0,153	0,020	0,030

P.Gel (λ)	H ₂ O ₂ .100mM	Enzim	• 0'	30'
380	0,019	0,143	0,027	0,035
375	0,020	0,134	0,027	0,036
370	0,021	0,126	0,028	0,036
365	0,023	0,121	0,030	0,038
360	0,025	0,118	0,031	0,039
355	0,028	0,115	0,034	0,042
350	0,032	0,113	0,036	0,045
345	0,037	0,112	0,042	0,050
340	0,038	0,109	0,042	0,054
335	0,037	0,103	0,041	0,053
330	0,037	0,097	0,041	0,052
325	0,037	0,093	0,040	0,052
320	0,036	0,088	0,039	0,052
315	0,036	0,084	0,038	0,051
310	0,036	0,083	0,038	0,051
305	0,037	0,084	0,039	0,052
300	0,038	0,092	0,041	0,053
295	0,040	0,125	0,046	0,058
290	0,042	0,177	0,052	0,063
285	0,044	0,228	0,059	0,069
280	0,046	0,262	0,063	0,073
275	0,047	0,271	0,065	0,075
270	0,047	0,264	0,064	0,074
265	0,047	0,248	0,062	0,072
260	0,047	0,225	0,059	0,069
255	0,047	0,202	0,055	0,066
250	0,048	0,192	0,054	0,065
245	0,051	0,217	0,057	0,067
240	0,055	0,325	0,069	0,077
235	0,061	0,609	0,099	0,103
230	0,072	1,137	0,153	0,151
225	0,085	1,729	0,213	0,203
220	0,102	2,473	0,275	0,257
215	0,120	3,712	0,348	0,322
210	0,136	3,706	0,451	0,412
205	0,143	3,698	0,628	0,567
200	0,191	3,687	1,704	1,014

Lampiran 11

Pembuatan Membran

1. Skema Kerja



Keterangan:

- a) tahap hidrolisis nata de coco
- b) tahap modifikasi nata de coco
- c) tahap immobilisasi enzim

* untuk karakterisasi membran pada tiap tahap: setelah nata berbagai perlakuan disaring, lalu ditekan dengan tekanan tertentu selama 24 jam lalu dikeringkan di oven

2. Data Fisik Membran

a. Nata de coco murni (tanpa perlakuan)

Nata de coco jus : pH = 7,30 – 7,73
warna = putih

Nata jus + etanol : pH = 7,50 – 7,85
warna larutan = putih
warna membran = putih

b. Nata terhidrolisis

Nata jus 15 gram + H_2SO_4 2M 20 mL : diaduk selama 60 menit
pH = 0,37 – 0,70
warna larutan = putih
warna membran = putih kecoklatan

c. Nata yang dimodifikasi dengan MPA

Nata terhidrolisis + MPA 5M 10 mL : diaduk selama 5 menit dan dibiarkan selama 24 jam pada suhu kamar dalam wadah tertutup.

pH = 0,51 – 0,65
warna larutan = putih
warna membran = putih

d. Immobilisasi enzim pada membran

Nata termodifikasi + katalase 1000 kali pengenceran, 10 mL (17370,54 unit) diaduk selama 1 menit dan didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar dalam wadah tertutup.

$$\text{pH} = 6,97 - 7,03$$

warna = putih

warna membran = putih

e. Pencetakan membran

Membran merupakan nata dengan berbagai perlakuan yang telah disaring dengan corong buchner.

Membran yang terbentuk memiliki ukuran tebal = 0,22 – 0,25 mm.

Diket: Beban $m = 2 \text{ kg}$

Percepatan $a =$ percepatan gravitasi $g = 9,81 \text{ m/s}^2$.

Jari-jari permukaan penampang $r = 0,025 \text{ m}$

Luas permukaan penampang berbentuk lingkaran, A

$$A = \pi r^2 = \pi (0,025 \text{ m})^2 = 1,96 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2.$$

Gaya, $F =$ massa x percepatan

$$F = m \times a = m \times g = 2 \text{ kg} \times 9,81 \text{ m/s}^2 = 19,62 \text{ kg.m/s}^2 = 19,62 \text{ N}$$

Maka Tekanan, P

$$P = \frac{F}{A} = \frac{19,62 \text{ N}}{1,96 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2} = 10010 \text{ N/m}^2 = 10010 \text{ Pa} = 10,01 \text{ kPa}$$

