



REPUBLIK INDONESIA  
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

**SERTIFIKAT PATEN**

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : UNIVERSITAS SURABAYA  
Jln. Ngagel Jaya Selatan 169, Surabaya  
INDONESIA

Untuk Invensi dengan Judul : PROSES IMOBILISASI ENZIM GLUKOSA OKSIDASE  
MENGUNAKAN BENTONIT ALAM TERAKTIFKAN MELALUI  
PENGASAMAN

Inventor : Restu Kartiko Widi, S.Si., M.Si., Ph.D  
Arief Budhyantoro. S.Si, M.Si  
Ruth Chrisnasari, S.TP, M.P

Tanggal Penerimaan : 08 Februari 2013

Nomor Paten : IDP000050658

Tanggal Pemberian : 10 April 2018

Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA  
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.  
NIP. 196611181994031001

(12) PATEN INDONESIA

(11) IDP000050658 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL  
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 10 April 2018

(51) Klasifikasi IPC<sup>8</sup> : C 12N 11/14(2006.01)

(21) No. Permohonan Paten : P00201300088

(22) Tanggal Penerimaan: 08 Februari 2013

(30) Data Prioritas :  
(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

(43) Tanggal Pengumuman: 28 Agustus 2014

(56) Dokumen Perbandingan:  
Akta Kimindo, "Pemakaian kitosan limbah udang windu sebagai matriks pendukung pada imobilisasi papain, Volume 2 No. 2 April 2017 halaman 93-98, Sari Edi Cahyaningrum dkk

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :  
UNIVERSITAS SURABAYA  
Jln. Ngagel Jaya Selatan 169, Surabaya  
INDONESIA

(72) Nama Inventor :  
Restu Kartiko Widi, S.Si., M.Si., Ph.D, ID  
Arief Budhyantoro. S.Si, M.Si, ID  
Ruth Chrisnasari, S.TP, M.P, ID

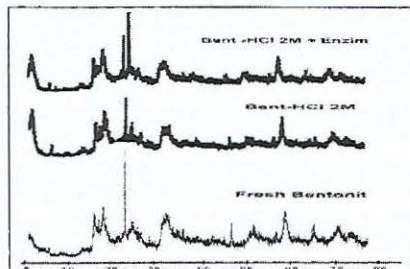
(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Dra. Johani Siregar

Jumlah Klaim : 2

(54) Judul Invensi : PROSES IMOBILISASI ENZIM GLUKOSA OKSIDASE MENGGUNAKAN BENTONIT ALAM TERAKTIFKAN MELALUI PENGASAMAN

(57) Abstrak :  
Pemanfaatan enzim Glukosa Oksidase (GOD) terus berkembang baik dalam bidang industri maupun dalam bidang medis, biosensor, dan sebagainya.. Secara teknis sangat sulit untuk memisahkan enzim dan produk dan mendapatkan kembali enzim yang aktif diakhir reaksi, sehingga dilakukan imobilisasi enzim. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan untuk imobilisasi adalah bentonit. Untuk meningkatkan kemampuan bentonit dalam mengimobilisasi enzim, dilakukan modifikasi bentonit berupa pengasaman. Pengasaman bentonit menggunakan asam HCl dilakukan dengan memanaskan campuran bentonit dan asam pada suhu 90°C selama 1 jam. Pengasaman dilakukan dengan perbandingan bentonit alam : larutan asam klorida adalah 1 - 5 gram : 100 ml. mobilisasi enzim GOD dilakukan dengan cara mencampurkan larutan enzim dengan bentonit teraktifkan dengan perbandingan bentonit teraktifkan : larutan enzim GOD adalah 0,1-1 gram : 1 - 5 ml. Konsentrasi enzim GOD yang dipergunakan sebesar 5 IU; 10 ID; 15 ID; 20 ID dan 25 IU. Sesuai invensi ini, enzim GOD yang terimobilisasi pada bentonit hasil pengasaman mencapai 100%. Enzim GOD terimobilisasi yang dihasilkan ini cukup stabil sehingga dapat digunakan sebanyak minimall 7 kali dengan penurunan aktivitas hanya sebesar 30%.



## Deskripsi

### **PROSES IMOBILISASI ENZIM GLUKOSA OKSIDASE MENGGUNAKAN BENTONIT ALAM TERAKTIFKAN MELALUI PENGASAMAN**

5

#### **Bidang Teknik Invensi**

10 Invensi ini berkaitan dengan proses pembuatan matriks enzim terimobilisasi. Lebih khusus lagi matriks tersebut adalah enzim glukosa oksidase yang diimobilisasi menggunakan bentonit alam teraktifkan melalui penambahan asam.

#### **Latar Belakang Invensi**

15

Enzim sudah tidak diragukan memiliki peran yang sangat penting dalam kehidupan. Enzim mempunyai sifat yang potensial untuk dimanfaatkan, antara lain daya katalitiknya yang besar dan spesifitasnya terhadap substrat dari reaksi yang dikatalisisnya (Lehninger, 1990). Enzim menjadi primadona industri saat ini dan di masa yang akan datang karena melalui penggunaannya, energi dapat 20 dihemat dan ramah dengan lingkungan karena tidak menghasilkan produk samping yang berbahaya seperti pada penggunaan zat kimia tertentu.

Enzim glukosa oksidase (GOD) (EC 1.1.3.4) adalah suatu oksido-reduktase yang mengkatalisis oksidasi glukosa menjadi hidrogen peroksida dan D-glucono- 25  $\delta$ -lactone. Pemanfaatan enzim GOD terus berkembang baik dalam bidang industri maupun dalam bidang medis. Glukosa oksidase digunakan secara luas untuk menentukan keberadaan glukosa bebas dalam darah (reagen pendiagnosa penyakit), biosensor, sebagai zat aditif pada industri makanan, produksi asam glukonat, sebagai bahan tambahan dalam pasta gigi dan pembuatan roti 30 (Vroemen, 2003).

Pada proses yang melibatkan enzim, umumnya menggunakan cara *batch* yaitu mereaksikan substrat dengan enzim yang sudah dilarutkan dalam air, sehingga enzim bercampur dengan substrat (Sarah, 2001; Agustini, 2003). Cara

ini memiliki kelemahan karena enzim hanya digunakan sekali pakai. Untuk mengatasi masalah ini salah satu cara yang dapat digunakan adalah proses imobilisasi enzim. Imobilisasi enzim adalah penempatan enzim secara fisik di dalam suatu daerah/ruang tertentu, sehingga dapat menahan aktivitas katalitiknya serta dapat digunakan secara berulang-ulang. Imobilisasi juga bermanfaat dalam pencegahan interaksi protein-protein yang dapat menyebabkan terjadinya agregasi molekul protein sehingga pada akhirnya menyebabkan timbulnya deaktifasi enzim.

Salah satu bahan alam yang dapat digunakan untuk imobilisasi adalah bentonit. Bentonit memiliki karakteristik yang sesuai dengan material imobilisator dan terdapat melimpah di Indonesia. Bentonit memiliki kemampuan untuk berikatan dengan anion-anion dan kation-kation (Setyowati, 1995). Pengolahan bentonit dengan asam mineral dapat meningkatkan porositas dan keasaman permukaan sehingga dapat lebih efektif sebagai pendukung katalis. Pada penelitian Indrawati (2010) diketahui bahwa variasi konsentrasi HCl 0,5 hingga 2 M tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap daya adsorpsi bentonit terhadap rhodamin B. Penambahan asam dapat memberikan lapisan  $H^+$  pada permukaan bentonit yang diharapkan dapat digunakan untuk mengikat enzim GOD dengan ikatan ionik. Pengasaman bentonit bertujuan untuk menukar kation  $Ca^{2+}$  yang ada dalam Ca-Bentonit serta melepaskan ion Al, Fe, dan Mg dan pengotor-pengotor lainnya dari kisi-kisi struktur, sehingga secara fisik bentonit tersebut menjadi lebih aktif. Selama proses aktifasi tersebut, Ca, Al, Fe, dan Mg larut dalam larutan, kemudian terjadi penyerapan asam ( $H^+$ ) ke dalam struktur bentonit, sehingga rangkaian struktur (*frame work*) dari bentonit akan mempunyai area yang lebih luas. Dengan demikian, ion hidrogen dari asam akan melapisi permukaan bentonit. Sehingga melalui tahapan penambahan asam pada bentonit ini diharapkan akan meningkatkan jumlah enzim GOD yang akan terimobilisasi pada bentonit.

Invensi sebelumnya yang dikemukakan oleh Garwood et al (1983) adalah imobilisasi GOD pada *montmorillonite clay* termodifikasi *hexadecyltrimethylammonium* melalui interaksi hidrofobik menghasilkan persen imobilisasi 4.7%, sedangkan imobilisasi GOD pada  $Na^+$ -montmorillonite dengan interkalasi ionik menghasilkan persen imobilisasi 79%. Namun imobilisasi ini

sangat sensitif terhadap perubahan pH. Sarkar et al (1989) juga melakukan invensi berupa imobilisasi GOD pada tanah yang diaktifasi oleh 3-aminopropyltriethoxysilane dan kehilangan aktivitasnya sebesar 25% setelah 15 hari.

5        Invensi yang terkait langsung dengan pengasaman bentonit telah dikemukakan oleh Dennis R T dan Charles B U dalam paten EP 0398636 B1, yang memaparkan pengasaman Ca-bentonit menggunakan 1 - 10% b/b asam sulfat, asam pospat, asam klorida, asam formiat dan asam sitrat. Pada invensi  
10        tersebut inventor lebih menyarankan penggunaan asam sulfat, sedangkan untuk penggunaan asam klorida inventor menggunakan konsentrasi asam sebesar 3,8 - 5% b/b (1,23 M - 3,2 M). Pada proses selanjutnya sebelum diaplikasikan, material bentonit yang diasamkan ini perlu tahapan proses pengeringan menggunakan *spray drier*. Material ini diaplikasikan sebagai adsorben dan biasanya digunakan sebagai penjerap warna pada minyak nabati.

15        Invensi ini menyediakan enzim GOD yang terimobil pada bentonit alam asal Pacitan, Jawa Timur yang telah diaktifkan/dimodifikasi melalui proses pengasaman menggunakan asam klorida dengan konsentrasi cukup rendah (1 M - 3 M) serta proses pengeringan yang sederhana yang cukup menggunakan oven  
20        tanpa perlu tahapan pengeringan menggunakan *spray drier* seperti invensi sebelumnya, dan menghasilkan produk berupa enzim GOD terimobil dengan persen imobilisasi sangat tinggi mencapai 100%, bersifat stabil terhadap perubahan suhu dan pH, memiliki aktivitas cukup tinggi, serta memiliki *cycle* pemakaian yang sangat tinggi hingga lebih dari 7 *cycle*.

25

### **Uraian Singkat Invensi**

Suatu proses pembuatan matriks enzim glukosa oksidase (GOD) terimobilisasi, meliputi langkah-langkah berikut:

- 30        a. Persiapan menggunakan bentonit dengan penambahan asam anorganik berupa asam klorida (HCl) dengan konsentrasi 1 M, 1,5 M, 2 M, 2,5 M dan 3 M;
- b. Melakukan refluks pada suhu 90°C selama 1 jam;

- c. Mengaduk pada suhu kamar selama 24 jam;
- d. Mencuci dengan aquadest hingga pH netral (pH 7);
- e. Mengeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 100°C selama 24 jam;
- 5 f. Mengayak dengan ayakan ukuran 140 mesh;
- g. Mencampurkan enzim GOD pada bentonit teraktifkan (hasil langkah f) dengan perbandingan bentonit teraktifkan : larutan enzim GOD adalah 0,1 – 1 gram : 1 – 5 mL; konsentrasi enzim GOD yang dipergunakan adalah sebesar 5 - 25 IU;
- 10 h. Mengaduk larutan campuran (g) dengan *rotary shaker* selama  $\pm$  24 jam pada suhu 20°C;
- i. Melakukan sentrifugasi larutan dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan matriks enzim GOD terimobil;

15 Proses pengeringan pada invensi ini, dimana penggunaan oven selama proses pengeringan tersebut tidak menggunakan aliran udara.

Matriks enzim GOD terimobil pada bentonit teraktifkan yang dihasilkan pada invensi ini memiliki persentase imobilisasi enzim GOD hingga 100%, stabil pada suhu dan pH operasional seperti enzim GOD bebas, dan memiliki *cycle* pemakaian hingga lebih dari 7 kali *cycle* dengan penurunan aktivitas hanya 30%.

20

### Uraian Singkat Gambar

**Gambar 1**, adalah difraksi sinar-X perubahan struktur bentonit alam menjadi matriks enzim GOD terimobilisasi pada bentonit-HCl 2M

25

### Uraian Lengkap Invensi

Obyek yang dihasilkan invensi ini menyediakan suatu proses pembuatan matriks enzim GOD terimobil dengan persen imobilisasi sangat tinggi dan memiliki kestabilan dan *cycle* pemakaian yang sangat baik, menggunakan bentonit alam asal Pacitan, Jawa Timur yang diaktifkan/dimodifikasi terlebih dahulu.

30

Bahan yang dipergunakan sebagai material pengimobil adalah bentonit alam dari Pacitan, Jawa Timur. Bentonit alam yang masih menyerupai batu, dihancurkan terlebih dahulu hingga menyerupai serbuk. Serbuk bentonit

selanjutnya diayak agar diperoleh ukuran partikel yang seragam sekitar 140 mesh. Bentonit alam ini masih memiliki sifat swelling yang besar yaitu mengembang dengan adanya air dan segera menyusut kembali jika air menghilang. Hal ini dapat mengurangi kemampuan bentonit dalam mengimobilisasi enzim. Oleh karena itu bentonit perlu diaktifkan salah satunya dengan penambahan asam anorganik berupa asam klorida (HCl). Tujuan dari aktivasi dengan pengasaman adalah untuk menukar kation  $\text{Ca}^{2+}$  yang ada dalam Ca-Bentonit serta melepaskan ion Al, Fe, dan Mg dan pengotor-pengotor lainnya dari kisi-kisi struktur, sehingga secara fisik bentonit tersebut menjadi lebih aktif. Selama proses aktivasi tersebut, Ca, Al, Fe, dan Mg larut dalam larutan, kemudian terjadi penyerapan asam ( $\text{H}^+$ ) ke dalam struktur bentonit, sehingga rangkaian struktur (*frame work*) dari bentonit akan mempunyai area yang lebih luas. Dengan demikian ion hidrogen dari asam akan melapisi permukaan bentonit. Pengasaman bentonit menggunakan asam HCl dilakukan dengan memanaskan campuran bentonit dan asam pada suhu  $90^\circ\text{C}$  selama 1 jam. Pengasaman dilakukan dengan perbandingan bentonit alam dan larutan asam klorida adalah 1 – 5 gram : 100 mL. Konsentrasi asam klorida yang digunakan adalah 1M; 1,5M; 2M; 2,5M dan 3M. Fungsi pemanasan ini adalah agar mempercepat proses yang terjadi, dimana mineral-mineral yang terdapat diantar lapisan bentonit akan terlarutkan serta permukaan bentonit akan terlapisi oleh ion  $\text{H}^+$  dari HCl. Setelah dipanasi, bentonit kemudian diaduk selama  $\pm 24$  jam pada suhu ruang. Hal ini bertujuan untuk memaksimalkan pengasaman yang dilakukan. Bentonit yang telah diasamkan kemudian dinetralkan agar ketika digunakan sebagai matriks pengimobilisasi tidak akan merusak enzim dengan keasaman tinggi yang dimilikinya. Bentonit yang telah netral selanjutnya disaring dan dikeringkan menggunakan oven dan digunakan sebagai material pengimobil.

Imobilisasi enzim GOD dilakukan dengan cara mencampurkan larutan enzim dengan bentonit teraktifkan dengan perbandingan bentonit teraktifkan dan larutan enzim GOD adalah 0,1 – 1 gram : 1 – 5 mL. Konsentrasi enzim GOD yang dipergunakan sebesar 5 IU; 10 IU; 15 IU; 20 IU dan 25 IU. Larutan campuran diaduk dengan *rotary shaker* selama  $\pm 24$  jam pada suhu  $20^\circ\text{C}$ . Kemudian larutan di sentrifuge dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Pellet yang diperoleh merupakan GOD yang terimobilisasi bentonit, sedangkan supernatan merupakan enzim yang tidak terimobilisasi. Supernatan diuji dengan metode Hartree Lowry

untuk mengetahui banyaknya enzim yang tidak terimobilisasi. Sedangkan pellet tersebut disuspensikan dalam 4 ml buffer fosfat pH 7. Selanjutnya diambil 1 ml hasil suspensi dan dicuci dengan buffer fosfat pH 7 hingga hasil cucian tidak menunjukkan adanya enzim GOD bebas saat dilakukan pengujian dengan Hartree Lowry. Pemisahan enzim terimobilisasi bentonit dengan buffer cucian dilakukan dengan sentrifuge pada kecepatan 11.000 rpm selama 15 menit. Hasil imobilisasi enzim GOD pada bentonit teraktifkan tersebut selanjutnya dikarakterisasi menggunakan X-Ray difraktometer, dan hasilnya ditunjukkan pada gambar 1.

10 Hasil karakterisasi XRD bentonit-HCl 2M terimobilisasi enzim GOD diberikan pada gambar 1 dan Tabel 2. Immobilisasi enzim GOD dalam bentonit-HCl 2M sangat mungkin dapat terjadi, hal ini ditandai dengan adanya perubahan ukuran pori/jarak antar lapisan bentonit. Pada bentonit-HCl 2M muncul puncak difraksi pada  $2\theta = 5,58$  derajat dengan jarak antar lapisan sebesar  $15,82 \text{ \AA}$ ,  
15 dengan intensitas difraksi sebesar 222 satuan. Jarak antar lapisan tersebut ( $d$ ) lebih besar dibandingkan dengan jarak antar lapisan pada fresh bentonit alam, yang memiliki harga  $d = 8,54 \text{ \AA}$ , dengan intensitas puncak difraksi sebesar 355 satuan. Pada bentonit-HCl 2M+Enzim terjadi perubahan jarak antar lapisan ( $d$ ) =  $15,26$  dengan harga  $2\theta = 5,78$  sedangkan intensitas difraksinya sebesar 161.  
20 Ukuran jarak antar lapisan bentonit ( $d$ ) dan penurunan intensitas difraksi ini disebabkan adanya sejumlah enzim GOD yang masuk kedalam struktur lapisan bentonit kearah horizontal sehingga jarak antar lapisan semakin kecil dan jumlah ruang kosong yang terukur semakin sedikit karena tertutup oleh enzim GOD terimobilisasi. Selain itu pengaruh HCl 2M juga dapat melarutkan pengotor. Pada  
25 bentonit alam berupa kwarsa yang ditunjukkan munculnya puncak difraksi pada  $2\theta = 27,81$  yang merupakan puncak difraksi utama mineral kwarsa. Hal ini disebabkan dengan adanya larutan HCl 2M ikatan O-Si-O struktur kerangka kwarsa akan terputus, akibatnya kristalinitas akan semakin rendah. Hal ini sangat baik untuk meningkatkan performa bentonit alam dalam menyerap enzim GOD

30 Hasil imobilisasi enzim GOD pada bentonit teraktifkan tersebut selanjutnya diuji untuk mengetahui persentase imobilisasi, kestabilan terhadap suhu dan pH, harga  $K_m$  dan  $V_{max}$ , serta *cycle* pemakaiannya seperti tertera pada tabel berikut:



Tabel 1. Pengaruh konsentrasi HCl pada pengasaman bentonit terhadap%imobilisasi enzim GOD

konsentrasi HCl pada pengasaman bentonit	% GOD terimobil
0	27,10
1 M	93,4
1,5 M	93,1
2 M	100
2,5 M	83,10
3 M	66,84

Tabel 2. Pengaruh imobilisasi enzim GOD pada bentonit teraktifkan terhadap kondisi reaksi enzimatik GOD

5

Parameter	Enzim GOD	
	terimobil	bebas
Suhu terbaik (°C)	30 - 40	30 - 40
pH terbaik	5,5 - 7	5,5 - 7
Cycle	> 7 kali, dengan penurunan aktivitas sampai cycle 7 adalah 30%	Tidak dilakukan
Aktivitas Spesifik (mmol/L.min.mg)	0,059	0,145
Km (mg/L)	8609,1087	5471,7507
Vmax (mg/L.min)	0,1834	0,2537

10

Hasil imobilisasi menunjukkan bahwa persentase enzim GOD terbaik hingga 100% diperoleh ketika digunakan konsentrasi asam korida sebesar 2,0 M. Hasil uji imobilisasi enzim terhadap kondisi reaksi enzimatik juga menunjukkan bahwa proses imobilisasi enzim ini memberikan parameter reaksi yang tidak terlalu berbeda dengan enzim bebas yang tidak terimobilisasi.

Hingga tujuh kali cycle pemakaian penurunan aktivitas yang ditunjukkan hanya sebesar 30%, padahal dalam pemakaian normal *cycle* ditentukan hingga penurunan aktivitas sebesar 100% atau tidak ditemukan aktivitas enzim lagi. Hal

ini menandakan bahwa proses imobilisasi enzim GOD pada bentonit teraktifkan tersebut dapat menghasilkan matriks yang aktif dan stabil.

**Klaim**

1. Suatu proses pembuatan matriks enzim glukosa oksidase (GOD) terimobilisasi, meliputi langkah-langkah berikut:
  - 5 a. Persiapan menggunakan bentonit alam dengan penambahan asam klorida (HCl) dengan konsentrasi 1 M, 1,5 M, 2 M, 2,5 M dan 3 M;
  - b. Melakukan refluks pada suhu 90°C selama 1 jam;
  - c. Mengaduk pada suhu kamar selama 24 jam;
  - d. Mencuci dengan aquadest hingga pH netral (pH 7);
  - 10 e. Mengeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 100°C selama 24 jam;
  - f. Mengayak dengan ayakan ukuran 140 mesh;
  - g. Mencampurkan enzim GOD pada bentonit teraktifkan (hasil langkah f) dengan perbandingan bentonit teraktifkan : larutan enzim GOD adalah 0,1
  - 15 – 1 gram : 1 – 5 mL;
  - h. Mengaduk larutan campuran (g) dengan *rotary shaker* selama  $\pm$  24 jam pada suhu 20°C;
  - i. Melakukan sentrifugasi larutan (h) dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan matriks enzim GOD terimobil.
- 20 2. Proses pembuatan matriks menurut klaim 1 yang dikarakteristikan menggunakan pengasaman HCl 2 M.

**Abstrak****PROSES IMOBILISASI ENZIM GLUKOSA OKSIDASE MENGGUNAKAN  
BENTONIT ALAM TERAKTIFKAN MELALUI PENGASAMAN**

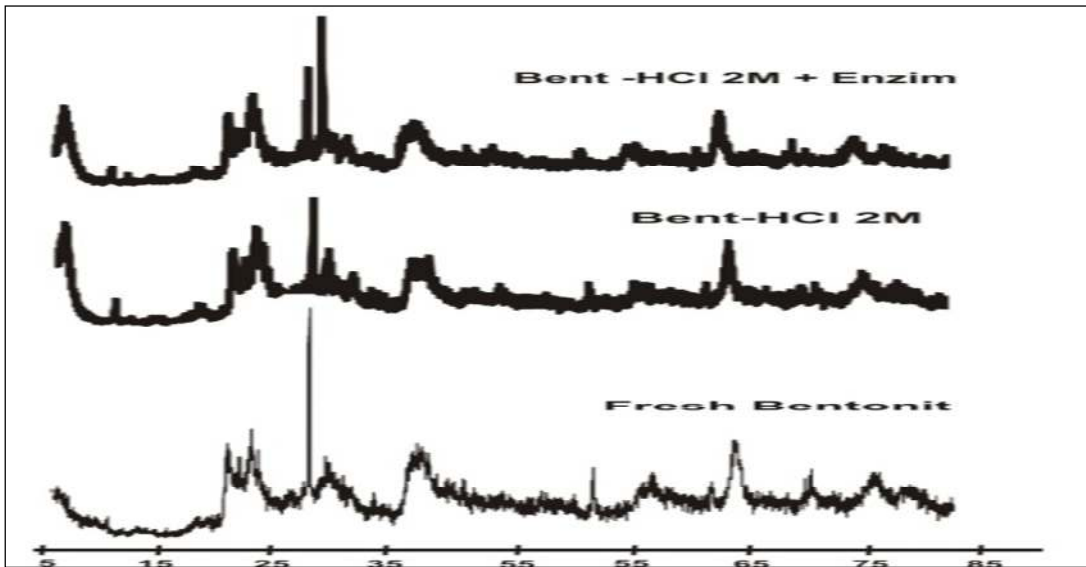
5

Pemanfaatan enzim Glukosa Oksidase (GOD) terus berkembang baik dalam bidang industri maupun dalam bidang medis, biosensor, dan sebagainya. Secara teknis sangat sulit untuk memisahkan enzim dan produk dan mendapatkan kembali enzim yang aktif diakhir reaksi, sehingga dilakukan imobilisasi enzim. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan untuk imobilisasi adalah bentonit. Untuk meningkatkan kemampuan bentonit dalam mengimobilisasi enzim, dilakukan modifikasi bentonit berupa pengasaman.

Pengasaman bentonit menggunakan asam HCl dilakukan dengan memanaskan campuran bentonit dan asam pada suhu 90°C selama 1 jam. Pengasaman dilakukan dengan perbandingan bentonit alam : larutan asam klorida adalah 1 - 5 gram : 100 mL dan konsentrasi asam yang digunakan adalah 1 M, 1,5 M, 2 M, 2,5 M dan 3 M. Imobilisasi enzim GOD dilakukan dengan cara mencampurkan larutan enzim dengan bentonit teraktifkan dengan perbandingan bentonit teraktifkan : larutan enzim GOD adalah 0,1 - 1 gram : 1 - 5 mL. Konsentrasi enzim GOD yang dipergunakan sebesar 5 IU; 10 IU; 15 IU; 20 IU dan 25 IU.

Sesuai invensi ini, enzim GOD yang terimobilisasi pada bentonit hasil pengasaman mencapai 100%. Enzim GOD terimobilisasi yang dihasilkan ini cukup stabil sehingga dapat digunakan sebanyak minimal 7 kali dengan penurunan aktivitas hanya sebesar 30%.

25



5

Gambar 1