

**SKRIPSI**

**PEMANFAATAN NATA DE COCO SEBAGAI MEDIA  
GEL ELEKTROFORESIS PADA ZAT WARNA  
REMAZOL**

**LUTFI ANDRE YAHYA  
NRP. 1412 100 085**

**Dosen Pembimbing  
Dra. Ita Ulfan, M.Si  
Dr.rer.nat. Fredy Kurniawan, M.Si**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2016**



## **SCRIPT**

### **APPLICATION OF NATA DE COCO AS GEL MEDIA ELECTROPHORESIS FOR REMAZOL DYES**

**LUTFI ANDRE YAHYA**  
**NRP. 1412 100 085**

**Advisor Lecturer**  
**Dra. Ita Ulfin, M.Si**  
**Dr.rer.nat. Fredy Kurniawan, M.Si**

**CHEMISTRY DEPARTMENT**  
**FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES**  
**INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER**  
**SURABAYA**  
**2016**

PEMANFAATAN NATA DE COCO SEBAGAI MEDIA  
GEL ELEKTROFORESIS PADA ZAT WARNA  
REMAZOL

TUGAS AKHIR

*Oleh*

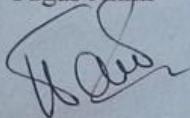
LUTFI ANDRE YAHYA

NRP 1412 100 085

SURABAYA, 28 JUNI 2016

Disetujui oleh,

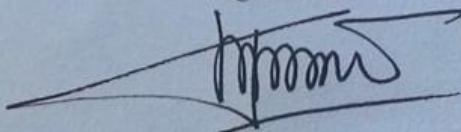
Pembimbing I  
Tugas Akhir



Dra. Ita Ulfin, M.Si

NIP 19650426 198903 2 002

Pembimbing II  
Tugas Akhir



Dr. rer. nat. Fredy Kurniawan, M.Si

NIP 19740428 199802 1 001

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia



Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc

NIP. 19710616 199703 1 002

# **PEMANFAATAN NATA DE COCO SEBAGAI MEDIA GEL ELEKTROFORESIS PADA ZAT WARNA REMAZOL**

**Nama Mahasiswa : Lutfi Andre Yahya**  
**NRP : 1412 100 085**  
**Jurusan : Kimia ITS**  
**Pembimbing I : Dra. Ita Ulfin, M.Si**  
**Pembimbing II : Dr.rer.nat. Fredy Kurniawan, M.Si**

**ABSTRAK** - Nata de coco telah digunakan sebagai pengganti media gel elektroforesis pada sampel pewarna remazol. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum proses elektroforesis pada penggunaan nata de coco sebagai media gel elektroforesis dan penggunaannya pada pemisahan gelatin. Kondisi optimum elektroforesis diperoleh dengan mengamati pengaruh umur nata de coco, variasi berbagai jenis buffer fosfat, variasi pH larutan buffer fosfat yang terbuat dari garam – garamnya, variasi tegangan, variasi volume dan waktu proses elektroforesis terhadap migrasi remazol (Remazol Red RB, Remazol Yellow FG, Remazol Brilliant Blue R, Remazol Turquoise Blue, Remazol Violet 5R). Nata de coco yang berumur 4 hari memiliki ketebalan yang sesuai yaitu 0,454 cm dan waktu inkubasi yang tidak terlalu lama sehingga umur tersebut digunakan dalam penelitian ini. Hasil resolusi elektroforesis terbaik didapatkan pada penggunaan buffer fosfat yang terbuat dari garam–garamnya. Pada pengaruh pH dinyatakan dengan kekuatan ion, dimana semakin besar kekuatan ion larutan, maka semakin jauh jarak migrasi remazol. Tegangan mempengaruhi kecepatan migrasi remazol. Volume mempengaruhi hasil resolusi elektroforesis. Waktu elektroforesis mempengaruhi jarak migrasi remazol. Kondisi optimum elektroforesis gel menggunakan nata yang didapat digunakan untuk uji pemisahan gelatin menggunakan pewarna remazol turquoise dan didapatkan dua pita pemisahan dengan jarak pita masing-masing 2 cm dan 3,6 cm.

**Kata kunci :** Nata de coco, Gel Elektroforesis, Remazol, Buffer fosfat, Gelatin

## **APPLICATION OF NATA DE COCO AS GEL MEDIA ELECTROPHORESIS FOR REMAZOL DYES**

**Name** : Lutfi Andre Yahya  
**NRP** : 1412 100 085  
**Departement** : Kimia ITS  
**Lecturer Advisor I** : Dra. Ita Ulfin, M.Si  
**Lecturer Advisor II** : Dr.rer.nat. Fredy Kurniawan, M.Si

**ABSTRACT** - Nata de coco has been used as a substitute media gel electrophoresis for remazol dyes. This invention was conducted to determine the optimum process electrophoresis using nata de coco as media gel electrophoresis and its use in the separation of gelatin. The optimum condition electrophoresis obtained by observing the effect of nata de coco's age, variations types of phosphate buffer, variation of pH value phosphate buffer made from salts, variation of voltages, variation of volume buffer and the electrophoresis duration of remazol's migration (Remazol Red RB, Remazol Yellow FG, Remazol Brilliant Blue R, Remazol Turquoise Blue, Remazol Violet 5R). Nata de coco ages four days have appropriate thickness (0,454 cm) and no long incubation time so that age of nata de coco used in this invention. The best resolution electrophoresis results obtained using phosphate buffer made of salts. On the effect of pH is expressed by ionic strength. The greater ionic strength lead the further distance migration of remazol. Voltage affect migration speed remazol. Volume influence the outcome of the resolution electrophoresis. The duration time of remazol electrophoresis affect the migration distance. Data optimum condition of gel electrophoresis used to test the separation of gelatin using dyes Remazol turquoise and obtained two band separation. First band is 2 cm and second band is 3,6 cm.

**Key Words** : Nata de coco, Gel Electrophoresis, Remazol Dyes, Phosphate Buffer, Gelatin

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Permasalahan .....	4
1.3 Batasan Masalah .....	4
1.4 Tujuan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1 Nata de coco .....	7
2.1.1 Acetobacter Xylinum .....	7
2.1.2 Bioselulosa .....	9
2.2 Elektroforesis .....	10
2.2.1 Pengertian elektroforesis .....	10
2.2.2 Prinsip Elektroforesis .....	11
2.3 Elektroforesis gel .....	13
2.3.1 Macam – macam gel .....	14
2.3.2 Kondisi gel .....	15
2.3.3 Sistem buffer gel elektroforesis .....	16
2.3.4 Pewarnaan .....	18
2.4 Remazol .....	19
2.5 Gerak molekul .....	21
2.5.1 Konduktivitas larutan .....	21
2.5.2 Kekuatan ion .....	22
2.5.3 Mobilitas ion .....	23

2.6	Gelatin .....	24
<b>BAB III</b>	<b>METODOLOGI PERCOBAAN .....</b>	<b>27</b>
3.1	Alat dan bahan .....	27
3.1.1	Alat .....	27
3.1.2	Bahan .....	27
3.2	Prosedur penelitian .....	27
3.2.1	Media nata de coco.....	27
3.2.1.1	Pembuatan media nata de coco .....	27
3.2.1.2	Preparasi nata de coco .....	28
3.2.1.3	Pengukuran ketebalan nata de coco .....	28
3.2.1.4	Perhitungan berat selulosa nata de coco dan kadar air.....	28
3.2.1.4	Pengamatan struktur nata de coco menggunakan mikroskop .....	29
3.2.2	Pembuatan sample pewarna remazol .....	29
3.2.3	Buffer fosfat .....	29
3.2.3.1	Pembuatan larutan buffer fosfat pH 9 berbagai jenis .....	29
3.2.3.2	Pembuatan larutan buffer fosfat pH 2-12 .....	30
3.2.4	Metode elektroforesis .....	30
3.2.5	Optimasi sistem gel elektroforesis menggunakan media nata de coco .....	31
3.2.5.1	Pengaruh umur nata de coco terhadap jarak migrasi remazol .....	31
3.2.5.2	Pengaruh buffer fosfat pH 9 berbagai jenis terhadap hasil elektroforesis .....	31
3.2.5.3	Pengaruh pH larutan buffer fosfat terhadap hasil elektroforesis .....	31
3.2.5.4	Pengaruh tinggi buffer dan volume larutan buffer terhadap hasil elektroforesis .....	32
3.2.5.5	Pengaruh tegangan terhadap hasil elektroforesis .....	32
3.2.5.6	Pengaruh waktu elektroforesis terhadap hasil elektroforesis .....	32
3.2.6	Aplikasi penggunaan remazol sebagai	33

	pewarnaan dalam pemisahan gelatin menggunakan gel nata de coco dalam proses gel elektroforesis .....	
3.2.6.1	Pembuatan gelatin .....	33
3.2.6.2	Preparasi sample gelatin .....	33
3.2.6.3	Gel elektroforesis menggunakan sample gelatin .....	33
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	<b>35</b>
4.1	Pembuatan nata de coco .....	35
4.2	Pengaruh umur nata de coco terhadap migrasi pewarna remazol .....	38
4.3	Pengaruh berbagai jenis komponen buffer fosfat terhadap hasil elektroforesis .....	42
4.4	Pengaruh pH buffer garam terhadap hasil elektroforesis .....	46
4.5	Pengaruh volume buffer terhadap migrasi remazol .....	54
4.6	Pengaruh tegangan terhadap migrasi remazol.	56
4.7	Pengaruh waktu elektroforesis terhadap migrasi remazol .....	60
4.8	Uji coba penggunaan remazol sebagai pewarnaan dalam pemisahan gelatin menggunakan gel nata de coco dalam proses gel elektroforesis .....	65
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b>	<b>69</b>
5.1	Kesimpulan .....	69
5.2	Saran. ....	69
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....		<b>71</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....		<b>79</b>
<b>BIODATA PENULIS</b> .....		<b>119</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Komposisi kimia dalam 100 gram air kelapa	7
Tabel 3.1	Komposisi pembuatan buffer pH 9	29
Tabel 3.2	Komposisi pembuatan buffer pH 2-12	30
Tabel 4.1	Uji LSD perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna dalam berbagai umur nata de coco	40
Tabel 4.2	Uji LSD perbedaan migrasi antara zat warna dalam umur nata de coco yang sama	41
Tabel 4.3	Hasil perhitungan konduktivitas molar buffer	43
Tabel 4.4	Uji LSD perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna dalam berbagai nilai pH buffer	47
Tabel 4.5	Uji LSD perbedaan migrasi antara zat warna dalam nilai pH yang sama	49
Tabel 4.6	Uji LSD perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna dalam berbagai tegangan	59
Tabel 4.7	Uji LSD perbedaan migrasi antara zat warna dalam nilai tegangan yang sama	59
Tabel 4.8	Uji LSD perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna dalam berbagai durasi waktu elektroforesis	61
Tabel 4.9	Uji LSD perbedaan migrasi antara zat warna dalam durasi waktu yang sama	61
Tabel 4.10	Ukuran dan bentuk remazol menggunakan <i>software chemdraw</i>	63

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur kimia selulosa yang menunjukkan adanya ikatan intra-hidrogen dan inter-hidrogen	9
Gambar 2.2	Morfologi nata de coco dengan pengamatan SEM	10
Gambar 2.3	Pemisahan molekul berdasarkan gradien pH	12
Gambar 2.4	Pemisahan molekul berdasarkan bentuk dan massa molekul	13
Gambar 2.5	Polimerisasi akrilamida untuk membentuk gel poliakrilamid	14
Gambar 2.6	Struktur agarosa	15
Gambar 2.7	Persebaran pH buffer fosfat	17
Gambar 2.8	Struktur remazol red RB	19
Gambar 2.9	Struktur remazol yellow FG	19
Gambar 2.10	Struktur remazol brilliant blue R	20
Gambar 2.11	Remazol turquoise blue G	20
Gambar 2.12	Struktur remazol violet 5R	21
Gambar 2.13	Struktur Gelatin	25
Gambar 2.14	Hasil pemisahan gelatin sapi dan babi menggunakan SDS-PAGE	25
Gambar 4.1	Produk nata de coco	35
Gambar 4.2	Hubungan umur nata de coco terhadap ketebalan nata de coco dan berat selulosa.	36
Gambar 4.3	Penampakan membusur nata de coco umur (a) 4 hari (b) 7 hari menggunakan mikroskop perbesaran 1000x	37
Gambar 4.4	Proses elektroforesis menggunakan nata de coco dengan sampel zat warna remazol	38
Gambar 4.5	Pengaruh umur nata de coco terhadap migrasi 5 pewarna remazol	39
Gambar 4.6	Pengaruh buffer fosfat pH 9 berbagai	43

	jenis terhadap migrasi remazol	
Gambar 4.7	Hubungan penggunaan jenis buffer fosfat dengan suhu yang dihasilkan selama proses elektroforesis	44
Gambar 4.8	Hasil elektroforesis terhadap berbagai jenis komposisi bufffer fosfat	45
Gambar 4.9	(a) Penggunaan dua sisi nata de coco (b) Nata de coco yang sudah dicuci	46
Gambar 4.10	Migrasi remazol red RB pada berbagai pH	50
Gambar 4.11	Migrasi remazol yellow FG pada berbagai pH	51
Gambar 4.12	Migrasi remazol brilliant blue R pada berbagai pH	51
Gambar 4.13	Migrasi remazol turquoise blue G pada berbagai pH	52
Gambar 4.14	Migrasi remazol violet 5R pada berbagai pH	52
Gambar 4.15	Hasil resolusi elektroforesis terhadap variasi volume buffer yang digunakan.	53
Gambar 4.16	Pengaruh volume terhadap peningkatan suhu elektroforesis	55
Gambar 4.17	Pengaruh tegangan terhadap migrasi remazol	56
Gambar 4.18	Pengaruh tegangan terhadap peningkatan suhu larutan buffer	57
Gambar 4.19	Pengaruh waktu elektroforesis terhadap jarak migrasi remazol	58
Gambar 4.20	Pengaruh waktu elektroforesis terhadap peningkatan suhu	62
Gambar 4.21	Pemisahan gelatin dengan prestaining menggunakan remazol dengan media gel nata de coco	64
Gambar 4.22	Hasil resolusi elektroforesis remazol untuk (a) remazol red (b) remazol yellow (c) remazol violet	65
Gambar 4.23	Pemisahan gelatin dengan prestaining	66

Gambar 4.24 menggunakan remazol dengan media gel nata de coco Hasil pemisahan gelatin menggunakan SDS-PAGE elektroforesis 67

## DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN A	Skema Kerja	77
LAMPIRAN B	Perhitungan	78
LAMPIRAN C	Analisis Data Hasil Penelitian	84
LAMPIRAN D	Foto Dokumentasi Penelitian	109
LAMPIRAN E	Perhitungan Struktur Molekul Remazol	115

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. Latar Belakang**

Metode pemisahan telah banyak dikembangkan oleh peneliti saat ini, salah satu diantaranya adalah elektroforesis yang merupakan pengembangan di bidang biologi molekuler. Metode elektroforesis terus berkembang dan saat ini banyak digunakan dalam proses pemisahan ion – ion (baik kation maupun anion) (Nogueira, 2011).

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan komponen atau molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya dalam aliran medan listrik yang diberikan (Voet et al., 2011). Perbedaan tingkat migrasi disebabkan oleh perbedaan ukuran dan berat molekul serta muatan listrik yang dimiliki oleh molekul yang akan dipisahkan (Holde et al., 2006).

Metode elektroforesis terbagi atas beberapa jenis berdasarkan media yang digunakan yaitu elektroforesis kertas, gel elektroforesis dan elektroforesis kapiler. Metode elektroforesis yang sering digunakan adalah gel elektroforesis. Gel elektroforesis banyak digunakan untuk penentuan suatu protein maupun asam amino (McKee, 2012). Gel elektroforesis menggunakan matrik/gel yang berfungsi untuk meminimalisir konveksi, sebagai tempat Bergeraknya molekul dan sebagai penyaring ukuran molekul (Holde et al., 2006). Keuntungan dari metode gel elektroforesis adalah harga yang relatif murah dan dalam satu kali analisis bisa digunakan untuk beberapa sampel tergantung dari ukuran lebar gel yang digunakan.

Gel elektroforesis pada prinsipnya melibatkan fase diam yang berupa gel. Fasa diam yang sudah pernah digunakan antara lain gel agarosa, gel poliakrilamid dan gel pati (Reddy & Raju, 2012). Ketiga gel tersebut merupakan polimer yang berikatan-silang yang komposisinya dan porositasnya dipilih berdasarkan karakter dari molekul yang akan dipisahkan. Konsentrasi gel dapat diatur untuk mendapatkan pori – pori gel yang diinginkan (Holde et al.,

2006). Media gel yang digunakan terus mengalami perkembangan misalnya dengan mendenaturasi struktur gel (Formin et al., 2002), mengatur kerapatannya maupun menambahkan gugus didalamnya seperti yang dilakukan pada SDS-PAGE (Voet et al., 2011).

Media gel yang telah digunakan pada penelitian sebelumnya memiliki kelemahan yaitu harga yang relatif mahal, karena diperlukannya sintesis untuk mendapatkannya seperti agarosa yang dibuat dari ekstrak alga (Watson, 2009), dan yang sifatnya beracun seperti akrilamid (Mickelson et al., 2004). Oleh karena itu perlu dilakukan terobosan baru pembuatan media untuk pengembangan metode gel elektroforesis ini.

Media baru yang diusulkan sebagai gel elektroforesis adalah nata de coco. Nata de coco merupakan bioselulosa yang mengandung air sekitar 98% dengan tekstur agak kenyal, padat dan kokoh, berwarna putih dan transparan terbentuk dari aktifitas organisme bakteri *Acetobacter xylinum* (Prescot et al., 1990). Nata de coco dibuat dari limbah air kelapa, sehingga penggunaan media ini cukup murah. Nata de coco juga tidak berbahaya bagi kesehatan karena nata de coco biasanya digunakan sebagai makanan (Sunarsini, 2010).

Nata de coco terbentuk dari aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum* yang menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menyusun (mempolimerisasi) zat gula (dalam hal ini glukosa) menjadi ribuan rantai (homopolimer) serat atau selulosa (Mandel, 2004). Ribuan serat selulosa akhirnya nampak padat berwarna putih hingga transparan yang disebut dengan nata de coco. Pembentukan rantai serat selulosa ini akan bertambah banyak dan padat dengan semakin lamanya masa inkubasi yang dilakukan, sehingga lama inkubasi menghasilkan nata de coco yang memiliki kerapatan pori yang berbeda beda (Oktavianti, 2003).

Gel elektroforesis memerlukan larutan elektrolit yang berfungsi sebagai penghantar arus listrik dalam elektroforesis. Larutan elektrolit yang biasa digunakan adalah buffer/penyangga. Pada penelitian ini larutan buffer yang

digunakan adalah buffer fosfat. Buffer fosfat sudah sering digunakan dan pertama kali digunakan oleh Jorgenson dan Lukacs yang mengawali penggunaan buffer phosphate di tahun 1981 (Jorgenson, 1981). Salah satu keunggulan buffer fosfat adalah area kerja buffer fosfat sangat lebar yaitu dari asam sampai basa. Hal ini dikarenakan asam fosfat adalah trivalen dengan nilai pKa masing – masing 2,12; 7,47; dan 12,36 yang bisa mempertahankan penyanggaan pH (Gebauer, 2000).

Salah satu aspek yang penting dari teknik elektroforesis gel adalah pewarnaan (Reddy & Raju, 2012). Penampakan pita yang terbentuk selama proses elektroforesis, menjadi masalah utama dalam identifikasi sampel. Penampakan pita di akhir elektroforesis lebih susah karena dibutuhkan volume larutan yang banyak, prosedur yang panjang, memerlukan penggunaan senyawa kompleks dan mahal (Reznick, 1973). Pewarnaan diawal dilakukan agar kerugian pada proses pewarnaan dapat dihindari dengan cara penggunaan pewarna yang dapat berikatan kovalen dengan sampel yang ingin dipisahkan sehingga pita pemisahan bisa diamati.

Jenis pewarna yang sudah digunakan bermacam – macam, diantaranya adalah Ethidium bromida (Sanderson, et al., 2014), Amido Black B, Sudan Black B. (Narayan & Kummerow, 1966), Remazol (Griffith, 1972) dan Coomassie Brilliant Blue (Ausubel, 1992). Pada penelitian kali ini akan digunakan pewarna remazol karena remazol mudah didapatkan dan harga yang terjangkau.

Griffith memperkenalkan penggunaan *reactive dye anionic* pertama kali pada tahun 1972 menggunakan remazol sebagai pewarna dalam pemisahan protein pada Poliakrilamid Gel Elektroforesis (PAGE) (Griffith, 1972). Remazol merupakan pewarna reaktif kelompok etilsulfonil yang memiliki muatan negatif. Jenis – jenis remazol beragam, dimana setiap jenis memiliki struktur, muatan dan warna yang berbeda-beda.

Lima jenis remazol (Remazol Red RB, Remazol Yellow FG, Remazol Brilliant Blue R, Remazol Turquoise



Blue G dan Remazol Violet 5R) yang berbeda digunakan dalam penelitian ini untuk mempelajari penggunaan nata de coco sebagai media dalam gel elektroforesis serta untuk mempelajari karakteristik migrasi dari remazol. Remazol sebagai pewarna akan diujikan sebagai pewarnaan awal (*prestaining*) gelatin dalam gel elektroforesis menggunakan media nata de coco.

## **1.2. Permasalahan**

Berdasarkan uraian diatas, permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini adalah apakah nata de coco dapat digunakan sebagai media gel elektroforesis menggunakan sampel remazol dengan melihat jarak migrasinya. Pada penggunaan nata de coco sebagai media gel elektroforesis perlu dicari kondisi optimum proses gel elektroforesis serta ujicoba aplikasi pemisahan gelatin dengan *prestaining* menggunakan remazol pada media gel elektroforesis.

## **1.3. Batasan Penelitian**

Batasan penelitian ini adalah:

1. Nata de coco yang digunakan berumur 3 hari – 8 hari
2. Kondisi optimum penggunaan nata de coco sebagai gel elektroforesis didasarkan pada pengaruh tegangan (75 V – 150 V), volume (tinggi buffer) (0,7cm – 2,5 cm), lama elektroforesis (10 menit – 50 menit) dan pengaruh buffer fosfat (jenis komponen dan pengaruh pH 2 – 14).
3. Data kuantitatif yang diambil adalah jarak migrasi.
4. Remazol yang digunakan Remazol Red RB, Remazol Yellow FG, Remazol Brilliant Blue R, Remazol Turquoise Blue G dan Remazol Violet 5R yang didapatkan dari rumah batik di Paciran Lamongan
5. Gelatin yang digunakan sebagai sampel ujicoba pemisahan adalah gelatin sapi, gelatin kapsul dan gelatin komersial SAP.

#### **1.4. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah nata de coco dapat digunakan sebagai media gel elektroforesis, untuk mengetahui kondisi optimum proses gel elektroforesis menggunakan media gel nata de coco dan untuk mengetahui pemisahan gelatin menggunakan elektroforesis gel nata de coco.

#### **1.5. Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah untuk memberikan kontribusi penggunaan media gel baru pada metode pemisahan gel elektroforesis yaitu nata de coco yang berasal dari limbah air kelapa.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Nata de coco

Nata de coco berasal dari Filipina yang merupakan salah satu negara penghasil kelapa yang cukup besar di dunia. Kata nata berasal dari *nadar* (Spanyol) yang berarti berenang, istilah tersebut berasal dari kata latin *natare* yang berarti terapung. Sedangkan coco diambil dari nama tanaman kelapa (*coconut*) (Sunarsih, 2010). Nata de coco merupakan bioselulosa yang mengandung air sekitar 98% dengan tekstur agak kenyal, padat dan kokoh, bewarna putih dan transparan yang terbentuk dari aktifitas organisme bakteri *Acetobacter xylinum* (Prescot et al., 1990).

Nata de coco dibuat didalam media air kelapa. Kandungan karbohidrat dan nutrisi lainnya pada air kelapa menyebabkan air kelapa menjadi media yang bagus dalam pembuatan nata. Kandungan kimia air kelapa ditunjukkan pada Tabel 2.1

Tabel 2.1. Kandungan kimia dalam 100 gram air kelapa

Komposisi	Kadar
Protein	0,2 g
Lemak	1,0 g
Karbohidrat	3,8 g
Kalsium	15,0 g
Fosfor	8,0 g
Besi	0,2 g
Air	95,5 g

(Palungkun, 2004)

#### 2.1.1. *Acetobacter Xylinum*

*Acetobacter xylinum* atau biasa juga disebut *Gluconacetobacter xylinus* merupakan bakteri berbentuk batang pendek dan tergolong ke dalam jenis bakteri gram negatif, memiliki lebar 0,5-1  $\mu\text{m}$  dan panjang 2-10  $\mu\text{m}$ .

Klasifikasi ilmiah bakteri selulosa atau *A. xylinum* adalah sebagai berikut :

<i>Kingdom</i>	: Bacteria
<i>Phylum</i>	: Proteobacteria
<i>Classis</i>	: Alpha Pro bacteria
<i>Ordo</i>	: Rhodospirillales
<i>Familia</i>	: Pseudomonadaceae
<i>Genus</i>	: <i>Acetobacter</i>
<i>Species</i>	: <i>Acetobacter xylinum</i>

(Bayuana, 2015)

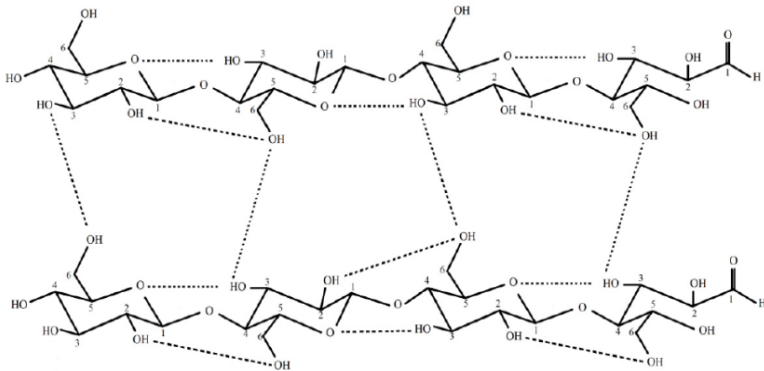
Pada proses pertumbuhan *A. xylinum* diperlukan sumber nutrisi C, H, dan N serta mineral. Proses pertumbuhan bakteri dilakukan dalam proses yang terkontrol dalam medium air kelapa. Air kelapa mengandung sebagian sumber nutrisi yang dibutuhkan akan tetapi kebutuhan akan substrat makro seperti sumber C dan N masih harus tetap ditambah agar hasil nata yang dihasilkan optimal, sehingga kekurangan nutrisi yang diperlukan harus ditambahkan dalam proses fermentasi. Penambahan sumber karbon dapat berasal dari sukrosa, glukosa, fruktosa, dan tepung. Sumber nitrogen dapat ditambahkan dari urea, ZA atau ammonium sulfat serta ekstrak *yeast (khamir)* (Iguchi et al., 2000).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *A. xylinum* selain nutrisi untuk media adalah tingkat keasaman media, suhu, dan udara (oksigen). Meskipun bakteri *A. xylinum* dapat tumbuh pada pH 3,5 – 7,5, namun akan tumbuh optimal bila pH nya 4,3. Asam asetat atau asam cuka digunakan untuk menurunkan pH atau meningkatkan keasaman air kelapa. Suhu ideal bagi pertumbuhan bakteri *A. xylinum* pada suhu 28 – 31°C. Bakteri ini memerlukan oksigen, sehingga dalam fermentasi tidak perlu ditutup rapat namun hanya ditutup untuk mencegah kotoran masuk kedalam media yang dapat mengakibatkan kontaminasi. (Ulfin et al., 2012). *A. xylinum* menghasilkan selulosa sebagai produk metabolit sekunder, sedangkan produk metabolit primernya adalah asam

asetat. Selulosa yang dihasilkan merupakan bioselulosa (Sunarsih, 2010).

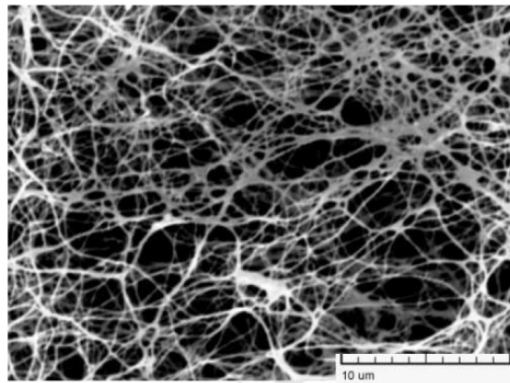
### 2.1.2. Bioselulosa

Bioselulosa terdiri dari sejumlah membran hampir tidak terhingga yang sangat rapat dan dapat menyerap air seratus kali melebihi berat bioselulosa itu sendiri. Kerapatan membran kering bioselulosa menunjukkan ketahanan yang lebih baik daripada selulosa yang tersusun atas zat kimia (Worlform et al., 1946). Gugus – gugus fungsional yang terdapat pada rantai selulosa adalah gugus – gugus hidroksil, tiga diantaranya terikat pada setiap unit glukosa. Gugus – gugus fungsional tersebut dapat mengadakan interaksi satu dengan yang lainnya membentuk struktur supramolekul dan menentukan sifat – sifat fisik dan kimia selulosa (UI-Islam et al., 2012). Struktur kimia selulosa seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2. 1. Struktur kimia selulosa yang menunjukkan adanya ikatan intra-hidrogen dan inter-hidrogen (UI-Islam et al., 2012).

Bioselulosa nata dikeringkan dengan *freeze dryer* sehingga dihasilkan lapisan putih dan dilakukan pengamatan dengan SEM oleh (Rozenberga et al., 2015) dan diketahui morfologi nata de coco seperti pada Gambar 2.2.



Gambar 2. 2. Morfologi nata de coco dengan pengamatan SEM (Rozenberga et al., 2015)

## **2.2. Elektroforesis**

### **2.2.1. Pengertian elektroforesis**

Elektroforesis adalah suatu cara analisis kimiawi yang didasarkan pada pergerakan molekul-molekul protein bermuatan di dalam medan listrik (titik isoelektrik). Pergerakan molekul dalam medan listrik dipengaruhi oleh bentuk, ukuran, besar muatan dan sifat kimia dari molekul (Titrawani, 1996). Pemisahan dilakukan berdasarkan perbedaan ukuran berat molekul dan muatan listrik yang dikandung oleh makro-molekul tersebut. Jika arus listrik dialirkan pada suatu medium penyangga yang telah berisi protein plasma, maka komponen-komponen protein tersebut akan bermigrasi (Richardson et al., 1986).

Metode elektroforesis telah digunakan dan dikembangkan di dalam teknik analisis untuk penelitian-penelitian di bidang biologi dan genetika. Metode tersebut berkembang pesat karena pengerjaannya yang sederhana dan mudah. Di bidang ilmu biologi ataupun biologi molekuler, metode elektroforesis banyak digunakan untuk taksonomi, sistematik dan genetik dari hewan ataupun tumbuhan. Metode elektroforesis baru benar-benar dipakai oleh para peneliti genetik di tahun 1957 setelah Hunter & Moller mempunyai ide penelitian dengan menggunakan sifat-sifat enzim sebagai

katalisator untuk memperlihatkan keberadaannya secara Kimia Histologi (Pasteur et al., 1988).

Metode elektroforesis memiliki beberapa jenis, berdasarkan media yang digunakan yaitu elektroforesis kertas, gel elektroforesis dan elektroforesis kapiler. Elektroforesis yang sering digunakan adalah gel elektroforesis yang diaplikasikan untuk penentuan suatu protein maupun asam amino (McKee & McKee, 2012).

### 2.2.2. Prinsip Elektroforesis

Jika molekul bermuatan ditempatkan dalam medan listrik dengan kekuatan medan  $E$ , mereka akan bergerak bebas menuju elektroda dengan muatan yang berlawanan. Pergerakan molekul tergantung pada karakteristik fisik masing-masing molekul serta jenis sistem eksperimental digunakan. Kecepatan gerakan,  $v$ , dari molekul bermuatan dalam medan listrik tergantung pada variabel yang dijelaskan oleh Persamaan 2.1.

$$v = E \cdot q / f \quad (2.1)$$

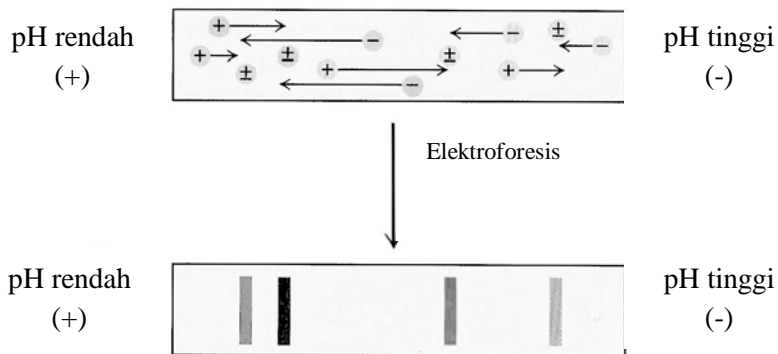
dimana  $f$  adalah koefisien gesekan dan  $q$  adalah muatan total pada molekul (Adamson & Reynolds, 1997). Koefisien gesek menjelaskan hambatan gesek untuk mobilitas dan tergantung pada sejumlah faktor yaitu massa molekul, kepadatan, viskositas penyangga dan porositas matriks. Total muatan ditentukan oleh jumlah muatan positif dan negatif dalam molekul.

Muatan pada protein disebabkan adanya muatan yang timbul dari asam amino dan gugus lainnya yang sudah dimodifikasi melalui proses seperti deamidasi, asilasi atau fosforilasi. DNA secara khusus memiliki muatan yang seragam bermuatan negatif dikarenakan adanya gugus fosfat pada nukleotida. Pada persamaan 2.1 disebutkan bahwa, secara umum molekul akan bergerak lebih cepat ketika muatan total meningkat, kuat medan listrik semakin tinggi dan  $f$  menurun (bergantung pada bentuk dan massa molekul). Molekul dengan



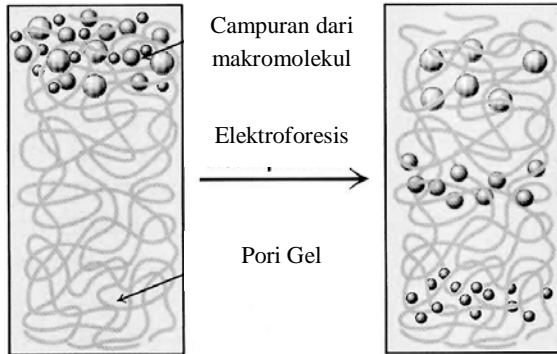
muatan total yang sama akan terpisah karena adanya perbedaan koefisien gesek, sementara molekul yang memiliki bentuk dan masa yang relatif sama akan terpisah satu sama lain berdasarkan perbedaan muatan totalnya. Oleh karena itu pemisahan menggunakan elektroforesis ini sering dilakukan.

Pemisahan elektroforesis terdiri atas dua model pemisahan. Model yang pertama dipengaruhi oleh gradien pH. Molekul-molekul bergerak menuju anoda atau katoda hingga mencapai posisi di gradien pH dengan muatan molekul adalah nol (Gambar 2.3). Derajat keasaman (pH) ini disebut titik isoelektrik (pI). Pada titik ini, molekul tidak memiliki muatan dan medan listrik tidak memiliki pengaruh pada kondisi tersebut (Westemeier, 2004)



Gambar 2.3. Pemisahan molekul berdasarkan gradien pH (Westemeier, 2004).

Model pemisahan yang kedua adalah molekul-molekul yang memiliki bentuk yang berbeda dipisahkan menurut mobilitas elektroforesis mereka. Molekul-molekul dengan mobilitas tertinggi langsung bergerak lebih dulu, sedangkan molekul-molekul yang memiliki mobilitas rendah bermigrasi dibelakangnya seperti yang diilustrasikan pada Gambar 2.4 (Westemeier, 2004).



Gambar 2.4. Pemisahan molekul berdasarkan bentuk dan massa molekul (Westemeier, 2004).

### 2.3. Gel elektroforesis

Elektroforesis memiliki pengertian *Electromotive Force* (EMF) yaitu menggerakkan suatu molekul melewati matriks gel. Gel elektroforesis adalah metode analisis dan pemisahan dari makromolekul ( DNA, RNA dan protein) dan fragmentasi yang didasarkan pada ukuran dan muatannya (Robyt & White, 1990).

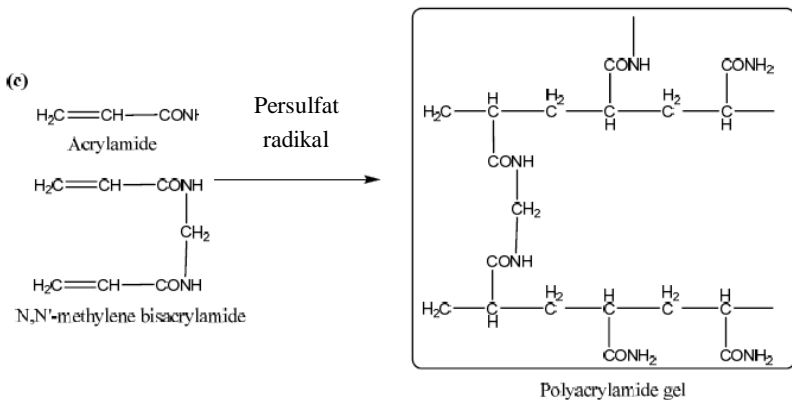
Gel Elektroforesis menggunakan gel sebagai media *anticonvective* dan/atau sebagai media penyaring molekul bermuatan selama proses elektroforesis sehingga menahan pergerakan dari molekul. Gel menekan adanya koveksi termal yang disebabkan adanya arus listrik. Gel juga berfungsi media untuk penyajian interpretasi data dalam akhir analisis (Berg et al., 2002). Istilah gel yang dimaksudkan dalam pembahasan ini adalah matriks yang berisi dan dapat memisahkan target molekul. Pada umumnya, gel merupakan polimer yang berikatan-silang yang komposisinya dan porositasnya dipilih berdasarkan karakter dari molekul yang akan dipisahkan.

### 2.3.1. Macam – macam gel

#### 1. Poliakrilamid

Poliakrilamid merupakan polimer dari monomer akrilamid. Saat poliakrilamid berbentuk gel, maka akan terbentuk pori-pori kecil yang memungkinkan molekul bergerak (migrasi). Gel poliakrilamid terbentuk dari proses polimerisasi radikal bebas akrilamid dan agen *cross linking* N N' methylene bis acrylamide seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.5.

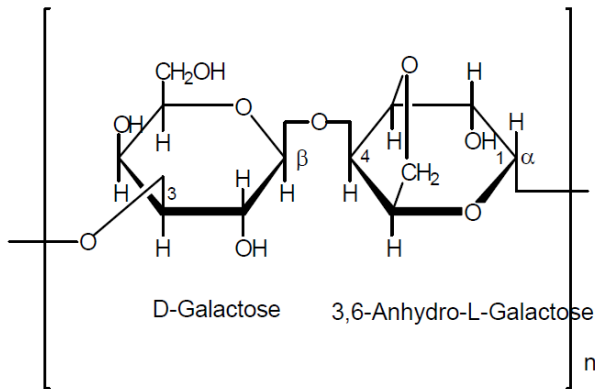
Komponen penting yang membentuk gel poliakrilamida adalah Akrilamida, sebagai senyawa utama yang menyusun gel dan merupakan senyawa karsinogenik; Bis akrilamida, berfungsi sebagai *cross-linking* agent yang membentuk kisi-kisi bersama polimer akrilamida; Amonium persulfat (APS), berfungsi sebagai inisiator yang mengaktifkan akrilamida agar bereaksi dengan molekul akrilamida yang lainnya membentuk rantai polimer yang panjang; TEMED (N,N,N',N' tetrametilendiamin), berfungsi sebagai katalisator reaksi polimerisasi akrilamid menjadi gel poliakrilamid sehingga dapat digunakan dalam pemisahan protein (Mickelson et al., 2004).



Gambar 2. 5. Polimerisasi akrilamida untuk membentuk gel poliakrilamid

## 2. Agarosa

Agarosa diisolasi dari agar atau agar-bearing alga laut. Secara struktur, agarosa merupakan polimer linier yang terdiri dari D-Galaktosa dan 3,6-anhidro-L-Galaktosa yang bersilangan seperti yang terlihat pada Gambar 2.6. (Aldrich, 1996). Gel agarosa dibuat dengan melelehkan agarosa dengan buffer dan kemudian dituangkan pada cetakan dan diamkan sampai dingin. Setelah mengeras, agarosa membentuk matriks dengan kerapatan yang ditentukan oleh konsentrasi agarosa (Watson, 2009).



Gambar 2. 6 Struktur Agarosa

## 3. Pati

Gel dibuat dari ekstrak pati yang didapatkan dari tumbuhan misalnya ubi dan kentang. Gel pati yang terbentuk memiliki warna yang cukup buram daripada akrilamida atau agarosa. Pada penggunaan gel pati dapat memisahkan protein yang tidak didenaturasi. Konsentrasi gel pati yang biasa digunakan adalah 5 – 10 % (Gordon, 1975).

### 2.3.2. Kondisi gel

#### 1. Denaturing

*Denaturing Gel* dijalankan dalam kondisi analit yang telah rusak sehingga bentuk molekulnya berbentuk rantai lurus, sehingga mobilitas setiap makromolekul hanya

bergantung pada panjang linear dan massa. Struktur sekunder, tersier dan quartener daribiomolekul dirusak sehingga hanya menyisakan bentuk primernya saja yang akan dianalisis (Formin et al., 2002).

Asam nukleat sering didenaturasi dengan urea, sedangkan golongan protein didenaturasi dengan natrium dedosil sulfat. Untuk denaturasi protein penuh, penting untuk mengurangi ikatan kovalen dari ikatan disulfida yang menstabilkan ikatan tersier dan quartenernya. Metode yang sering digunakan adalah metode *reducing* PAGE. Kondisi *reducing* biasanya dilakukan dengan penambahan beta-mercaptoethanol atau dithiothreitol (Schelp & Kaaden, 1989).

## 2. Native

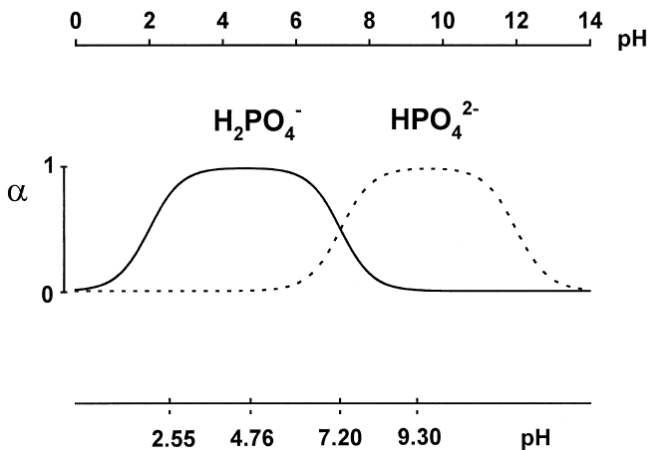
Gel tanpa perlakuan dijalankan dalam kondisi *non-denaturasi*, sehingga struktur alami tetap dipertahankan. Hal ini memungkinkan bentuk lipatan – lipatan kompleks yang berkumpul akan mempengaruhi mobilitas sampel yang akan dipisahkan. Molekul -molekul yang akan dipisahkan (biasanya protein dan asam nukleat) tidak hanya terpisah berdasarkan massa molekul dan muatannya tetapi juga luas permukaannya, oleh karena itu percobaannya bergantung pada bentuk dari struktur keseluruhan (Garcia-Descalzo et al., 2012).

### 2.3.3.Sistem buffer gel elektroforesis

Buffer dalam gel elektroforesis digunakan untuk menyediakan ion yang berfungsi untuk mengalirkan arus dan untuk mempertahankan . Buffer yang baik menghasilkan panas yang rendah, dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama dan memiliki konduktivitas yang baik. Konsentrasi yang cukup pekat akan meningkatkan pemanasan, yang berakibat gel meleleh (Lodge et al., 2007). Pengaruh berkurangnya ata bertambahnya kapasitas buffer pH dapat diminimalkan dengan cara resirkulasi. Hal ini biasanya dilakukan jika akan digunakan buffer elektroforesis berulang kali atau kapastitas buffer rendah (Sambrook & Russel, 2001).

Beberapa buffer yang biasa digunakan untuk pemisahan protein dan asam nukleat antara lain adalah Tris-asetat dengan EDTA (TAE; 40 mM Tris-asetat, 1 mM EDTA), Trisborate dengan EDTA (TBE; 89 mM Tris-borat, 2 mM EDTA) dan Tris-fosfat dengan EDTA (TPE) pada konsentrasi 50 mM dan pH 7,5-7,8 (Sambrook & Russel, 2001). Selain itu jenis buffer lain yang biasa digunakan untuk pemisahan dalam elektroforesis adalah asam asetat, asam borat, asam sitrat, glycine, MOPS, asam fosfat, Taurine dan Histidine.

Buffer fosfat sudah sering digunakan dan pertama kali digunakan oleh Jorgenson dan Lukacs yang mengawali penggunaan buffer phosphate di tahun 1981 (Jorgenson, 1981). Salah satu keunggulan buffer fosfat adalah area kerja buffer fosfat sangat lebar yaitu dari asam sampai basa. Hal ini dikarenakan asam fosfat adalah trivalen dengan nilai pKa masing-masing 2,12; 7,47; dan 12,36 yang bisa mempertahankan penyanggaan pH (Gebauer, 2000). Karakter range yang luas tersebut merata dengan adanya anion monovalent dan divalent pospat dalam asam maupun basa, seperti yang terlihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2. 7. Persebaran pH Buffer fosfat (Sambrook&Russel, 2001)

### 2.3.4. Pewarnaan

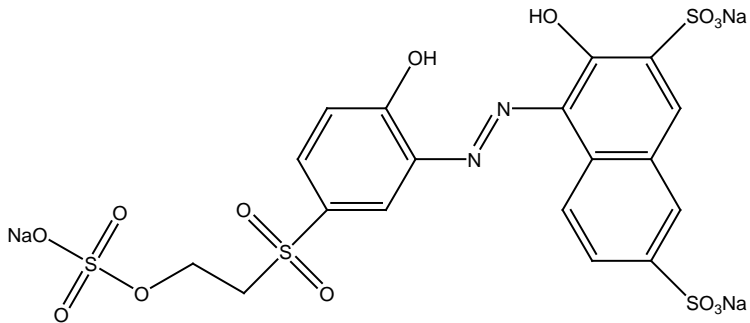
Salah satu aspek yang penting dari teknik gel elektroforesis adalah pewarnaan. Molekul sampel yang dipisahkan dalam matriks gel perlu untuk divisualisasikan posisi mereka. Pewarnaan dilakukan dengan reagen yang tepat sesuai dengan karakteristik dari sample (Reddy & Raju, 2012). Penampakan pita yang terbentuk selama proses elektroforesis berlangsung, menjadi masalah utama dalam identifikasi sample. Penampakan pita di akhir elektroforesis (post-staining) lebih susah dikarenakan membutuhkan volume larutan yang banyak, prosedur yang panjang, dan menggunakan senyawa kompleks dan mahal (Reznick, 1973). Dengan menggunakan kemampuan pewarna yang bisa berikatan kovalen dengan sample, pewarnaan dapat diberikan sebelum elektroforesis dilakukan (prestaining). Beberapa pewarna yang biasa digunakan antara lain Amido Black, Coomassie blue, Ponceau Red, Bis-1-anilino-8-Naphthalene Sulphonate, Spyro Orange, Silver Cholride, Remazol dan Ethidium Bromida (Reddy & Raju, 2012).

### 2.4. Remazol

Griffith memperkenalkan penggunaan *reactive dye anionic* pertama kali pada tahun 1972 menggunakan remazol (Griffith, 1972). Remazol yang merupakan pewarna reaktif kelompok ethylsulfonyl yang memiliki muatan negatif. Remazol memiliki beberapa macam jenis warna sehingga jika digunakan sebagai zat warna akan sangat bervariasi. Remazol merupakan pewarna reaktif yang memiliki gugus azo ( $N = N$ ) dengan adanya ikatan kovalen pada beberapa strukturnya (Christie, 2001).

#### 1. Remazol red RB

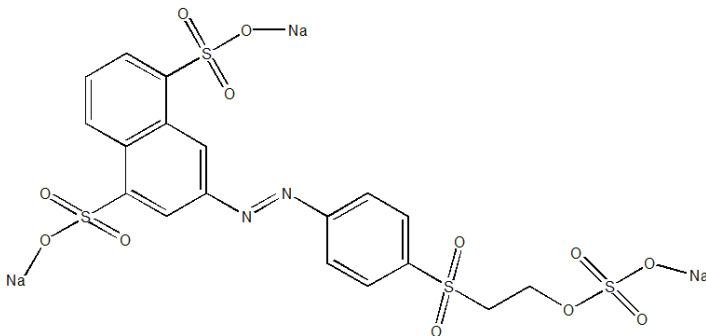
Remazol red memiliki struktur  $C_{18}H_{13}N_2Na_3O_{14}S_4$  dengan massa molekul relatif sebesar 678,53 g/mol. Jumlah muatan ketika menjadi ion dalam larutan adalah -3. Struktur remazol Red RB ditunjukkan pada Gambar 2.8. (Akari et al., 2009).



Gambar 2. 8. Struktur remazol Red RB (Akari et al., 2009).

## 2. Remazol yellow FG

Remazol yellow Biasa dikenal sebagai Remazol yellow FG. Remazol Yellow memiliki rumus molekul  $C_{18}H_{13}N_2Na_3O_{12}S_4$  dengan berat molekul 646,53 g/mol. Jumlah muatan ketika menjadi ion dalam larutan adalah -3. Struktur remazol yelow FG ditunjukkan pada Gambar 2.9. (Rasjid et al., 1976).



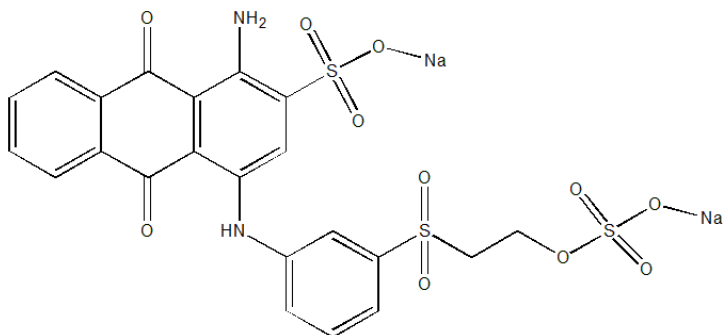
Gambar 2.9. Struktur remazol yellow FG (Rasjid et al., 1976).

## 3. Remazol brilliant blue R

Remazol brilliant blue R memiliki struktur  $C_{22}H_{16}N_2Na_2O_{11}S_3$  dengan massa molekul relatif sebesar



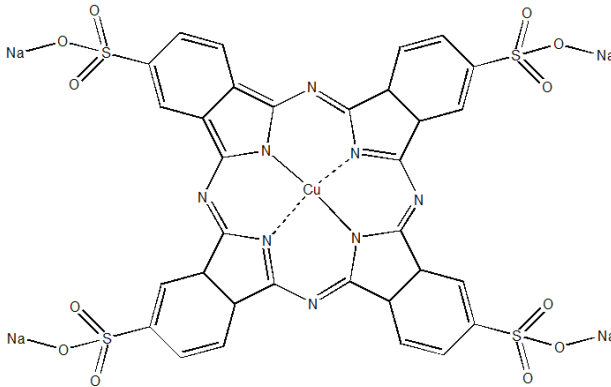
625,97 g/mol. Jumlah muatan ketika menjadi ion dalam larutan adalah -2. Struktur remazol brilliant blue ditunjukkan pada Gambar 2.10. (Ada, 2009).



Gambar 2.10. Struktur remazol brilliant blue R (Ada, 2009).

#### 4. Remazol turquoise blue G

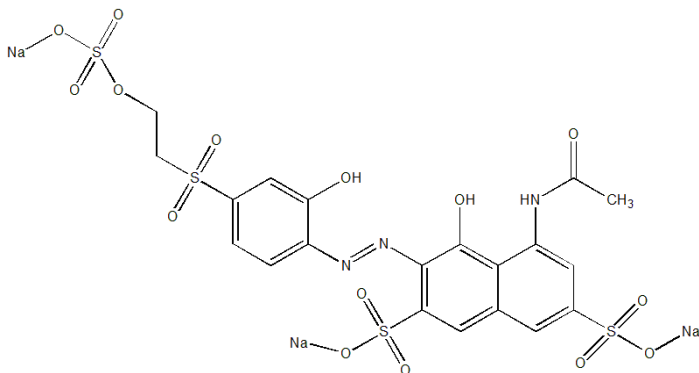
Remazol turquoise blue G memiliki struktur  $C_{32}H_{18}N_8Na_4O_{12}S_4$  dengan massa molekul relatif sebesar 990,30 g/mol. Jumlah muatan ketika menjadi ion dalam larutan adalah -4. Struktur Remazol turquoise blue ditunjukkan pada Gambar 2.11. (Pramila, 2014).



Gambar 2.11. Remazol turquoise blue G (Pramila, 2014).

## 5. Remazol violet 5R

Remazol violet 5R memiliki struktur  $C_{20}H_{16}N_3Na_3O_{15}S_4$  dengan massa molekul relatif sebesar 735,58 g/mol. Jumlah muatan ketika menjadi ion dalam larutan adalah -3. Struktur Remazol violet 5R ditunjukkan pada Gambar 2.12 (Jain, 2012).



Gambar 2.12. Struktur remazol violet 5R (Jain, 2012).

## 2.5. Gerak molekul

### 2.5. 1. Konduktivitas larutan

Konduktivitas adalah kemampuan suatu larutan dalam menghantarkan arus listrik. Kemampuan ini dilakukan oleh kation dan anion pada larutan, sedangkan pada logam dilakukan oleh elektron (Sukardjo, 2002). Konduktivitas larutan bergantung pada jumlah ion yang ada dalam suatu larutan tersebut dan biasa disebut dengan konduktivitas molar, yang didefinisikan pada Persamaan 2.2.

$$\Lambda_m = \frac{\mathbf{K}}{c} \quad (2.2)$$

Dimana  $c$  merupakan konsentrasi dari elektrolit yang digunakan. Satuan SI untuk konduktivitas Molar adalah siemens meter-kuadrat per mol ( $\text{S}\cdot\text{m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$ ) (Atkins & Paula, 2010). Kohlrausch menyatakan secara eksperimen bahwa  $\Lambda^{\circ}_m$  dapat dinyatakan sebagai penjumlahan ion yang terdapat dalam larutan itu. Jika konduktivitas molar kation dinotasikan sebagai  $\lambda^+$  dan konduktivitas molar anion dinotasikan sebagai  $\lambda^-$ . Maka didapatkan persamaan 2.3.

$$\Lambda^{\circ}_m = \nu_+ \lambda_+ + \nu_- \lambda_- \quad (2.3)$$

Friedrich Kohlrausch menunjukkan bahwa pada konsentrasi rendah konduktivitas molar elektrolit kuat (zat yang sepenuhnya dipisahkan menjadi ion-ion dalam larutan) bervariasi secara linier dengan akar kuadrat dari konsentrasi berdasarkan persamaan 2.4.

$$\Lambda_m = \Lambda^{\circ}_m - KC^{1/2} \quad (2.4)$$

### 2.5.2. Kekuatan ion

Jika senyawa ion dilarutkan dalam air, maka terdisosiasi menjadi ion-ion penyusunnya. Kekuatan ionik larutan adalah ukuran konsentrasi ion dalam larutan itu. Konsentrasi ion total dalam larutan akan mempengaruhi sifat penting seperti disosiasi atau kelarutannya. Kekuatan ion dari

suatu larutan ( $I$ ) adalah fungsi dari penjumlahan semua ion yang hadir dalam larutan itu seperti yang ditunjukkan pada persamaan 2.5.

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n C_i \cdot Z_i^2 \quad (2.5)$$

Dimana setengah menunjukkan bahwa pada rumus dimasukkan semua kation dan anion,  $C_i$  adalah konsentrasi molar ion  $I$  (M, mol / L),  $Z_i$  adalah jumlah muatan ion itu,

Elektrolit dengan perbandingan anion : Kation 1:1 seperti natrium klorida, memiliki kekuatan ionik sama dengan konsentrasinya, tetapi untuk  $MgSO_4$  kekuatan ionik menjadi empat kali lebih tinggi. Hal ini dikarenakan ion multivalent berkontribusi kuat dengan kekuatan ion (Vicente, 2004)

### 2.5.3. Mobilitas Ion

Mobilitas ion merupakan kecepatan perpindahan suatu ion antara katoda dan anoda. Jika perbedaan potensial antara dua elektroda dengan jarak ( $l$ ) adalah  $\Delta\phi$ , medan listrik yang mengenai ion adalah sama maka persamaanya seperti yang ditunjukkan pada Persamaan 2.6.

$$E = \frac{\Delta\phi}{l} \quad (2.6)$$

Kecepatan ion menuju kutub katoda maupun anoda ketika gaya listrik diberikan adalah sesuai dengan Persamaan 2.7.

$$s = \frac{zeE}{f} \quad (2.7)$$

Dimana  $u$  merupakan  $ze/f$ , sehingga dapat Persamaan 2.7. dapat disederhanakan menjadi Persamaan 2.8.

$$s = uE \quad (2.8)$$

Mobilitas ion dapat dihitung dengan pengukuran sebenarnya jarak yang ditempuh setiap ion dalam waktu tertentu (Persamaan 2.9).

$$U = \frac{x}{t \left( \frac{dE}{dx} \right)} \quad (2.9)$$

Dimana : x = jarak (m)

t = waktu (dt)

$\left( \frac{dE}{dx} \right)$  = kekuatan medan (volt.m<sup>-1</sup>)

Hubungan antara mobilitas ion dan konduktivitas seperti yang ditunjukkan pada Persamaan 2.10. Dimana F adalah konstanta farady.

$$\lambda_{\pm} = z u_{\pm} F \quad (2.10)$$

(Atkins & Paula, 2010)

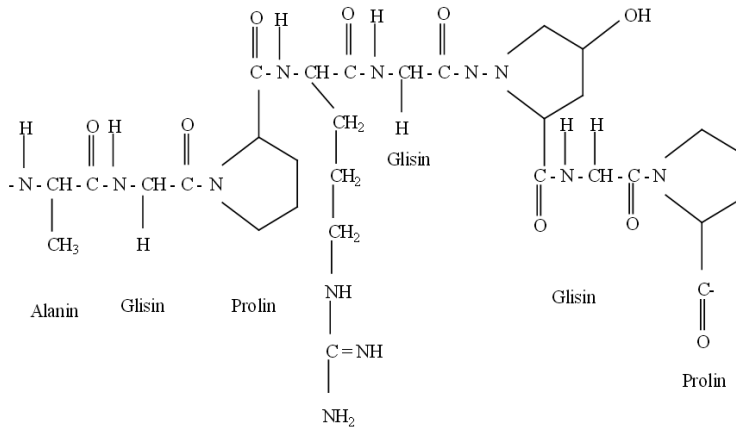
## 2.6. Gelatin

Gelatin merupakan protein turunan dari kolagen dimana susunan asam amino pada struktur primernya mirip dengan kolagen sumbernya (Gomez-Guillen, et al., 2009). Gelatin diperoleh melalui proses hidrolisis kolagen dari kulit, tulang dan jaringan serat putih (white fibrous) hewan.

Gelatin bersifat seperti kaca, padat mudah rusak/dan rapuh, berwarna kuning sampai putih transparan dan hampir tidak ada rasanya serta hampir tidak berbau, berbentuk serpihan atau serbuk, mudah larut dalam air panas gliserol dan asam asetat dan tidak mudah larut dalam pelarut organik Kandungan protein gelatin sekitar 85 – 92%, sisanya berupa garam mineral dan air (Wolf, 2003)

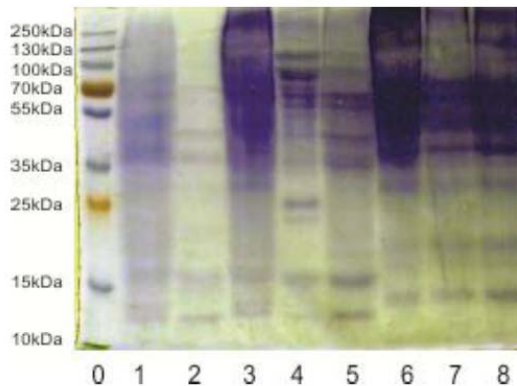
Kandungan kimia dari gelatin terbesar adalah glisin (hampir 1 dalam 3 residu asam amino, menyusun setiap 3

residu), proline dan alanin (Gambar 2.13). Tipe strukturnya adalah –Alanin – Glisin – Prolin – Arginin – Glisin - Hydroxyprolin – Glisin - Prolin (Wolf, 2003).



Gambar 2.13. Struktur Gelatin (Wolf, 2003).

Saputra (2014) telah melakukan pemisahan elektroforesis gelatin dengan metode SDS-PAGE sehingga didapatkan hasil pemisahan yang ditunjukkan pada Gambar 2.14.



Gambar 2.14. Hasil pemisahan gelatin menggunakan SDS-PAGE elektroforesis (Saputra, 2014)

Tanda angka pada Gambar 2.14 dijelaskan sebagai berikut : 0 protein marker, 1 gelatin sapi murni, 2 gelatin babi murni, 3 kapsul simulasi gelatin sapi, 4 kapsul simulasi gelatin babi, 5 kapsul simulasi campuran gelatin sapi dan babi, 6 Kapsul sampel A, 7 Kapsul sampel B, 8 Kapsul Sample C.

Penelitian sebelumnya pernah dilakukan menggunakan (Sodium Dodecyl Sulphate–Poly Acrylamide Gel Electrophoresis) SDS-PAGE. Pada penelitian sebelumnya Saputra, 2014 melakukan hidrolisis terhadap sampel gelatin dengan enzim pepsin yang berfungsi sebagai pemotong menjadi fragmen-fragmentasinya. Pewarnaan yang dilakukan adalah pewarnaan diakhir menggunakan comassie blue R-250 dalam methanol 15% (v/v) dan asam asetat 5% (v/v). Hasil yang didapatkan ditunjukkan pada Gambar 4.24. Hasil pemisahan penelitian saputra,2014 untuk gelatin sapi 1,2cm;1,3cm;1,7cm;2,1cm; 2,2cm; 3,9cm dan 4,3cm. Pemisahan untuk gelatin babi 1,3cm; 1,8cm; 2,2cm; 3,9cm; 4,5cm. Hasil pemisahan untuk kapsul gelatin 1cm; 1,3cm; 1,8cm; 2,2cm; 3,6cm; 3,9cm dan 4,5cm.

## **BAB III METODOLOGI PENELITIAN**

### **3.1. Alat dan bahan**

#### **3.1.1. Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi beberapa bagian yaitu

- Peralatan pembuatan nata de coco yang terdiri atas: saringan, gelas ukur 50 ml, panci, pengaduk, kotak cetakan nata, gunting, karet, kertas koran, botol kaca, selotip lakban, setrika, pemanas hot plate.
- Peralatan elektroforesis yang terdiri atas: chamber untuk elektroforesis, *power supply*, kabel penghubung, penjepit buaya.
- Peralatan untuk pembuatan larutan yang terdiri atas: gelas kimia 100 ml, gelas kimia 1000 ml, labu ukur 1000 ml, spatula, botol timbang, kaca arloji, pipet ukur 1 ml, bola penghisap, pipet tetes, neraca analitik, botol semprot
- Peralatan pengukuran yang terdiri atas: multimeter, jangka sorong, penggaris dan pH meter.

#### **3.1.2. Bahan**

Bahan – bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah:

- Bahan pembuat Nata de coco yang terdiri atas air kelapa, gula, asam cuka, urea,
- Bahan pembuat larutan buffer yang terdiri atas : aquadest,  $H_3PO_4$  (Merck, 99,8%),  $NaH_2PO_4$ (Merck, 99,8%),  $Na_2HPO_4$ (Merck, 99,8%),  $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$  (Merck, 99,8%), NaOH (Merck, 99,8%), KOH (Merck, 99,8%), HCl (Merck, 99,8%).
- Bahan pembuat sampel remazol yang terdiri atas Remazol Red RB, Remazol Yellow FG, Remazol Brilliant Blue R, Remazol Turquoise Blue G, Remazol Violet 5R, didapat dari rumah batik di Paciran Lamongan,



- Bahan sampel gelatin : gelatin sapi, gelatin kapsul, gelatin komersial SAP.

## **3.2. Metode Penelitian**

### **3.2.1. Media nata de coco**

#### 3.2.1.1. Pembuatan media nata de coco

Pembuatan Nata de coco diawali dengan memanaskan 1L air kelapa hingga mendidih, kemudian 100 gram gula dan 4 gram urea ditambahkan ke dalam air kelapa dan dipanaskan kembali hingga mendidih. Campuran didinginkan hingga suhu kamar ( $\pm 30^{\circ}\text{C}$ ) dan keasamaanya diatur hingga pH 4 dengan menambahkan asam cuka. *Starter* bakteri *A. Xylinum* ditambahkan sebanyak 10% volume campuran pada suhu ruang ( $\pm 30^{\circ}\text{C}$ ). Campuran dituang ke beberapa cetakan dan ditutup menggunakan kertas koran kemudian didiamkan di ruang isolasi selama 1 – 9 hari.

#### 3.2.1.2. Preparasi nata de coco

Nata de coco yang sudah dipanen, dibilas dengan air untuk membersihkan dari sisa campuran air kelapa. Pencucian dilanjutkan menggunakan air panas. Nata de coco kemudian direndam dengan air selama 3 hari. Setelah perendaman nata de coco siap digunakan.

#### 3.2.1.3. Pengukuran ketebalan nata de coco

Ketebalan nata de coco diukur setiap harinya mulai dari umur 2 hari hingga 9 hari. Pengukuran dilakukan menggunakan jangka sorong. Pengukuran ketebalan diukur pada empat sisi nata de coco dan dicatat hasil datanya.

#### 3.2.1.4. Perhitungan berat selulosa nata de coco dan kadar air.

Nata de coco yang sudah bersih dan masih dalam keadaan mengandung air ditimbang (Berat A). Setelah itu, dikeringkan dalam oven pada suhu  $70^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam. Berat nata de coco yang kering ditimbang hingga konstan dan dicatat sebagai berat selulosa nata de coco (Berat B). Lalu dihitung kadar air dengan Persamaan 3.1

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{Berat A} - \text{Berat B}}{\text{Berat A}} \times 100\% \quad (3.1)$$

### 3.2.1.5. Pengamatan struktur nata de coco menggunakan mikroskop

Nata de coco disayat tipis untuk mendapatkan lapisan tipis nata, kemudian diletakkan diatas kaca preparat dan diamati dengan mikroskop Olympus CH-2 menggunakan perbesaran 1000x. Untuk memperjelas pengamatan ditambahkan minyak imersi diatas nata de coco.

### 3.2.2. Pembuatan sampel pewarna remazol

Pewarna remazol (remazol red RB, remazol yellow FG, remazol brilliant blue R, remazol turquoise blue G, remazol violet 5R) masing-masing dibuat dengan konsentrasi 1%. 0,1 gram pewarna remazol dilarutkan dengan aquadest dan diaduk hingga larut sempurna kemudian dipindah ke dalam labu ukur 10mL dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas.

### 3.2.3. Buffer fosfat

#### 3.2.3.1. Pembuatan larutan buffer fosfat pH 9 berbagai jenis

Buffer fosfat pH 9 dibuat dari beberapa campuran. Campuran yang pertama terdiri dari NaOH dan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. NaOH dan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> dilarutkan dengan aquadest dalam gelas kimia kemudian diencerkan dalam labu ukur 1 L hingga tanda batas. Campuran kedua terdiri dari KOH dan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> dan prosedur pembuatannya seperti pada campuran pertama. Campuran ketiga menggunakan garam-garam fosfat (Tabel 3.1)

Tabel 3.1. Komposisi Pembuatan buffer pH 9

No	Komposisi	Jumlah
1	NaOH	8,0653 gram
	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	6,9 mL
2	KOH	11,3123 gram
	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	6,9 mL
3	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,0220 gram
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,4201 gram

### 3.2.3.2 Pembuatan larutan buffer fosfat pH 2-12

Larutan buffer Fosfat dibuat dari garam-garam fosfat. Tahap pembuatannya yaitu melarutkan beberapa gram asam dan beberapa gram basa penyangga dengan komposisi yang tertera pada Tabel 3.2 dalam gelas kimia. Kemudian dipindah kedalam labu ukur 500mL dan ditambahkan air hingga tanda batas.

Tabel 3.2. Komposisi Pembuatan Buffer pH 2-12

<b>Komposisi</b>		
pH	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (gram)
2	14,83 M ; 0,9 mL	1,3801
3	14,83 M ; 0,1 mL	1,3805
4	0,01 M ; 1,3 mL	1,3799
<b>Komposisi</b>		
pH	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (gram)	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (gram)
5	2,2259	0,0142
6	2,2256	0,1423
7	2,2258	1,4201
8	0,2226	1,4198
9	0,0224	1,4199
<b>Komposisi</b>		
pH	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (gram)	Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (gram)
10	2,9575	0,0388
11	2,9572	0, 3803
12	2,9578	3,8011

### 3.2.4. Metode elektroforesis

Nata de coco yang telah dipreparasi digunakan sebagai fasa diam dalam metode elektroforesis. Nata de coco dilubangi menggunakan gunting sebagai tempat lubang sampel. Sampel dimasukkan kedalam lubang nata de coco menggunakan pipet sebanyak 0,1 mL. Nata de coco dimasukkan kedalam chamber elektroforesis dan ditambahkan larutan buffer dengan ketinggian yang sama dengan tinggi media nata de coco 0,7

cm. Elektroforesis dijalankan dengan tegangan 150 V selama 15 menit. Setelah selesai, *power supply* dimatikan dan dilakukan pengambilan data berupa suhu buffer menggunakan termometer, pH buffer menggunakan pH meter dan jarak migrasi menggunakan penggaris.

### **3.2.5. Optimasi sistem gel elektroforesis menggunakan media nata de coco**

#### **3.2.5.1. Pengaruh umur nata de coco terhadap jarak migrasi remazol**

Nata de coco yang berumur 3 hari sampai 8 hari dengan rentang 1 hari digunakan sebagai media pada gel elektroforesis. Sampel yang digunakan adalah lima pewarna remazol. Elektroforesis dilakukan seperti pada bagian 3.2.4. (tegangan=150V, waktu=15 menit, tinggi buffer=0,7cm). Setiap umur nata dilakukan pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali.

#### **3.2.5.2. Pengaruh buffer fosfat pH 9 berbagai jenis terhadap hasil elektroforesis**

Larutan buffer yang dibuat seperti pada bagian 3.2.3.1 digunakan sebagai larutan elektrolit pada gel elektroforesis dengan analit lima pewarna remazol. Nata de coco yang digunakan berumur 4 hari. Elektroforesis dilakukan seperti pada bagian 3.2.4. (tegangan=150V, waktu=15 menit, tinggi buffer=0,7cm). Setiap jenis buffer dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

#### **3.2.5.3. Pengaruh pH larutan buffer fosfat terhadap hasil elektroforesis.**

Larutan buffer yang dibuat seperti pada bagian 3.2.3.2 digunakan sebagai larutan elektrolit pada gel elektroforesis dengan analit lima pewarna remazol. Nata de coco yang digunakan berumur 4 hari. Elektroforesis dilakukan seperti pada bagian 3.2.4. (tegangan=150V, waktu=15 menit, tinggi buffer=0,7cm). Setiap pH dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

#### 3.2.5.4 Pengaruh tinggi buffer dan volume larutan buffer terhadap hasil elektroforesis

Elektroforesis dilakukan seperti pada bagian 3.2.4. menggunakan nata de coco yang berumur 4 hari, tegangan yang digunakan 150V, lama waktu elektroforesis 15 menit dan larutan buffer yang digunakan terbuat dari buffer fosfat dengan pH 7. Variasi yang dilakukan adalah tinggi larutan buffer yang ditambahkan yaitu 0,7 cm ; 1 cm; 1,5cm; 2cm dan 2,5cm, dimana masing-masingnya adalah sebanyak 470 mL, 550 mL, 750 mL, 950 mL, 1150 mL. Setiap volume diulangi sebanyak 3 kali.

#### 3.2.5.5. Pengaruh tegangan terhadap hasil elektroforesis

Elektroforesis dilakukan seperti pada bagian 3.2.4. menggunakan nata de coco yang berumur 4 hari, jumlah larutan buffer yang digunakan adalah ketinggian 0,7cm (470mL), lama waktu elektroforesis 15 menit dan larutan buffer yang digunakan terbuat dari buffer fosfat dengan pH 7. Variasi yang dilakukan adalah tegangan yang diberikan kedalam sistem elektroforesis yaitu 75V , 100V, 125V, 150V. Setiap tegangan diulangi sebanyak 3 kali.

#### 3.2.5.6. Pengaruh waktu elektroforesis terhadap hasil elektroforesis

Elektroforesis dilakukan seperti pada bagian 3.2.4. menggunakan nata de coco yang berumur 4 hari, jumlah larutan buffer yang digunakan adalah ketinggian 0,7cm (470mL), tegangan yang digunakan sebesar 150V dan larutan buffer yang digunakan terbuat dari buffer fosfat dengan pH 7. Variasi yang dilakukan adalah lama waktu elektroforesis yaitu 10 menit; 20 menit; 30 menit; 40 menit dan 50 menit. Setiap lama waktu diulangi sebanyak 3 kali.

### **3.2.6. Aplikasi penggunaan remazol sebagai pewarnaan dalam pemisahan gelatin menggunakan gel nata de coco dalam proses gel elektroforesis**

#### **3.2.6.1. Pembuatan gelatin**

Gelatin dibuat dengan melarutkan masing – masing gelatin dengan aquadest hingga larut. Sampel gelatin dengan konsentrasi 30.000 ppm selanjutnya diencerkan dengan mengambil 1 mL gelatin menggunakan pipet ukur dan diencerkan dengan aquadest pada labu ukur hingga volume 25 mL.

#### **3.2.6.2. Preparasi sampel gelatin**

Sebanyak 2 mL gelatin dicampurkan dengan 1mL Remazol Turquoise Blue G dalam tabung reaksi dan dipanaskan pada waterbath selama 1 jam dengan suhu 100°C. Selanjutnya campuran didinginkan hingga suhu ruang ( $\pm 30^\circ\text{C}$ ).

#### **3.2.6.3. Pemisahan gelatin menggunakan elektroforesis gel**

Elektroforesis dilakukan seperti pada bagian 3.2.4. menggunakan nata de coco yang berumur 4 hari, jumlah larutan buffer yang digunakan adalah ketinggian 0,7cm (470mL), tegangan yang digunakan sebesar 150V dan larutan buffer yang digunakan terbuat dari buffer fosfat dengan pH 7. Sampel yang digunakan adalah gelatin yang sudah diwarnai dengan remazol Turquoise Blue G. Elektroforesis dilakukan selama 30 menit dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Pembuatan nata de coco

Nata de coco dibuat dengan memanaskan air kelapa hingga mendidih untuk membunuh bakteri-bakteri kontaminan yang terkandung dalam air kelapa. Air kelapa merupakan media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum*. Gula ditambahkan kedalam media air kelapa sebagai glukosa yang berfungsi untuk sumber karbon dan ditambahkan urea yang digunakan sebagai sumber nitrogen. Glukosa dan nitrogen dibutuhkan sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangan *Acetobacter xylinum* (Oktavianti, 2003). Campuran air kelapa selanjutnya dikondisikan pada pH 4 untuk mengoptimalkan biopolimerisasi dengan penambahan asam asetat. Hal ini disebabkan karena bakteri *Acetobacter xylinum* tumbuh dengan baik pada kondisi asam. *Starter* bakteri atau bibit bakteri *Acetobacter xylinum* ditambahkan ke dalam campuran dengan konsentrasi 10% (Kurniawan, 2014). Produk nata de coco yang dihasilkan ditunjukkan pada Gambar 4.1.

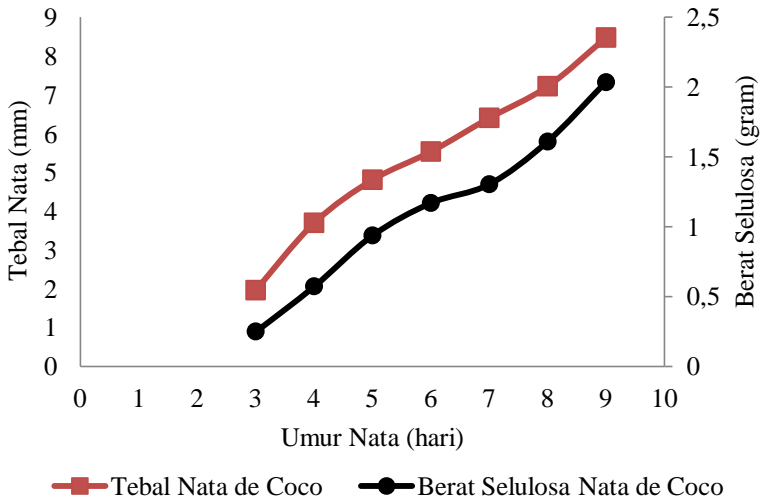


Gambar 4. 1. Produk nata de coco.

Pengamatan dilakukan dengan mengukur ketebalan nata de coco yang terbentuk setiap hari mulai dari hari ke-3 hingga hari ke-9. Pengukuran ketebalan dilakukan menggunakan



jangka sorong dengan ketelitian 0,01 mm. Lapisan nata de coco yang merupakan serat bioselulosa terbentuk setelah waktu inkubasi selama 3 hari. Semakin lama waktu inkubasi, Semakin tebal lapisan serat bioselulosa yang terbentuk. Pengamatan ketebalan nata de coco yang terbentuk dalam variasi hari ditunjukkan pada Gambar 4.2. Ketebalan nata de coco yang bertambah disebabkan oleh adanya aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum* yang menghasilkan serat mikrofibril yang tersusun membentuk lapisan serat bioselulosa setiap harinya. Ketebalan nata de coco pada hari ke-9 waktu inkubasi mencapai 8,48 – 9,37 mm.

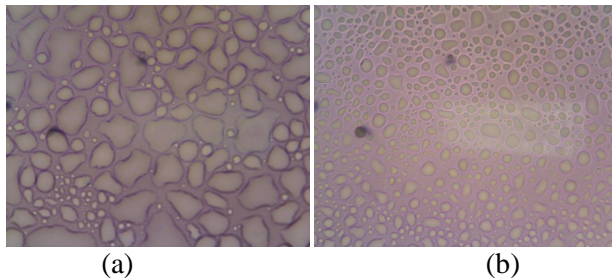


Gambar 4. 2. Hubungan umur nata de coco terhadap ketebalan nata de coco dan berat selulosa.

Peningkatan bioselulosa diamati dengan menghitung berat padatan nata yang telah dikeringkan. Nata de coco yang terdiri atas padatan putih dan air di-*press* kemudian dikeringkan hingga menyisakan padatan putih yang merupakan bioselulosa. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa kadar air yang terdapat dalam nata de coco sebesar 98-99%, dengan berat

selulosa yang terbentuk ditunjukkan pada Gambar 4.2. Berat selulosa bertambah seiring lamanya waktu inkubasi. Peningkatan berat selulosa juga sebanding dengan peningkatan ketebalan nata de coco.

Lapisan tipis nata de coco disayat tipis membujur untuk diamati pori-pori nata yang terbentuk. Lapisan serat bioselulosa yang merupakan jaringan mikrofibril rapat diamati menggunakan mikroskop Olympus CH-2. Bertambahnya berat selulosa menunjukkan semakin banyaknya lapisan selulosa. Lapisan selulosa yang semakin banyak menghasilkan pori-pori yang semakin kecil seperti ditunjukkan pada Gambar 4.3.

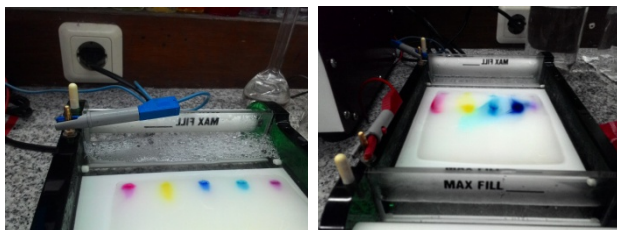


Gambar 4. 3. Penampakan membujur nata de coco umur (a) 4 hari dan (b) 7 hari menggunakan mikroskop perbesaran 1000x

Nata de coco yang berbentuk padatan kenyal berwarna putih digunakan sebagai gel dalam proses elektroforesis. Nata de coco yang terbentuk dipreparasi dengan mencuci nata de coco menggunakan air hingga bersih dan di cuci dengan air panas untuk membunuh bakteri. Setelah pencucian, nata de coco direndam dengan air selama 3 hari dengan penggantian air setiap harinya. Hal ini untuk menetralkan pH nata de coco karena nata de coco yang terbentuk memiliki pH asam. Perendaman dengan air bertujuan untuk menghindari adanya ion-ion lain yang akan mempengaruhi proses elektroforesis ketika nata de coco digunakan sebagai gel.

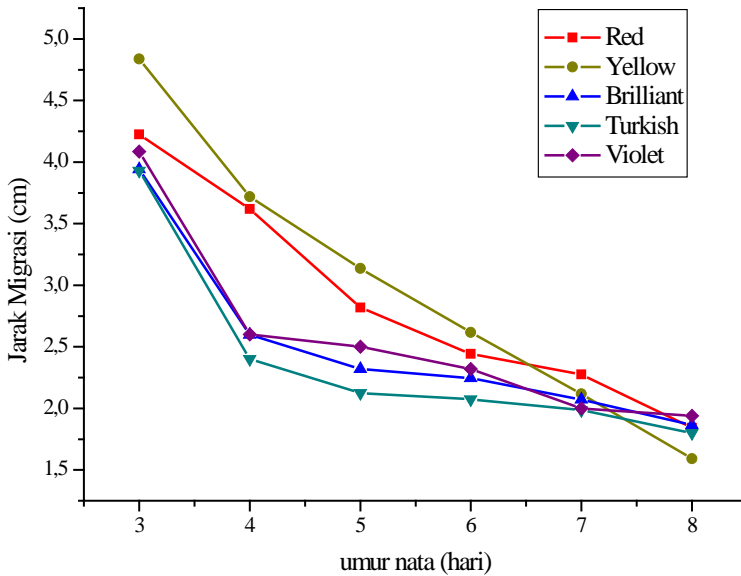
#### 4.2. Pengaruh umur nata de coco terhadap migrasi pewarna remazol

Nata de coco yang telah dipanen dan dipreparasi digunakan sebagai gel dalam proses elektroforesis. Nata de coco yang digunakan berumur 3 hari hingga 8 hari dan sampel pewarna yang digunakan adalah Remazol Red RB, Remazol Yellow FG, Remazol Brilliant Blue R, Remazol Turquoise Blue G-133 dan Remazol Violet 5R. Remazol dipipet kedalam lubang yang telah dibuat pada nata de coco masing-masing sebanyak 0,1 mL dan dilakukan proses elektroforesis terhadap pewarna remazol seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4. 4. Proses elektroforesis menggunakan nata de coco dengan sampel zat warna remazol

Nata de coco berumur 3 hari memiliki lapisan yang lebih tipis daripada nata de coco yang berumur lebih dari 3 hari sehingga, jarak migrasi remazol yang berumur 3 hari lebih jauh daripada yang berumur lebih tua karena semakin tua umur nata de coco rongga yang terbentuk semakin kecil. Jarak migrasi terpendek ketika digunakan media gel nata de coco adalah berumur 8 hari. Hal ini menunjukkan umur nata de coco mempengaruhi migrasi dari pewarna remazol. Semakin tua umur nata de coco maka jarak migrasi remazol semakin pendek seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.3. Hal ini karena, semakin tua umur nata de coco, maka lapisan bioselulosa semakin banyak. Lapisan selulosa yang semakin banyak menyebabkan pori-pori yang semakin kecil, sehingga terobosan-terobosan yang dilewati pewarna remazol akan terhambat dan pewarna remazol akan ber-migrasi lebih lambat.



Gambar 4. 5. Pengaruh umur nata de coco terhadap migrasi 5 pewarna remazol

Uji anova (*analysis of variance*) dilakukan terhadap data yang diperoleh untuk menghitung secara statistik apakah terdapat perbedaan jarak migrasi yang cukup signifikan terhadap pengaruh umur nata. Hasil uji anova yang diperoleh menunjukkan bahwa  $F_{hitung} (108,35) > F_{tabel} (2,368)$  sehingga  $H_0$  (tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai umur nata de coco yang digunakan) ditolak dan menunjukkan kesimpulan bahwa sekurang-kurangnya terdapat satu umur nata de coco yang memberikan jarak migrasi yang berbeda (Lampiran C.1.5). Oleh karena itu, dilakukan uji lanjutan yaitu uji LSD (*Least Significance Different*) untuk menunjukkan perbedaan signifikan dari tiap data yang diperoleh. Notasi huruf yang sama pada uji LSD untuk masing-masing kolom menunjukkan bahwa jarak migrasi remazol sama (tidak berbeda signifikan). Uji LSD yang dilakukan ada dua macam yaitu Uji LSD untuk mengetahui perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna dalam berbagai umur nata de coco

seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.1 dan Uji LSD untuk mengetahui perbedaan migrasi antara zat warna dalam satu umur nata de coco seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4. 1. Uji LSD perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna dalam berbagai umur nata de coco

Umur	Jarak migrasi remazol (cm)				
	Red	Yellow	Brilliant	Turquoise	Violet
3 hari	4,2 <sup>e</sup>	4,4 <sup>d</sup>	3,7 <sup>c</sup>	3,4 <sup>c</sup>	3,8 <sup>e</sup>
4 hari	3,1 <sup>d</sup>	3,2 <sup>c</sup>	2,4 <sup>b</sup>	2,3 <sup>b</sup>	2,5 <sup>d</sup>
5 hari	2,6 <sup>c</sup>	2,7 <sup>bc</sup>	2,2 <sup>b</sup>	2,1 <sup>ab</sup>	2,4 <sup>cd</sup>
6 hari	2,2 <sup>bc</sup>	2,2 <sup>ab</sup>	1,9 <sup>ab</sup>	1,9 <sup>ab</sup>	2,2 <sup>bc</sup>
7 hari	2,1 <sup>ab</sup>	1,9 <sup>a</sup>	1,7 <sup>a</sup>	1,6 <sup>a</sup>	1,9 <sup>ab</sup>
8 hari	1,6 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	1,6 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	1,7 <sup>a</sup>

Berdasarkan pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa jarak migrasi remazol pada umur nata de coco yang berbeda memiliki jarak migrasi yang hampir semua sama berdasarkan uji LSD. Salah satunya seperti yang ditunjukkan pada Remazol Turquoise, dimana Remazol tersebut bermigrasi dengan jarak yang sama (tidak berbeda signifikan) berdasarkan uji LSD pada umur nata 5 hari sampai 8 hari karena memiliki notasi yang sama yaitu notasi a. Remazol Turquoise juga bermigrasi dengan jarak yang sama (tidak berbeda signifikan) berdasarkan uji LSD pada umur 4 hari sampai 5 hari karena memiliki notasi yang sama yaitu b.

Dengan demikian, meskipun jarak migrasi masing-masing remazol berbeda berdasarkan data yang diperoleh tetapi jarak migrasi masing-masing remazol pada berbagai umur nata de coco tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan berdasarkan uji LSD dari umur 3 hari sampai 8 hari.

Uji LSD juga dilakukan untuk menunjukkan perbedaan jarak migrasi remazol yang diperoleh dalam satu umur nata yang sama seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.2. Jarak migrasi remazol masing-masing umur nata de coco 6 hari, 7 hari dan 8 hari memiliki notasi yang sama yaitu a yang

menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dari jarak migrasi antara remazol dalam satu umur nata de coco. Jarak migrasi antara masing-masing remazol pada umur 3 hari sampai 5 hari menunjukkan data yang hampir sama menurut uji LSD karena ada beberapa remazol yang memiliki notasi yang sama dengan remazol yang lain dalam satu umur nata yang sama.

Dengan demikian, meskipun jarak migrasi antar remazol berbeda berdasarkan data yang diperoleh tetapi, berdasarkan uji LSD jarak migrasi antara remazol pada satu umur nata de coco tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari umur 3 hari sampai 8 hari

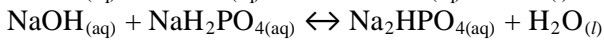
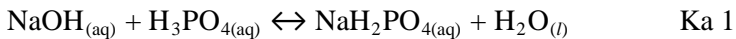
Tabel 4. 2. Uji LSD perbedaan migrasi antara zat warna dalam satu umur nata de coco

Remazol	Jarak Migrasi Remazol (cm)					
	3 hari	4 hari	5 hari	6 hari	7 hari	8 hari
Red	4,2bc	3,1bc	2,6bc	2,2a	2,1a	1,6a
Yellow	4,4c	3,2c	2,7c	2,2a	1,9a	1,5a
Brilliant	3,7ab	2,4a	2,2ab	1,9a	1,7a	1,6a
Turquoise	3,4a	2,3a	2,1a	1,9a	1,6a	1,5a
Violet	3,8abc	2,5abc	2,4abc	2,2a	1,9a	1,7a

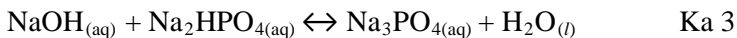
Jarak migrasi remazol tidak berbeda signifikan dengan penggunaan umur nata de coco yang berbeda, oleh karena itu nata de coco yang digunakan untuk selanjutnya adalah umur nata de coco 4 hari, karena pada umur ini telah didapatkan ketebalan yang cukup yaitu 0,454 cm. Tidak digunakan umur 3 hari karena pada umur ini ketebalan nata de coco masih terlalu tipis yaitu 0,298 cm sehingga sumuran yang akan dibuat terlalu pendek.

### 4.3. Pengaruh berbagai jenis komponen buffer fosfat terhadap hasil elektroforesis

Buffer fosfat telah digunakan pada percobaan sebelumnya dalam penggunaan remazol sebagai *reactive dye* pada elektroforesis oleh Griffith, 1971. Salah satu keunggulan buffer fosfat adalah area kerja buffer fosfat sangat lebar yaitu dari asam sampai basa. Buffer fosfat dibuat dengan cara mencampurkan NaOH dan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, berdasarkan reaksi berikut:



Ka 2

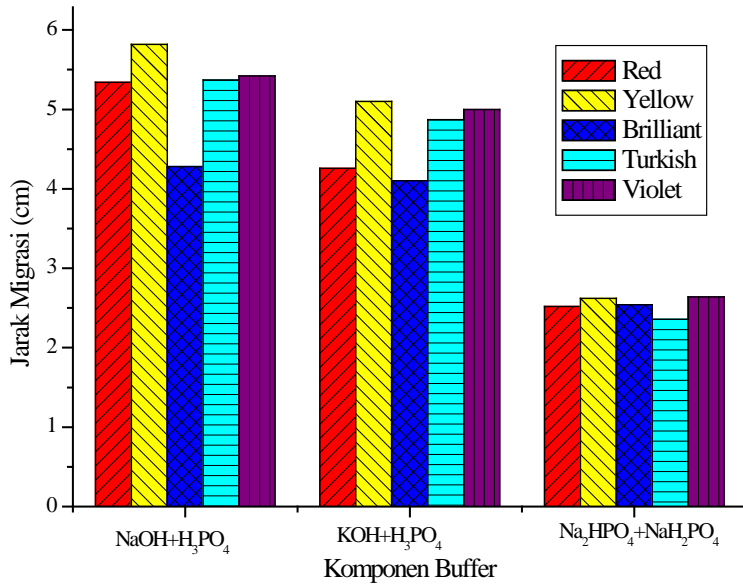


Penambahan NaOH secara berlebihan akan menuju pada reaksi pembentukan kesetimbangan kedua dan ketiga. Sama halnya dengan Basa NaOH, pembentukan buffer fosfat dapat juga dibuat dari basa KOH dan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, berdasarkan reaksi berikut:



Pembuatan buffer fosfat juga dibuat dari garam-garam fosfat dengan mencampurkan asam dan basa konjugatnya. Pada penelitian kali ini digunakan garam fosfat NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> dan Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

Elektroforesis terhadap pewarna remazol menggunakan berbagai macam jenis buffer fosfat disajikan dalam Gambar 4.6. Pewarna remazol berjalan lebih cepat pada penggunaan buffer fosfat yang terbuat dari (NaOH + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) dari pada buffer fosfat yang terbuat dari (KOH + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) dan dari pada buffer fosfat yang terbuat dari garam – garam fosfat. Elektrolit kuat seperti KOH dan NaOH mempengaruhi pergerakan dari remazol, sehingga remazol berjalan lebih cepat.



Gambar 4. 6. Pengaruh buffer fosfat pH 9 berbagai jenis terhadap migrasi remazol

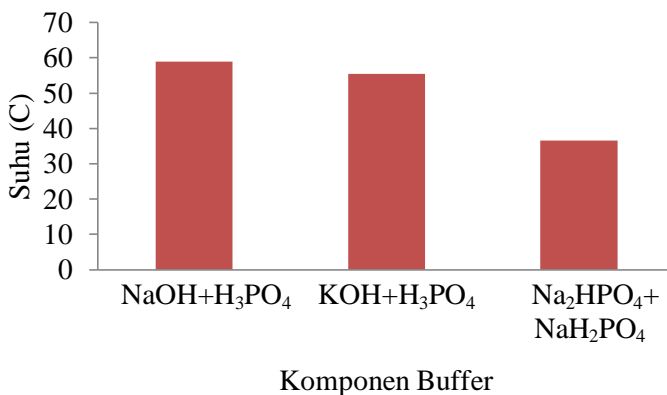
Konduktivitas setiap buffer mempengaruhi migrasi dari remazol, dimana konduktivitas menyatakan kemampuan suatu larutan untuk menghantarkan listrik. Jika kemampuan menghantarkan listrik tinggi maka mobilitas ion juga semakin tinggi. Ketiga jenis buffer fosfat yang digunakan ( $\text{NaOH} + \text{H}_3\text{PO}_4$ ;  $\text{KOH} + \text{H}_3\text{PO}_4$  dan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) dihitung konduktivitas molarnya untuk memprediksi kemampuan masing-masing buffer dalam menghantarkan listrik. Hasil perhitungan konduktivitas molar masing – masing buffer disajikan pada Tabel 4.3

Tabel 4. 3. Perhitungan Konduktifitas molar buffer

Komponen Buffer	Konduktifitas molar buffer
$\text{NaOH} + \text{H}_3\text{PO}_4$	$805,03 \text{ S. cm}^2 \text{ mol}^{-1}$
$\text{KOH} + \text{H}_3\text{PO}_4$	$828,34 \text{ S. cm}^2 \text{ mol}^{-1}$
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$	$223,18 \text{ S. cm}^2 \text{ mol}^{-1}$

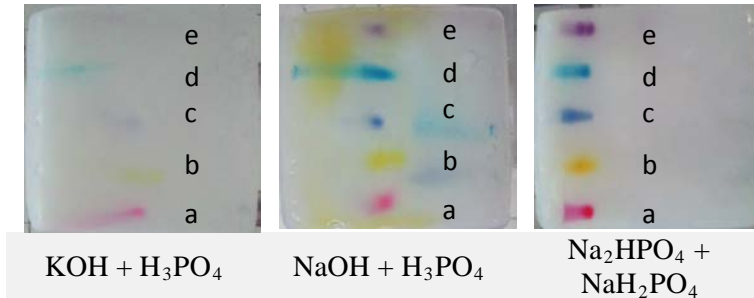


Konduktivitas molar buffer yang terbuat dari ( $\text{KOH}+\text{H}_3\text{PO}_4$ ) menunjukkan nilai yang tertinggi, tetapi berdasarkan Gambar 4.6 migrasi remazol menunjukkan nilai yang terjauh jarak migrasinya ketika digunakan buffer yang terbuat dari ( $\text{NaOH}+\text{H}_3\text{PO}_4$ ). Hal ini dipengaruhi dari pemanasan yang terjadi dalam sistem elektroforesis menyebabkan entropi yang semakin tinggi, sehingga pergerakan molekul juga semakin besar. Pemanasan dan perbedaan suhu yang terjadi pada penggunaan berbagai jenis komponen penyusun buffer ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4. 7. Hubungan penggunaan jenis buffer fosfat dengan suhu yang dihasilkan selama proses elektroforesis

Suhu larutan buffer yang tinggi ( $\text{NaOH}+\text{H}_3\text{PO}_4 = 64,6^\circ\text{C}$  dan  $\text{KOH}+\text{H}_3\text{PO}_4 = 61,7^\circ\text{C}$ ) pada saat proses elektroforesis berlangsung menyebabkan hasil resolusi yang kurang baik yaitu sampel mengalami pelebaran/*boardening* dan sampel semakin pudar dikarenakan terlarut dalam larutan. Penggunaan buffer  $\text{NaOH}+\text{H}_3\text{PO}_4$  juga menyebabkan munculnya noda berwarna kuning pada gel nata de coco. Penggunaan yang paling baik diantara ketiga jenis komponen buffer fosfat adalah buffer fosfat yang terbuat dari garam fosfat seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.8.



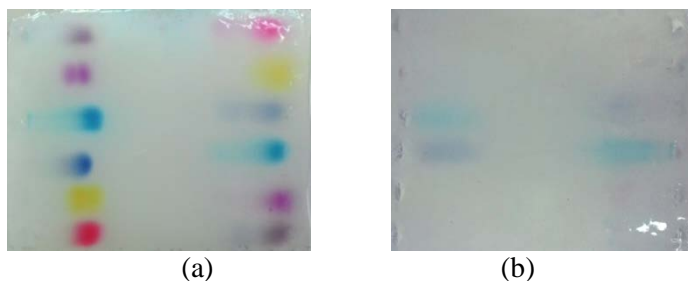
Gambar 4. 8. Hasil elektroforesis terhadap berbagai jenis komposisi buffer fosfat menggunakan sampel Remazol (a) Red (b) Yellow (c) Brilliant (d) Turquoise (e) Violet

Pemanasan dihindari dalam proses elektroforesis karena menyebabkan pita-pita fragmentasi yang dihasilkan melebar dan pudar. Pemanasan pada gel juga menyebabkan menurunnya tingkat kepadatan gel agarosa/PAGE sehingga menyebabkan kerusakan pada gel agarosa/PAGE. Kerusakan pada gel agarosa/PAGE akan membuat identifikasi jarak migrasi akan susah teramati (Sanderson et al., 2014).

Pemanasan yang terjadi pada sistem buffer tidak mempengaruhi bentuk dari gel nata de coco karena gel nata de coco memiliki struktur yang kuat dengan adanya ikatan interhidrogen dan intra-hidrogen, sehingga dapat mempertahankan bentuknya yang padat. Hal tersebut berbeda dengan gel agarosa, pemanasan menyebabkan penurunan tingkat kepadatan gel, sehingga gel menjadi rusak. Dalam hal ini, penggunaan nata de coco memiliki keunggulan karena bisa mempertahankan bentuknya meskipun terjadi pemanasan.

Keunggulan lain dari penggunaan nata de coco sebagai media gel adalah gel nata de coco bisa digunakan berulang kali. Hal ini dikarenakan struktur nata de coco yang kuat dan tidak mudah hancur ketika diangkat. Penggunaan berulang bisa dilakukan dengan penggunaan kedua sisi gel nata de coco seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.9(a) dan dengan cara mencuci dan merendam nata de coco seperti yang ditunjukkan

pada Gambar 4.9 (b), sehingga penggunaan nata de coco untuk gel elektroforesis cukup efisien dan ekonomis.



Gambar 4. 9. (a) Penggunaan dua sisi nata de coco (b) Nata de coco yang sudah dicuci

#### 4.5. Pengaruh pH buffer garam terhadap hasil elektroforesis

Pembuatan buffer dipilih pada nilai pKa yang dekat dengan nilai pH yang diinginkan. Nilai pKa maupun pH tidak akan konstan untuk semua kondisi terutama dalam sistem elektroforesis, dikarenakan adanya tegangan yang diberikan tetapi bentuk fungsi kekuatan ion dapat mewakili kondisi tersebut (Sambrook&Russel, 2001).

Buffer fosfat digunakan pada penelitian ini karena memiliki area kerja yang lebar yaitu dari asam sampai basa. Buffer fosfat memiliki 3 nilai pKa yang berbeda yaitu : 2,12 ; 7,21 dan 12,32. Buffer fosfat dibuat dengan mencampurkan asam dan basa konjugatnya pada kesetimbangan yang mendekati nilai pH yang diinginkan. Buffer dibuat tanpa adanya penambahan basa kuat maupun asam kuat untuk menyesuaikan pH yang diinginkan, melainkan dengan penambahan asam atau basa konjugatnya itu sendiri. Nilai pH minimal yang dapat dibuat dengan mencampurkan ( $H_3PO_4$  dan  $NaH_2PO_4$ ) adalah pH 2 dan nilai pH maksimal yang dapat dibuat dengan mencampurkan ( $Na_2HPO_4$  dan  $Na_3PO_4$ ) adalah pH 12.

Uji anova (*analysis of variance*) dilakukan terhadap data yang diperoleh untuk menghitung secara statistik apakah

terdapat perbedaan jarak migrasi yang cukup signifikan terhadap pengaruh dari pH larutan buffer. Hasil uji anova yang diperoleh menunjukkan bahwa  $F_{hitung} (92,47) > F_{tabel} (1,92)$  sehingga  $H_0$  (tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai pH larutan buffer yang digunakan) ditolak dan menunjukkan kesimpulan bahwa sekurang-kurangnya terdapat satu nilai pH larutan buffer yang memberikan jarak migrasi yang berbeda (Lampiran C.1.4). Oleh karena itu, dilakukan uji lanjutan yaitu uji LSD (*Least Significance Different*) untuk menunjukkan perbedaan signifikan dari tiap data yang diperoleh. Notasi huruf yang sama pada uji LSD untuk masing-masing kolom menunjukkan bahwa jarak migrasi remazol sama (tidak berbeda signifikan). Uji LSD yang dilakukan ada dua macam yaitu Uji LSD untuk mengetahui perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna dalam berbagai nilai pH buffer seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.4 dan Uji LSD untuk mengetahui perbedaan migrasi antara zat warna dalam nilai pH larutan buffer yang sama seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Tabel 4. 4. Uji LSD perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna dalam berbagai nilai pH buffer.

pH	Jarak Migrasi ( cm)				
	Red	Yellow	Brilliant	Turquoise	Violet
2	1,3 a	3,4 abc	2,3 ab	2,3 bc	1,1 a
3	1,4 a	2,2 a	1,4 a	1,3 b	1,1 a
4	2,1 ab	2,4 ab	1,6 a	1,4 b	1,8 ab
5	1,9 ab	2,4 ab	1,5 a	1,3 b	1,9 ab
6	2,7 bc	3,2 abc	1,6 a	0,3 a	2,3 abc
7	3,8 d	3,9 c	3,1 b	2,3 bc	3,3 c
8	3,5 cd	3,6 bc	2,1 ab	1,8 bc	2,8 bc
9	2,8 bcd	3 abc	2,2 ab	2,1 bc	2,9 bc
10	5,9 e	5,9 d	5,5 c	5,6 d	5,6 d
11	5,7 e	5,6 d	4,8 c	5,3 d	5,5 d
12	6,1 e	6,1 d	5,1 c	5,7 d	5,6 d

Berdasarkan pada Tabel 4.4 menunjukkan bahwa jarak migrasi remazol pada nilai pH yang berbeda memiliki jarak migrasi yang hampir semua sama berdasarkan uji LSD. Salah satunya seperti yang ditunjukkan pada Remazol Turquoise, dimana Remazol tersebut bermigrasi dengan jarak yang sama (tidak berbeda signifikan) berdasarkan uji LSD pada nilai pH 2,3,4,5,7,8 dan 9 ditunjukkan pada notasi yang sama yaitu notasi b. Remazol Turquoise juga bermigrasi dengan jarak yang sama (tidak berbeda signifikan) berdasarkan uji LSD pada nilai pH 10,11, dan 12 ditunjukkan pada notasi yang sama yaitu d.

Dengan demikian, meskipun jarak migrasi masing-masing remazol berdasarkan data yang diperoleh berbeda tetapi, jarak migrasi masing-masing remazol pada berbagai umur nata de coco tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan berdasarkan uji LSD dari nilai pH 2 sampai 12.

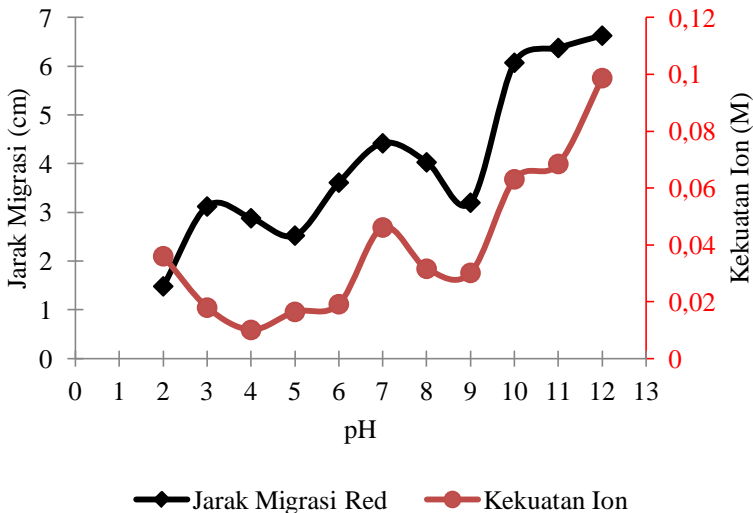
Uji LSD juga dilakukan untuk menunjukkan perbedaan jarak migrasi antara remazol dalam satu nilai pH yang sama seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.5. Jarak migrasi antara remazol pada masing-masing nilai pH 3,4 dan 11 memiliki notasi yang sama yaitu a yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dari jarak migrasi antara remazol dalam satu nilai pH tersebut. Perbedaan jarak migrasi antar remazol pada berbagai nilai pH menunjukkan data yang hampir sama menurut uji LSD karena ada beberapa remazol yang memiliki notasi yang sama dengan remazol yang lain dalam satu nilai pH yang sama.

Dengan demikian, meskipun jarak migrasi antar remazol berbeda berdasarkan data yang diperoleh tetapi, berdasarkan uji LSD jarak migrasi antara remazol pada umur nata de coco yang sama tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari nilai pH 2 sampai pH 12.

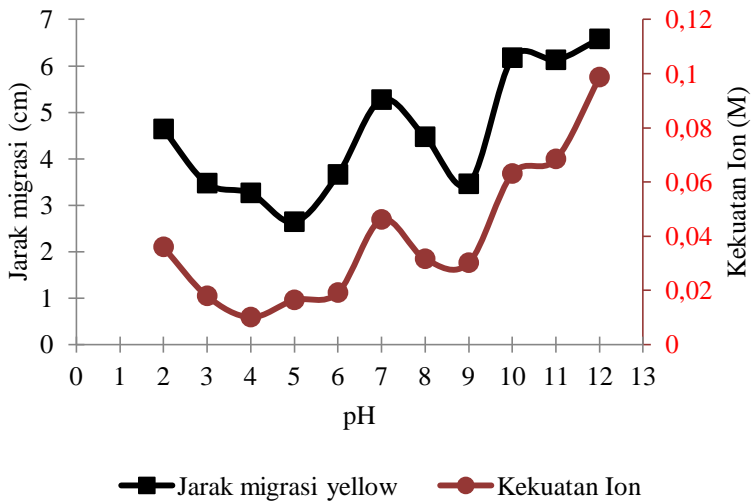
Tabel 4. 5. Uji LSD perbedaan jarak migrasi antara remazol dalam nilai pH yang sama

Remazol	Jarak Migrasi (cm)										
	pH 2	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9	pH 10	pH 11	pH 12
Red	1,3a	1,4a	2,1a	1,9ab	2,6bc	3,8b	3,5b	2,8a	5,9bc	5,7a	6,1b
Yellow	3,4b	2,2a	2,4a	2,4b	3,2c	3,9b	3,6b	3a	6c	5,6a	6,1b
Brilliant	2,3ab	1,4a	1,6a	1,5a	1,5ab	3,1ab	2,1a	2,2a	5,5a	4,8a	5,1a
Turquoise	2,3ab	1,3a	1,4a	1,3a	0,3a	2,3a	1,8a	2,1a	5,6a	5,3a	5,7ab
Violet	1,1a	1,4a	1,8a	1,9ab	2,3bc	3,3ab	2,8ab	2,9a	5,6ab	5,5a	5,6a

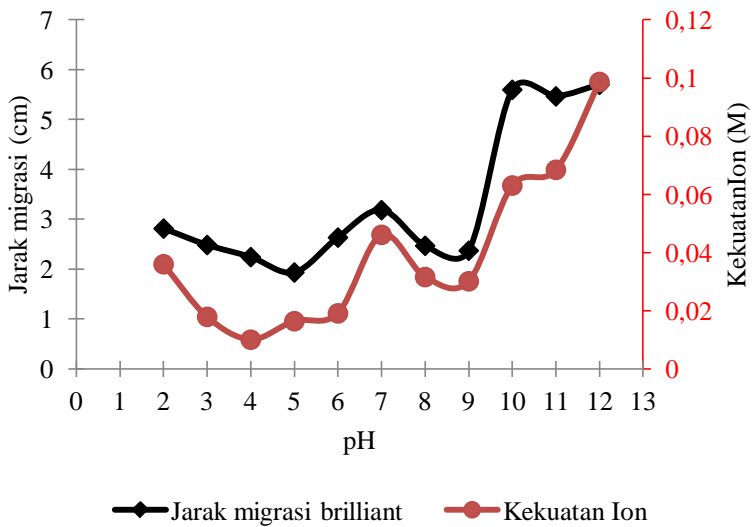
Nilai pKa maupun pH tidak akan konstan untuk semua kondisi terutama dalam sistem elektroforesis, dikarenakan adanya tegangan yang diberikan tetapi bentuk fungsi kekuatan ion bisa mewakili kondisi tersebut. Nilai kekuatan ion didapatkan dari perhitungan konsentrasi jumlah ion yang terdapat dalam buffer tersebut dengan satuan molar (M). Nilai kekuatan ion tertinggi terdapat pada larutan buffer pH 12 dan nilai kekuatan ion terendah terdapat pada larutan buffer pH 4. Hubungan antara nilai kekuatan ion, pH dan jarak migrasi disajikan pada Gambar 4.10-4.14 untuk masing-masing remazol yang digunakan. Davis, 1982 menyatakan bahwa mobilitas molekul tidak hanya dipengaruhi oleh pH dan kekuatan ion tetapi juga dipengaruhi oleh jumlah valensi dan jumlah ion lain yang terdapat didalamnya. Nilai kekuatan ion buffer mempengaruhi migrasi dari remazol dimana, semakin tinggi kekuatan ion larutan buffer maka akan menambah kecepatan migrasi dari molekul remazol.



Gambar 4. 10. Migrasi remazol red RB pada berbagai pH

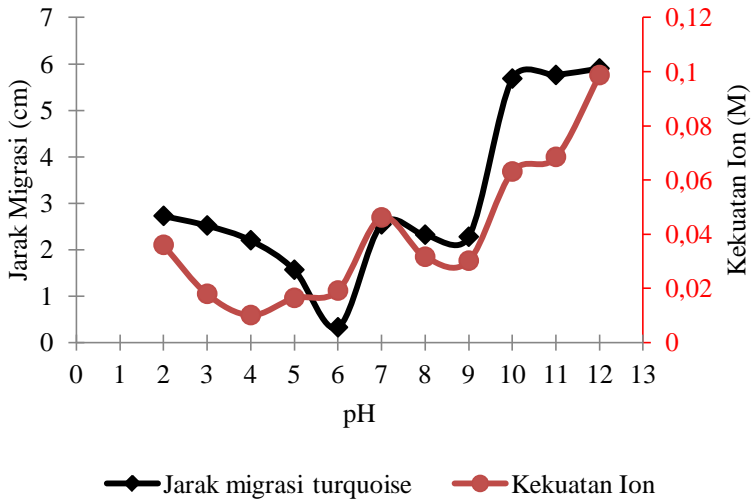


Gambar 4. 11. Migrasi remazol yellow FG pada berbagai pH

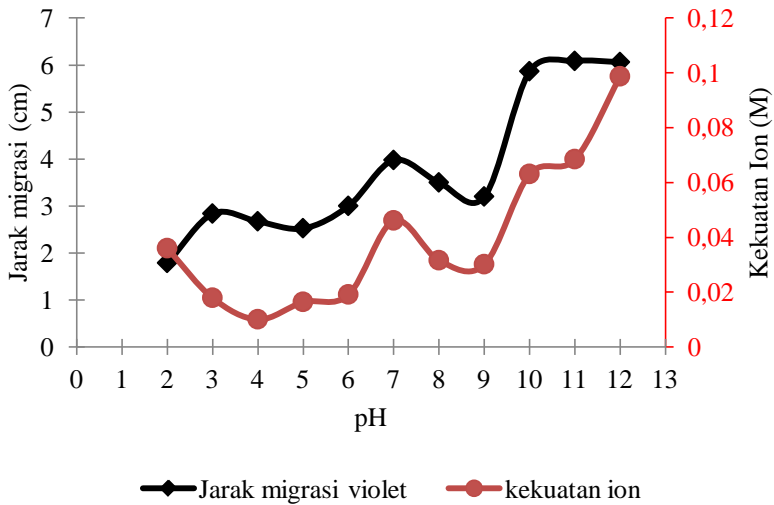


Gambar 4. 12. Migrasi remazol brilliant blue pada berbagai pH



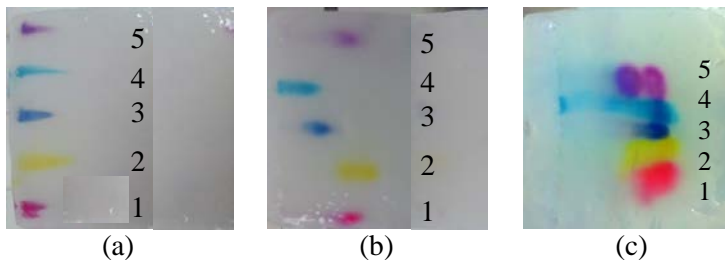


Gambar 4. 13. Migrasi remazol turquoise pada berbagai pH



Gambar 4. 14. Migrasi remazol violet 5R pada berbagai pH

Jarak migrasi remazol pada berbagai pH memiliki nilai yang bervariasi sesuai dengan nilai kekuatan ion dari pH larutan buffer yang digunakan. Jarak paling jauh pada komposisi buffer ( $\text{NaOH} + \text{H}_3\text{PO}_4$ ) adalah pada pH 2, Jarak migrasi terjauh pada komposisi ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) adalah pada pH 7 dan jarak migrasi terjauh pada komposisi buffer  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{Na}_3\text{PO}_4$  adalah pada pH 12. Hasil migrasi remazol pada kondisi asam pada pH 2 memiliki hasil pita yang meruncing diujung dan remazol tidak bermigrasi secara keseluruhan. Hasil resolusi elektroforesis pada pH 12 menghasilkan pita yang melebar dan remazol bermigrasi secara keseluruhan. Hasil yang paling baik ketika digunakan buffer pada pH 7 dimana, sampel remazol bergerak keseluruhan seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.15.



Gambar 4. 15. Hasil resolusi elektroforesis remazol pada (a) pH 2 (b) pH 7 (c) pH 12 menggunakan sampel (1) remazol red (2) remazol yellow (3) remazol brilliant (4) remazol turquoise (5) remazol violet

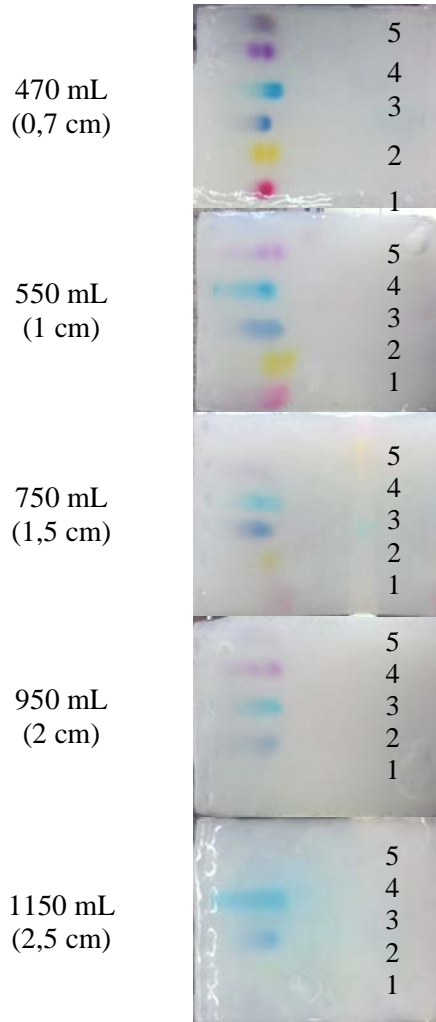
Jarak migrasi paling jauh diantara berbagai pH yang digunakan adalah pada pH 12, tetapi tidak menghasilkan resolusi yang baik. Dengan demikian, hasil yang paling baik dari penggunaan berbagai buffer adalah ketika digunakan larutan buffer dengan pH 7 yang terbuat dari  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{NaH}_2\text{PO}_4$  dengan nilai kekuatan ion sebesar 0,0461 M.

#### **4.6. Pengaruh volume dan ketinggian larutan buffer yang diambahkan terhadap migrasi remazol**

Dalam penelitian ini, pengaruh penambahan volume buffer yang digunakan diamati dengan menambahkan larutan buffer dengan ketinggian 0,7 – 2,5 cm dari batas bawah tempat gel nata de coco di chamber elektroforesis. Pada ketinggian 0,7 cm membutuhkan volume larutan buffer sebanyak 470 mL, ketinggian 1 cm membutuhkan volume larutan buffer sebanyak 550 mL, ketinggian 1,5 cm membutuhkan volume larutan buffer sebanyak 750 mL, ketinggian 2 cm membutuhkan volume larutan buffer sebanyak 950 mL dan ketinggian 2,5 cm membutuhkan volume larutan buffer 1150 mL. Ketinggian 2,5 cm merupakan batas ketinggian dari chamber elektroforesis.

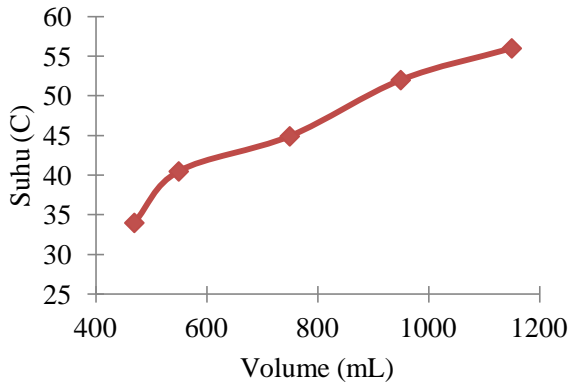
Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penggunaan larutan buffer pada ketinggian 2,5 cm dari dasar batas gel yang bervolume 1150 mL menghasilkan resolusi yang kurang baik yaitu sample tidak terlihat pita resolusinya. Penggunaan larutan buffer pada ketinggian 0,7 cm (volume 470 mL) menghasilkan resolusi yang paling baik karena jejak sampel terlihat jelas seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.17. Remazol Turquoise menunjukkan hasil yang baik karena dapat mempertahankan keadaan sampel tetap (tidak pudar) dalam gel meskipun volume semakin bertambah sedangkan, remazol red dan yellow kurang terlihat jejaknya ketika digunakan volume 950 mL dan 1150 mL seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.16.

Penambahan volume buffer ke dalam sistem elektroforesis yang semakin banyak menyebabkan hasil resolusi yang kurang baik, noda jejak pemisahannya kurang terlihat pada gel. Penambahan volume buffer yang semakin banyak menyebabkan ketahanan sampel untuk tetap dalam gel berkurang. Hal ini karena remazol cenderung untuk terlarut dalam larutan buffer ketika digunakan volume yang semakin banyak.



Gambar 4. 16. Hasil resolusi elektroforesis terhadap variasi volume dan ketinggian larutan buffer yang digunakan dengan menggunakan sampel remazol (1) red (2) yellow (3) briliant (4) turquoise (5) violet

Penambahan volume buffer yang semakin banyak menyebabkan terjadinya peningkatan suhu larutan buffer. Pada penggunaan larutan buffer ketinggian 2,5 cm yang bervolume 1150 memiliki suhu tertinggi yaitu 54°C dan pada ketinggian 0,7 cm memiliki suhu yang paling rendah yaitu 32°C seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.17.



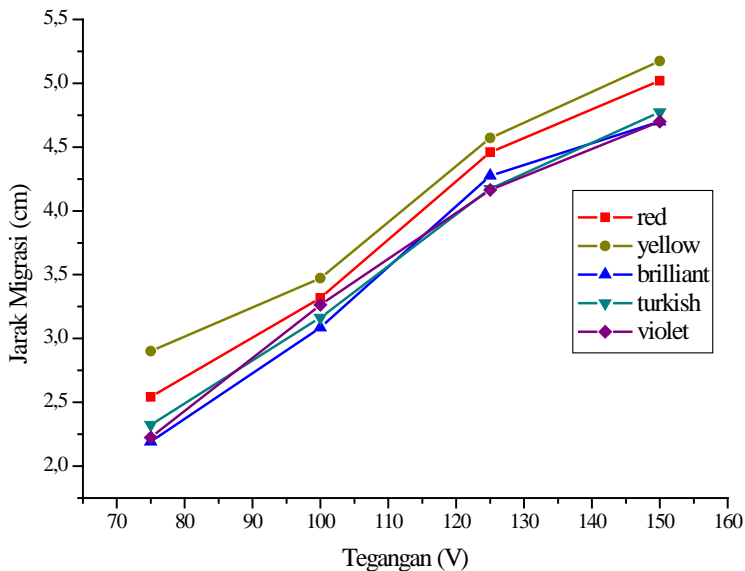
Gambar 4. 17. Pengaruh volume terhadap peningkatan suhu elektroforesis

#### 4.7. Pengaruh tegangan yang diberikan pada proses elektroforesis terhadap migrasi remazol

Tegangan berbanding lurus dengan kecepatan migrasi sampel dalam sistem elektroforesis, semakin besar tegangan yang diberikan maka kuat medan listrik juga semakin besar, sehingga gaya tarik anoda maupun katoda terhadap molekul dengan muatan yang berlawanan juga semakin besar (Adamson, 1997).

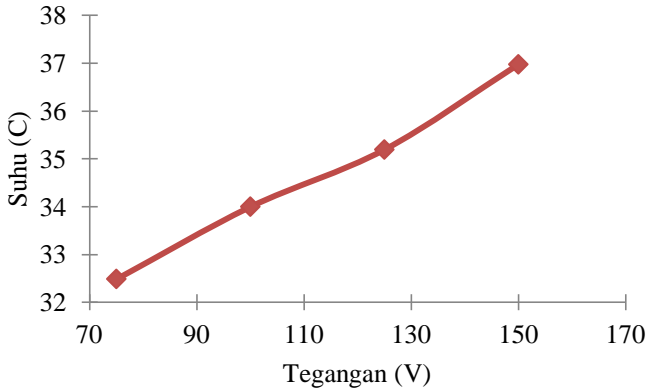
Pada penelitian ini, variasi tegangan yang digunakan mulai tegangan 75 V sampai dengan tegangan 150 V. Tegangan 150 V merupakan tegangan maksimum dari *power supply* yang digunakan. Hasil yang didapat jarak migrasi remazol paling jauh ketika digunakan tegangan 150 V dan jarak migrasi remazol yang paling pendek ketika digunakan

tegangan 75 V. Pada penggunaan waktu yang sama 15 menit, tegangan mempengaruhi pada kecepatan dari migrasi remazol dimana, semakin tinggi tegangan yang diberikan maka semakin cepat remazol akan bermigrasi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.18.



Gambar 4. 18. Pengaruh tegangan yang diberikan pada proses elektroforesis terhadap migrasi remazol

Tegangan yang semakin besar menyebabkan peningkatan suhu terhadap larutan buffer yang digunakan. Suhu yang paling tinggi yaitu  $37^{\circ}\text{C}$  pada tegangan 150 V dan suhu terendah  $32^{\circ}\text{C}$  pada tegangan 75 V. Suhu pada tegangan 150 V memiliki suhu yang relatif rendah ( $<50^{\circ}\text{C}$ ) sehingga, masih bisa digunakan pada percobaan selanjutnya. Peningkatan suhu ditunjukkan pada Gambar 4.19.



Gambar 4. 19. Pengaruh tegangan terhadap peningkatan suhu larutan buffer

Uji anova (*analysis of variance*) dilakukan terhadap data yang diperoleh untuk menghitung secara statistik apakah terdapat perbedaan jarak migrasi yang cukup signifikan terhadap pengaruh dari tegangan yang diberikan pada proses elektroforesis. Hasil uji anova yang diperoleh menunjukkan bahwa  $F_{hitung} (353,49) > F_{tabel} (2,84)$  sehingga  $H_0$  (tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai tegangan yang digunakan) ditolak dan menunjukkan kesimpulan bahwa sekurang-kurangnya terdapat satu nilai tegangan yang memberikan jarak migrasi yang berbeda (Lampiran C.1.7). Oleh karena itu, dilakukan uji lanjutan yaitu uji LSD (*Least Significance Different*) untuk menunjukkan perbedaan signifikan dari tiap data yang diperoleh. Notasi huruf yang sama pada uji LSD untuk masing-masing kolom menunjukkan bahwa jarak migrasi remazol sama (tidak berbeda signifikan). Uji LSD yang dilakukan ada dua macam yaitu Uji LSD untuk mengetahui perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna dalam berbagai tegangan seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.6 dan Uji LSD untuk mengetahui perbedaan migrasi antara zat warna dalam nilai tegangan yang sama seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.7.

Tabel 4. 6. Uji LSD perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna dalam berbagai tegangan

Tegangan	Jarak Migrasi (cm)				
	Red	Yellow	Briliiant	Turquoise	Violet
75	2,3a	2,7a	2,1a	2,3a	2,2a
100	3,1b	3,3b	2,9b	2,9b	3,0b
125	4,1c	4,3c	4,1c	3,9c	3,9c
150	4,8d	5d	4,5d	4,6d	4,6d

Berdasarkan Tabel 4.6 didapatkan bahwa, migrasi masing-masing remazol berbeda secara signifikan menurut uji LSD karena pada berbagai tegangan menunjukkan notasi yang berbeda yaitu a,b,c dan d.

Uji LSD juga dilakukan untuk menunjukkan perbedaan jarak migrasi antar remazol dalam tegangan yang sama seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.7. Jarak migrasi antara remazol pada masing-masing tegangan menunjukkan nilai yang hampir sama menurut uji LSD karena memiliki notasi yang sama yaitu a yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dari jarak migrasi antara remazol dalam satu tegangan tersebut. Dengan demikian, meskipun jarak migrasi antar remazol berbeda berdasarkan data yang diperoleh tetapi, berdasarkan uji LSD jarak migrasi antara remazol pada satu tegangan yang sama tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari tegangan 75V-150V.

Tabel 4. 7. perbedaan migrasi antara zat warna dalam nilai tegangan yang sama

Remazol	Jarak migrasi (cm)			
	75 V	100 V	125 V	150 V
Red	2,3 a	3,1 a	4,1 a	4,8 a
Yellow	2,7 b	3,3 b	4,3 a	5 a
Brilliant	2,1 a	2,9 a	4,1 a	4,5 a
Turquoise	2,3 a	2,9 a	3,9 a	4,6 a
Violet	2,2 a	3,0 a	3,9 a	4,6 a



#### 4.8. Pengaruh waktu elektroforesis terhadap migrasi remazol

Gel elektroforesis menggunakan media nata de coco dilakukan dengan variasi waktu yaitu 10 menit, 20 menit, 30 menit, 40 menit dan 50 menit dan tegangan yang digunakan tetap 150 V dan sampel remazol. Waktu 50 menit merupakan waktu yang dicapai oleh remazol ketika sampai pada ujung nata de coco.

Uji anova (*analysis of variance*) dilakukan terhadap data yang diperoleh untuk menghitung secara statistik apakah terdapat perbedaan jarak migrasi yang cukup signifikan dari pengaruh waktu elektroforesis. Hasil uji anova yang diperoleh menunjukkan bahwa  $F_{hitung} (539,28) > F_{tabel} (2,56)$  sehingga  $H_0$  (tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai waktu elektroforesis yang digunakan) ditolak dan menunjukkan kesimpulan bahwa sekurang-kurangnya terdapat satu nilai pH larutan buffer yang memberikan jarak migrasi yang berbeda (Lampiran C.1.8). Oleh karena itu, dilakukan uji lanjutan yaitu uji LSD (*Least Significance Different*) untuk menunjukkan perbedaan signifikan dari tiap data yang diperoleh. Notasi huruf yang sama pada uji LSD untuk masing-masing kolom menunjukkan bahwa jarak migrasi remazol sama (tidak berbeda signifikan). Uji LSD yang dilakukan ada dua macam yaitu Uji LSD untuk mengetahui perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna pada berbagai waktu elektroforesis seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.8. dan Uji LSD untuk mengetahui perbedaan migrasi antara zat warna dalam waktu yang sama seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.9.

Berdasarkan Tabel 4.8. didapatkan bahwa, migrasi masing-masing remazol berbeda secara signifikan menurut uji LSD pada berbagai waktu elektroforesis yang digunakan karena menunjukkan notasi yang berbeda yaitu a,b,c,d dan e.

Tabel 4. 8. Uji LSD perbedaan jarak migrasi masing-masing zat warna pada berbagai waktu elektroforesis

Waktu (menit)	Jarak Migrasi (cm)				
	Red	Yellow	Brilliant	Turquoise	Violet
10	2,1 <sup>a</sup>	2,3 <sup>a</sup>	1,9 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	2,5 <sup>a</sup>
20	5,1 <sup>b</sup>	5,1 <sup>b</sup>	3,2 <sup>b</sup>	3,7 <sup>b</sup>	4,2 <sup>b</sup>
30	7,3 <sup>c</sup>	7 <sup>c</sup>	4,3 <sup>c</sup>	5,2 <sup>c</sup>	5,7 <sup>c</sup>
40	10,4 <sup>d</sup>	9,9 <sup>d</sup>	5,3 <sup>d</sup>	5,8 <sup>d</sup>	6,9 <sup>d</sup>
50	12,3 <sup>e</sup>	11,8 <sup>e</sup>	6,7 <sup>e</sup>	7,4 <sup>e</sup>	7,7 <sup>e</sup>

Uji LSD juga dilakukan untuk menunjukkan perbedaan jarak migrasi antar remazol dalam waktu elektroforesis yang sama seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.9. Jarak migrasi antara remazol pada masing-masing waktu elektroforesis menunjukkan nilai yang hampir sama menurut uji LSD karena memiliki notasi yang sama. Remazol yellow dan remazol red memiliki jarak migrasi yang sama menurut uji LSD karena memiliki notasi yang sama, baik pada waktu 10 menit, 20 menit, 30 menit, 40 menit maupun 50 menit. Remazol brilliant juga memiliki jarak migrasi yang sama menurut uji LSD karena memiliki nilai yang sama pada berbagai waktu elektroforesis yang digunakan.

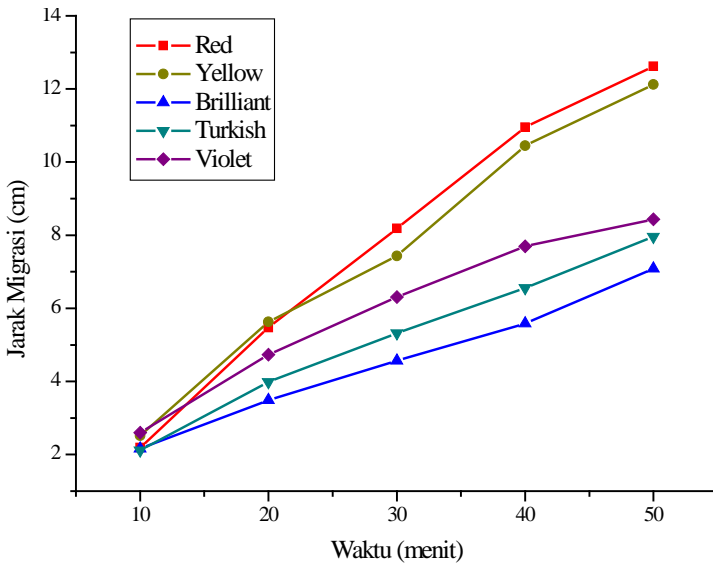
Tabel 4. 9. Uji LSD perbedaan migrasi antara zat warna dalam waktu yang sama

Remazol	Jarak migrasi (cm)				
	10 menit	20 menit	30 menit	40 menit	50 menit
Red	2,1 <sup>ab</sup>	5,1 <sup>c</sup>	7,3 <sup>c</sup>	10,4 <sup>c</sup>	12,3 <sup>c</sup>
Yellow	2,3 <sup>bc</sup>	5,1 <sup>c</sup>	7 <sup>c</sup>	9,9 <sup>c</sup>	11,8 <sup>c</sup>
Brilliant	1,9 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>	4,3 <sup>a</sup>	5,3 <sup>a</sup>	6,7 <sup>a</sup>
Turquoise	2 <sup>ab</sup>	3,7 <sup>ab</sup>	5,2 <sup>ab</sup>	5,8 <sup>ab</sup>	7,4 <sup>ab</sup>
Violet	2,5 <sup>c</sup>	4,2 <sup>b</sup>	5,7 <sup>b</sup>	6,9 <sup>bc</sup>	7,7 <sup>b</sup>

Dengan demikian, meskipun jarak migrasi antar remazol berbeda berdasarkan data yang diperoleh tetapi,

berdasarkan uji LSD jarak migrasi antara remazol pada waktu elektroforesis yang sama tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari waktu 10 menit sampai 50 menit.

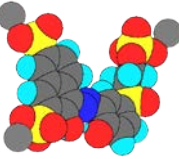
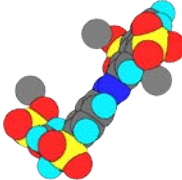
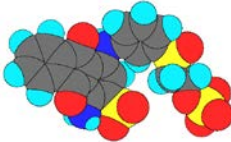
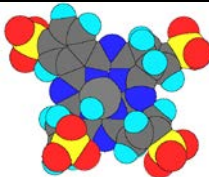
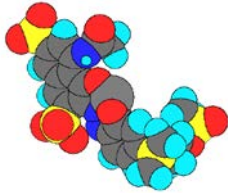
Peningkatan jarak migrasi remazol dalam berbagai waktu ditunjukkan pada Gambar 4.20. Jarak tempuh migrasi remazol semakin lama waktunya akan semakin jauh. Remazol red dan remazol yellow bermigrasi lebih jauh daripada remazol brilliant, violet dan turquoise. Urutan migrasi remazol dari yang paling jauh adalah remazol red, remazol yellow, remazol violet, remazol turquoise dan terakhir remazol brilliant.



Gambar 4. 20. Pengaruh waktu elektroforesis terhadap jarak migrasi remazol

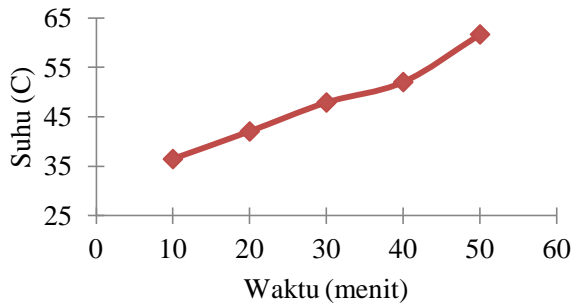
Ukuran dan bentuk masing – masing remazol diperkirakan menggunakan software *Chemdraw* dan disajikan dalam Tabel 4.10. Ukuran remazol yang paling besar berdasarkan perhitungan panjang ikatan antar atom adalah remazol brilliant blue R yang berukuran  $2,8911 \text{ nm}^3$ , sedangkan yang berukuran paling kecil adalah remazol red RB yang berukuran  $1,7774 \text{ nm}^3$ .

Tabel 4. 10. Bentuk dan ukuran remazol menggunakan *software chemdraw*

Pewarna Remazol	Bentuk molekul	Ukuran molekul
Remazol Red RB		Panjang : 2,5152 nm Lebar : 1,6246 nm Tinggi : 0,4350 nm Volume : 1,7774 nm <sup>3</sup>
Remazol Yellow FG		Panjang : 1,9399 nm Lebar : 1,2302 nm Tinggi : 0,7996 nm Volume : 1,9082 nm <sup>3</sup>
Remazol Brilliant Blue R		Panjang : 2,612 nm Lebar : 1,2938 nm Tinggi : 0,8555 nm Volume : 2,8911 nm <sup>3</sup>
Remazol Turquoise Blue G-133		Panjang : 2,6284 nm Lebar : 2,6284 nm Tinggi : 0,4000 nm Volume : 2,7633 nm <sup>3</sup>
Remazol Violet 5R		Panjang : 1,2665 nm Lebar : 2,1877 nm Tinggi : 0,8909 nm Volume : 2,4684 nm <sup>3</sup>

Perbedaan jarak migrasi remazol terhadap waktu elektroforesis ini disebabkan karena beberapa faktor diantaranya adalah ukuran molekul seperti yang telah ditunjukkan pada Tabel 4.5. hasil yang didapat menunjukkan bahwa ukuran molekul remazol red lebih kecil sehingga pergerakan remazol lebih cepat dari remazol yang lain. Remazol turquoise memiliki muatan total -4 lebih besar daripada yang lain, tetapi karena berat molekul yang besar 990,30 g/mol dan ukuran molekul yang besar migrasi remazol turquoise tidak terlalu jauh. Remazol brilliant blue memiliki jarak migrasi yang paling pendek, hal ini dikarenakan ukuran molekul remazol brilliant blue R yang besar yaitu 2,8911 nm<sup>3</sup>. Pewarna remazol merupakan pewarna yang memiliki berat molekul relatif (Mr) yang tidak terlalu besar, tetapi pewarna remazol memiliki syarat yang cukup digunakan sebagai pewarna dalam elektroforesis antara lain berwarna, memiliki muatan, dan dapat berikatan dengan senyawa lain.

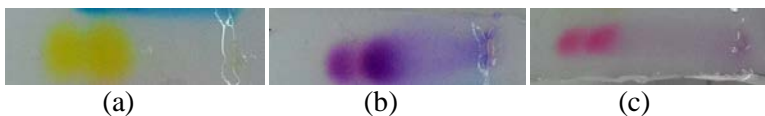
Durasi waktu elektroforesis juga menyebabkan terjadinya pemanasan pada larutan buffer fosfat. Peningkatan pemanasan yang terjadi ditunjukkan pada Gambar 4.21. 10 menit pertama elektroforesis berlangsung suhu 34°C. Pada menit ke-20 suhu meningkat menjadi 41°C. Suhu meningkat hingga pada waktu 50 menit suhu menjadi 59°C. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu elektroforesis yang dilakukan menyebabkan pemanasan larutan..



Gambar 4. 21. Pengaruh waktu elektroforesis terhadap peningkatan suhu

#### 4.9. Uji coba penggunaan remazol sebagai pewarnaan dalam pemisahan gelatin menggunakan gel nata de coco dalam proses gel elektroforesis

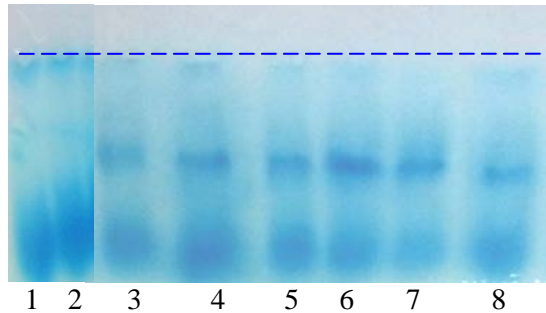
Lima pewarna remazol telah diujikan terhadap faktor – faktor yang mempengaruhi elektroforesis dengan menggunakan media nata de coco. Pewarna remazol yang dipilih adalah remazol turquoise sebagai pewarna yang digunakan untuk mewarnai gelatin diawal (prestaining) pada proses elektroforesis. Hal ini dikarenakan remazol turquoise memiliki ketahanan yang cukup (tidak mudah pudar) ketika digunakan dalam gel nata de coco seperti yang ditunjukkan pada subbab 4.6. Selain itu, remazol turquoise juga dipilih karena tidak memunculkan 2 pita warna pemisahan seperti yang terdapat pada remazol red, yellow dan violet ketika digunakan dalam proses elektroforesis seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.22. Adanya dua pita yang nampak akan mengganggu pembacaan hasil elektroforesis ketika digunakan pada gelatin. Oleh karena itu dipilih remazol turquoise.



Gambar 4. 22. Hasil resolusi elektroforesis remazol untuk (a) remazol red (b) remazol yellow (c) remazol violet

Gelatin yang digunakan pada penelitian kali ini adalah gelatin sapi, gelatin kapsul dan gelatin komersial. Gelatin dilarutkan menggunakan air dan dibuat konsentrasi 1200 ppm. Gelatin yang digunakan tidak berwarna dan tidak memendar ketika disinari sinar uv. Oleh karena itu, pewarnaan dilakukan menggunakan remazol turquoise terhadap gelatin yang akan digunakan pada metode gel elektroforesis. Gelatin dan remazol turquoise dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam selanjutnya sampel tersebut dilakukan elektroforesis menggunakan media nata de coco. Hasil pemisahan

menggunakan elektroforesis didapatkan hasil seperti pada Gambar 4.23.

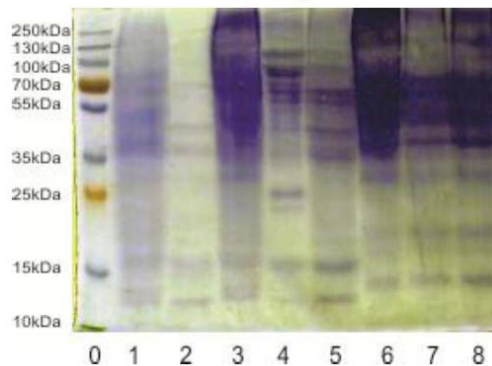


Gambar 4.23. Pemisahan gelatin dengan prestaining menggunakan remazol dengan media gel nata de coco. Keterangan gambar : 1-2 Remazol Turquoise Blue-G; 3-4 Gelatin Kapsul; 5-6 Gelatin Sapi; 7-8 Gelatin Komersial.

Pewarna remazol menghasilkan pita tunggal seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.23. (No. 1 dan 2). Gelatin yang diwarnai dengan remazol turquoise menghasilkan pemisahan fragmentasi 2 pita pemisahan. Jarak migrasi untuk pita paling jauh adalah 3,6 cm dan jarak migrasi untuk pita paling pendek 2 cm. Tidak ada perbedaan pemisahan yang terjadi antara gelatin kapsul, gelatin sapi dan gelatin yang dijual komersial masing – masingnya menghasilkan pemisahan dua pita. Perbedaan pita yang terjadi antara remazol turquoise tunggal dengan gelatin yang diwarnai dengan remazol turquoise menunjukkan bahwa penggunaan remazol sebagai pewarnaan diawal (prestaining) bisa dilakukan. Dua pita pemisahan tidak diidentifikasi lebih lanjut untuk senyawa hasil pemisahannya.

Penelitian sebelumnya pernah dilakukan menggunakan (Sodium Dodecyl Sulphate–Poly Acrylamide Gel Electrophoresis) SDS-PAGE. Pada penelitian sebelumnya Saputra, 2014 melakukan hidrolisis terhadap sampel gelatin dengan enzim pepsin yang berfungsi sebagai pemotong

menjadi fragmen-fragmentasinya. Pewarnaan yang dilakukan adalah pewarnaan diakhir menggunakan comassie blue R-250 dalam metanol 15% (v/v) dan asam asetat 5% (v/v). Hasil yang didapatkan ditunjukkan pada Gambar 4.24. Hasil pemisahan penelitian sebelumnya (saputra, 2014) untuk gelatin sapi 1,2cm;1,3cm;1,7cm;2,1cm; 2,2cm; 3,9cm dan 4,3cm. Pemisahan untuk gelatin babi 1,3cm; 1,8cm; 2,2cm; 3,9cm; 4,5cm. Hasil pemisahan untuk kapsul gelatin 1cm; 1,3cm; 1,8cm; 2,2cm; 3,6cm; 3,9cm dan 4,5cm seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.24.



Gambar 4.24. Hasil pemisahan gelatin menggunakan SDS-PAGE elektroforesis. keterangan gambar: 0 protein maarker, 1 gelatin sapi murni, 2 gelatin babi murni, 3 kapsul simulasi gelatin sapi, 4 kapsul simulasi gelatin babi, 5 kapsul simulasi campuran gelatin sapi dan babi, 6 Kapsul sampel A, 7 Kapsul sampel B, 8 Kapsul Sampel C (Saputra, 2014).

Hasil elektroforesis gelatin menggunakan nata dan hasil penelitian menggunakan SDS-PAGE berbeda dari jumlah pita yang dihasilkan. Perbedaan keduanya antara lain: Penggunaan media gel, Pewarnaan gelatin, dan reaksi hidrolisis terhadap gelatin.



*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## **BAB V**

### **KESIMPULAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

Pemanfaatan gel nata de coco sebagai media dalam proses gel elektroforesis telah dilakukan. Berdasarkan hasil pengamatan dan data yang diperoleh menunjukkan kesimpulan bahwa gel nata de coco dapat digunakan sebagai gel dalam proses gel elektroforesis dengan kondisi sebagai berikut :

1. Nata de coco dapat digunakan sebagai gel media dalam proses elektroforesis dengan umur nata de coco yang dapat digunakan minimal 4 hari.
2. Bufer fosfat yang digunakan terbuat dari garam-garamnya
3. Nilai pH larutan buffer fosfat tidak memberikan pengaruh terhadap migrasi remazol, melainkan yang mempengaruhi adalah kekuatan ionnya, dimana semakin besar kuat ion maka semakin jauh jarak migrasi remazol.
4. Semakin besar tegangan yang diberikan pada gel elektroforesis, kecepatan migrasi remazol semakin tinggi.
5. Semakin tinggi larutan buffer yang ditambahkan, semakin buruk hasil resolusi yang dihasilkan. Hasil terbaik pada penggunaan buffer fosfat ketinggian 0,7 cm dari dasar nata de coco
6. Semakin lama waktu elektroforesis, semakin jauh jarak migrasi yang ditempuh remazol.
7. Pemisahan gelatin menggunakan pewarnaan remazol turquoise blue menghasilkan 2 pita pemisahan dengan jarak pemisahan 2 cm dan 3,6 cm.

#### **5.2. Saran**

Saran untuk penelitian selanjutnya, perlu dikembangkan mengenai preparasi sampel agar sampel lebih berat di dalam lubang nata, misalnya dengan penambahan gliserin. Pada pemisahan gelatin perlu dilakukan pemotongan menggunakan enzim agar terpisah menjadi fragmen-fragmentnya ketika digunakan pada elektroforesis.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## Daftar Pustaka

- Ada, Kezban., 2009. Adsorption of Remazol Brilliant Blue R using ZnO fine powder: Equilibrium, kinetic and thermodynamic modeling studies, Turkey: Kurikkale University.
- Adamson, N. J. & Reynolds, E. C., 1997. Rules Relating Electrophoretic Mobility, Charge And Molecular Size Of Peptides And Protein. *Journal of Chromatography*, Volume 699, pp. 133-147.
- Akari, S. T., Akari, T. & Cabuk, A., 2009. Decolorization Of a Textile Dye Reactive Red 198 (RR198) By *Aspergillus Parasiticus* Fungal Biosorbent, Turkey: Eskisehir Osmangazi University.
- Aldrich, S., 1996. Agarosa Product Information, USA: Saint Louis Missouri.
- Atkins, P. & Paula, J. d., 2010. *Physical Chemistry*. Ninth Edition. Great Britain: Oxford University Press.
- Ausubel, Fredrik. M., 1992. *Short Protocols in Molecular Biology "Coomassie Blue Staining"*, New York: Jhon Wiley & Sons, Inc.
- Bayuana, Dwi. Rizky., 2015. Karakteristik Nata Hasil Fermentasi Air Cucian Beras Menggunakan *Aspergillus oryzae* dan *Acetobacter xylinum*., Jember: Universitas Jember.
- Berg, J., Tymoczko, J. & Stryer, L., 2002. *Biochemistry*. 5th Edition.: WH Freeman.
- Christie, R. M., 2001. *Colour Chemistry*, United Kingdom: RSC.

- Davis, Bernard D., Edwin J. Cohn., 1983. The Influence of Ionic Strength and pH on Electrophoretic Mobility. Boston; Harvard Press
- Fromin, N.; Hamelin, J.; Tarnawski, S.; Roesti, D.; Jourdain-Miserez, K.; Foreister., 2002. Statistical Analysis of Denaturing Gel Electrophoresis (DGE) fingerprinting patterns. *Environment Microbial*, Volume 4, pp. 634-643.
- García-Descalzo, L. García-López, Eva; Alcázar, Alberto; Baquero, Fernando; Cid, and Cristina., 2012. Gel Electrophoresis of Proteins, Rijeka, Croatia: InTech.
- Gebauer, P., 2000. Capillary zone electrophoresis in phosphate buffer – known or unknown?, Czech Republic: Institute of Analytical Chemistry Academy of Sciences of the Czech Republic.
- Gomez-Guillen, M; Perez-Mateos, M.; Gomez-Estaca, J.; Lopez-Caballero, E.; Montero, B. Gimenez & P., 2009. Fish Gelatin: A Renewable Material for Developing active biodegradable films. *Trends in Food Science & Technology*, 20(No.1), pp.3-16.
- Gordon, A., 1975. Electrophoresis of proteins in polyacrylamide and starch gels, New York: American Elsevier Publishing Company,inc.
- Griffith, I., 1972. Immediate Visualization of Protein in Dedocyl Sulfate-Polyacrylamide Gel by Prestaining with Remazol Dyes. *Analytical Biochemistry*, Volume 46, pp. 401-412.

- Holde, K. E. v., Johnson, W. C. & Ho, P. S., 2006. Principles of Physycal Biochemistry. 2nd penyunt. USA: Pearson Education,Inc.
- Iguchi, M., Yamanaka, S. & Budhiono, A., 2000. Bacterial Cellulose A Masterpiece Of Nature's Art. Journal Of Material Science, Volume 35, pp. 261-270.
- Jain, Kunal., 2012. Decolorization And Degradation Of Azo Dye – Reactive Violet 5R By An Acclimatized Indigenous Bacterial Mixed Cultures-SB4 Isolated From Anthropogenic Dye Contaminated Soil, India: Sardar Patel University.
- Jorgenson, J., 1981. High Resolution Chromatography. Chromatogr, Volume 4, pp. 230.
- Kurniawan, Fredy., Sulistyana., Ita Ulfin. 2014. New Bacterial Cellulose Membranes from Chayote Fruit and Bamboo Shoots. International Journal of Applied Chemistry, Vol. 10, Issue 2, pp.101-112
- Lodge, J., Lund, P. & Minchin, S., 2007. Gene cloning: principles and applications,;ISBN 0-7487-6534-4.
- Mandel, 2004. Capability of Acetobacter Xylinum to Convert Celluose. New York: McGraw Hill, Inc.
- McKee, T. & McKee, J. S., 2012. Biochemistry : The Molecular Basis of Life. 5th. New Yok: Oxford University Press.
- Mickelson, R., Eduardo, C., 2004. Bioanalytical Chemistry. Hoboken-New Jersey: Jhon Wiley & Sons,Inc.
- Narayan, K. A. & Kummerow, F. A., 1966. A Comparison Of Dyes Used For Staining Electrophoretically Separated

Lipoprotein Components. Clin. Chim. Acta, Volume 13, pp. 532-535.

Nogueira, T., 2011. Determination of Ca, K, Mg, Na, sulfate, phosphate, formate, acetate, propionate, and glycerol in biodiesel by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. Microchemical Journal, Volume 99, pp. 267-271.

Oktavianti, V., 2003. Analisis Struktur Bioselulosa Nata de Coco Berdasarkan Metode Spektroskopi NMR, Universitas Diponegoro: Semarang.

Palungkun, R., 2004. Aneka Produk Olahan Kelapa, Jakarta: Penebar Swadaya.

Pasteur, N.; Pasteur, G.; Bonhomme, F.; Catalan, J.; Britton, J.; Davidian., 1988. Practical Isozyme Genetics, France: University of Montpellier.

Pramila, M., 2014. Electrochemical decolorization and degradation of Turquoise Blue G (TBG) by pre-adapted petroleum degrading bacteria, India: Central Electrochemical Research.

Prescot, L., Hartley, J. & Klein, D., 1990. Microbiology. New York: Jhon Wiley and Sons Inc.

Rasjid, D., Kasoenarno, G., Astini, S. & Arifin, L., 1976. Teknologi Pengelantangan, Pencelupan dan Pencapan, Bandung: Institut Teknologi Tekstil.

Reddy, P. R. & Raju, N., 2012. Gel-Electrophoresis and Its Application.: S. Magdeldin, penyunt. Gel Electrophoresis - Principles and Basics. Rijeka, Croatia: InTech, pp. 15-32.

- Reddy, P. R. & Raju, N., 2012. Gel-Electrophoresis and Its Applications - Department of Chemistry, Osmania University, Hyderabad, India: InTech.
- Reznick, A., 1973. Sequential elution of proteins in small volumes by preparative polyacrylamide gel electrophoresis. *Anal. Biochem.*, Volume 52(2), pp. 395-401.
- Richardson, B., Baverstock, P. & Adams, M., 1986. Allozyme Electrophoresis. A Handbook for Animal Systematics and Population Studies, San Diego: Academic Press Inc.
- Roby, J. F. & White, B. J., 1990. Biochemical Techniques Theory and Practice.:Waveland Press.
- Rozenberga, L. Skute, Marite; Belkova, Lubova; Sable, Inese; Vikele, Laura., 2015. Characterisation of film and nanopaper obtained from cellulose synthesised by acetic acid bacteria, Latvia: Latvia University Press.
- Sambrook, J. & Russel, D., 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sanderson, B. A. Araki, NAoko; Lilley, Jennifer L.; Guerrero, Gilberto; Lewis, L. Kevinl., 2014. Modification of gel architecture and TBE/TAE buffer composition to minimize heating during agarose gel electrophoresis. *Analytical Biochemistry*, Volume 454, pp. 44-52.
- Saputra, F. R., 2014. Aplikasi Metode SDS-PAGE (Sodium Dedocyl Sulphate Poly Acrilamide Gel Electrophoresis) Untuk Mengidentifikasi Sumber Gelatin Pada Kapsul Keras, Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

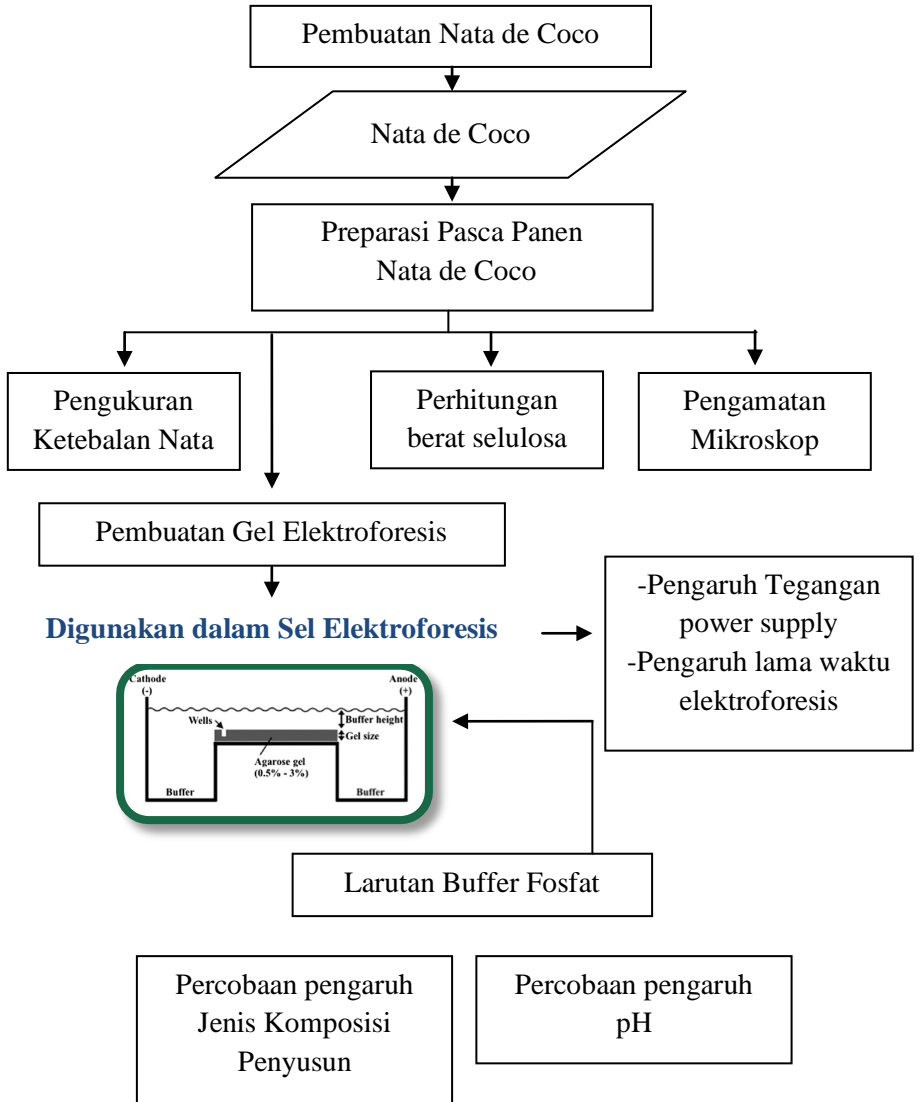


- Schelp, C. & Kaaden, O., 1989. Enhanced full-length transcription of Sindbis virus RNA by effective denaturation with methylmercury hydroxide. *Acta viologica*, Volume 3, pp. 297-302.
- Sukardjo, 2002. *Kimia Fisika*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Sulistiyana dan Ulfin, I., 2011. Studi Adsorpsi Kation Ca dan Mg (Penyebab Kesadahan) Menggunakan Selulosa Bakteri Nata de coco dengan Metode Batch. *Prosiding Seminar Nasional Waste Management I*. ISBN 978-602-95595-4-5, pp. 432-438.
- Sunarsih, E., 2010. *Bioremediasi Limbah Air kelapa Sebagai Bahan Baku Pembuatan Nata De coco*. Malang: FMIPA UM.
- Titrawani, 1996. *Biodiversiti Kodok Genus Rana ditinjau dari Morfologi, Kariotip dan Pola Protein di Kodya Sawahlunto*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ul-Islam, M, Khan; T, Park., 2012. Water Holding and Release Properties of Bacterial Cellulose Obtained by in Situ and ex Situ Modification. *Carbohydrate Polymers* 88(2), 596–603., 2(88), pp. 596-603.
- Ulfin, Ita., Widiastuti, Nurul., Kusumawati, Yuly., Ni'mah, Yatim Lailun., Farahnaz, Rizqa Rif'ati. 2012. Studi Transport Zat Warna Metylen Biru, Gentian Violet dan Congo Red Melalui Membran Nata de Coco. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa 2012*; ISBN: 978-979-028-550-7
- Vicente, M. E. Sastre de., 2004. The Concept of Ionic Strength Eighty Years after Its Introduction in Chemistry. *Journal of Chemical Education*, Volume 3, pp. 81.

- Voet, D., Voet, J. G. & Pratt, C. W., 2011. 4th Edition Biochemistry. 4th penyunt. USA: Jhon Wiley & Sons, Inc.
- Watson, D. G., 2009. Analisis Farmasi : Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi Edisi 2, Jakarta: EGC.
- Westemeier, 2004. Electrophoresis in Practice: A Guide to theory and Practice, New Jersey: Jhon Wiley & Sons Inc.
- Wolf, F. D., 2003. Collagen and Gelatin In Progress In Biotechnology. Elsevier Science, Volume 23, pp. 133-218.
- Wolfom, M., Taylor, H. & Hibbert, H., 1946. Advanced in Carbohydrate Chemistry. New York: Academic Press.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## Lampiran A Skema Kerja



## Lampiran B PERHITUNGAN

### B.1. Perhitungan pembuatan buffer fosfat

Buffer fosfat dihitung menggunakan persamaan Henderson-Hasselbach yang dicontohkan seperti pada contoh dibawah ini :

$$[H^+] = K_a \frac{[H_3PO_4]}{[NaH_2PO_4]}$$

$$10^{-2} = 7,5 \cdot 10^{-3} \frac{[H_3PO_4]}{[NaH_2PO_4]}$$

$$\frac{[H_3PO_4]}{[NaH_2PO_4]} = 1,33$$

Perbandingan mol yang digunakan

$$H_3PO_4 = 0,0133 \text{ mol}$$

$$NaH_2PO_4 = 0,01 \text{ mol}$$

Jadi volume yang akan dipipet dan berat yang akan ditimbang:

$$H_3PO_4 = 0,0133 \text{ mol}$$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$14,83 \text{ mmol/ml} \times V_1 = 0,0133 \text{ mol}$$

$$V_1 = 0,89 \text{ mL}$$

$$NaH_2PO_4 = 0,01 \text{ mol} \times 141,96 \text{ g/mol} = 1,4196 \text{ gram}$$

Dengan cara perhitungan yang sama data hasil perhitungan untuk pembuatan buffer pH 9. Senyawa yang lain ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Perhitungan

1	NaOH	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
	8,0645 gram	6,85 mL
2	KOH	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
	11,312 gram	6,85 mL
3	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
	0,0222 gram	1,4196 gram

Tabel 2. Hasil perhitungan pembuatan buffer pH 2-9 menggunakan buffer garam fosfat

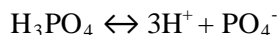
pH	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
1	14,83 M ; 8,9 mL	1,3799 gram
2	14,83 M ; 0,89 mL	1,3799 gram
3	14,83 M ; 0,089 mL	1,3799 gram
4	0,01 M ; 1,3 mL	1,3799 gram
pH	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
5	2,2256 gram	0,01419 gram
6	2,2256 gram	0,14196 gram
7	2,2256 gram	1,4196 gram
8	0,22256 gram	1,4196 gram
9	0,022256 gram	1,4196 gram
pH	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
10	2,9570 gram	0,0380 gram
11	2,9570 gram	0,3800 gram
12	2,9570 gram	3,800 gram

## B.2. Perhitungan konduktivitas molar

Konduktivitas molar dihitung menggunakan rumus

$$\Lambda^{\circ}_m = \nu_+ \lambda_+ + \nu_- \lambda_-$$

Contoh perhitungan yang digunakan adalah menghitung konduktivitas molar dari H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Perhitungan konduktivitas molar H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> berasal dari ion-ionnya seperti perhitungan dibawah ini :



-Menghitung limit konduktifitas molar

$$\Lambda_m^o = \nu_+ \lambda_+ + \nu_- \lambda_-$$

$$\Lambda_m^o = 3 \times 349,6 + 1 \times 207$$

$$\Lambda_m^o = 556,6 \text{ S.cm}^2\text{mol}^{-1}$$

-menghitung konduktifitas molar senyawa

$$\Lambda_m = \Lambda_m^o - KC^{1/2}$$

$$\Lambda_m^o = 556,6 - 1 \cdot \sqrt{0,1015}$$

$$\Lambda_m^o = 556,6 - 0,318$$

$$\Lambda_m^o = 556,282 \text{ S.cm}^2\text{mol}^{-1}$$

\*) nilai K dianggap 1 sama untuk semua larutan

Perhitungan konduktivitas molar untuk senyawa yang lain ditunjukkan pada Tabel 3.

Konduktifitas molar dalam larutan yang terdiri atas dua senyawa adalah penjumlahan dari nilai konduktifitas dua senyawa itu. Besarnya seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 3. Hasil perhitungan konduktivitas molar masing – masing senyawa

Senyawa	Kation	Anion	V <sub>+</sub>	λ <sub>+</sub>	V <sub>-</sub>	λ <sub>-</sub>	Λ <sub>m</sub> <sup>o</sup> S.cm <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup>	C (M)	Λ <sub>m</sub>
NaOH	Na <sup>+</sup>	OH <sup>-</sup>	1	50,1	1	199,1	249,2	0,2016	248,75
KOH	K <sup>+</sup>	OH <sup>-</sup>	1	73,5	1	199,1	272,6	0,2900	272,06
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	3H <sup>+</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1	349,6	1	207	556,6	0,101585	556,28
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Na <sup>+</sup>	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	1	50,1	1	57	107,1	0,00016	107,09
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2Na <sup>+</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1	50,1	1	66	116,1	0,01	116,09
Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	3Na <sup>+</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1	50,1	1	207	257,1	-	-

Tabel 4. Hasil perhitungan konduktivitas molar campuran

Komponen Buffer	Konduktivitas molar campuran
NaOH + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	805,03 S. cm <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup>
KOH + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	828,34 S. cm <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup>
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	223,18 S. cm <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup>

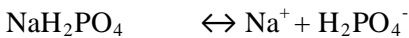
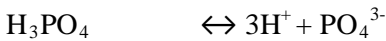


### B.3. Perhitungan kekuatan Ion

Kekuatan ion dihitung menggunakan rumus dibawah ini.  
contoh perhitungan kekuatan ion

Larutan buffer pH 3 dibuat dengan mencampurkan 0,00132 mol  $\text{H}_3\text{PO}_4$  dan 0,01 mol  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  hingga 1L. Konsentrasi  $\text{H}_3\text{PO}_4$  adalah 0,00132 M, Konsentrasi  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  adalah 0,01 M.

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n c_i \cdot z_i^2$$



$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n c_i \cdot z_i^2$$

$$I = \frac{1}{2} (3 \cdot [\text{H}^+] \cdot z_{\text{H}^+}^2 + [\text{PO}_4^{3-}] \cdot z_{\text{PO}_4^{3-}}^2 + [\text{Na}^+] \cdot z_{\text{Na}^+}^2 + 2 \cdot [\text{H}_2\text{PO}_4^-] \cdot z_{\text{H}_2\text{PO}_4^-}^2)$$

$$I = 0,0179 \text{ M.}$$

Tabel 5. Perhitungan kekuatan ion masing – masing pH

pH	[Na <sup>+</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	[H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	3. [H <sup>+</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	[PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	kekuatan ion (M)
2	0,010001	+1	0,010001	-1	3 x 0,004335	+1	0,004335	-3	0,03600965
3	0,010004	+1	0,010004	-1	3 x 0,00132	+1	0,00132	-3	0,01792315
4	0,01	+1	0,01	-1	3 x 0,000013	+1	0,000013	-3	0,010078
pH	[Na <sup>+</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	[H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	2 . [Na <sup>+</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	[HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	kekuatan ion
5	0,016131	+1	0,016131	-1	2 x 0,0001	+1	0,0001	-2	0,0164309
6	0,016129	+1	0,016129	-1	2 x 0,001002	+1	0,001002	-2	0,01913525
7	0,01613	+1	0,01613	-1	2 x 0,010001	+1	0,010001	-2	0,04613438
8	0,001613	+1	0,001613	-1	2 x 0,009999	+1	0,009999	-2	0,03161105
9	0,000162	+1	0,000162	-1	2 x 0,01	+1	0,01	-2	0,03016233
pH	2. [Na <sup>+</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	[HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	3 . [Na <sup>+</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	[PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ]	(Z <sub>i</sub> ) <sup>2</sup>	kekuatan ion
10	2 x 0,02083	+1	0,02083	-2	3 x 0,0001	+1	0,0001	-3	0,06309
11	2 x 0,02083	+1	0,02083	-2	3 x 0,001	+1	0,001	-3	0,06849
12	2 x 0,02083	+1	0,02083	-2	3 x 0,01	+1	0,01	-3	0,12249

## Lampiran C

### Analisis Data Hasil Penelitian

#### C. 1. Perhitungan Standar Deviasi Data

Hasil data yang didapatkan diolah dengan mencari simpangan baku data untuk mengetahui seberapa besar keragaman dari data yang didapatkan. Perhitungan standar deviasi menggunakan rumus dibawah ini:

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

#### C.2. Uji ANOVA (*Analisis of Variance*) dan Uji LSD (*Least Significance Different*)

Apabila ada faktor yang berbeda nyata perlu diuji dengan uji perbandingan berganda untuk mengetahui level manakah yang saling berbeda. Dalam hal ini, pengaruh dari masing – masing remazol, dan masing – masing variasi akan ditinjau secara statistik di tingkat mana perbedaan itu.

Uji Anova hanya memberikan indikasi tentang ada tidaknya beda antar rata - rata dari keseluruhan perlakuan, namun belum memberikan informasi tentang ada tidaknya perbedaan antara individu perlakuan yang satu dengan individu perlakuan lainnya. Untuk uji yang lebih mendalam maka mesti dilakukan uji lanjut uji BNt (Beda Nyata terkecil) atau yang lebih dikenal sebagai uji LSD (*Least Significance Different*) sebagai acuan dalam menentukan apakah rata - rata dua perlakuan berbeda secara statistik atau tidak.

$$\text{LSD} = (t_{\alpha, df_e}) \cdot \sqrt{\frac{2(MS_E)}{r}}$$

**C.1.1. Data pengukuran ketebalan nata de coco**

Nata de coco diukur ketebalan keempat sisinya menggunakan jangka sorong dan hasil datanya ditunjukkan pada tabel dibawah ini dengan satuan ketebalan mm.

**Tabel 6. Ketebalan nata de coco dalam tiga kali pengulangan pengukuran.**

Umur Nata (hari)	Ketebalan (mm)				Ketebalan (mm)				Ketebalan (mm)				$\bar{x} \pm sd$
	Sisi 1	Sisi 2	Sisi 3	Sisi 4	Sisi 1	Sisi 2	Sisi 3	Sisi 4	Sisi 1	Sisi 2	Sisi 3	Sisi 4	
3	3,24	3,12	3,01	2,87	2,1	2,21	2,76	2,56	1,75	1,79	1,86	1,56	2,9842 ± 1,0230
	3,01	3,03	2,85	2,98	2,45	2,43	2,24	2,28	1,72	1,65	1,98	1,78	
4	4,34	4,32	4,02	4,24	3,72	4,22	4,02	4	4,12	4,54	4,12	4,54	4,5418 ± 0,8435
	4,32	4,11	4,22	4,54	3,65	3,67	3,97	3,45	4,03	4,46	4,09	4,2	
5	5,85	5,06	4,95	5,68	4,69	4,55	4,79	4,45	6,49	6,73	6,5	6,89	5,7007 ± 0,8912
	5,87	5,79	5,69	5,1	5,01	4,21	4,75	4,82	6,51	5,77	6,95	6,34	
6	5,55	6,05	6,44	5,5	5,78	5,81	5,92	5,67	5,68	6,45	6,87	6,12	6,2253 ± 0,6885
	5,57	5,78	5,98	6,01	5,54	5,21	5,01	5,15	5,98	6,95	6,45	6,99	
7	6,95	6,57	6,78	6,9	6,49	6,63	6,01	6,23	6,98	6,91	6,75	6,29	6,7945 ± 0,5688
	6,05	6,78	6,45	6,68	7,21	7,35	6,98	6,76	7,61	7,01	6,65	7,54	

8	7,01	7,22	7,25	7,45	7	7,22	7,54	7,32	8,01	8,23	8,3	8,45	$7,7145 \pm 0,4930$
	7,88	7,72	7,61	7,89	7,21	7,34	7,85	7,21	7,45	8,45	8,22	8,01	
9	8,45	8,22	9,02	8,88	9,21	9,3	8,88	8,99	8,7	8,62	8,45	9,02	$8,9250 \pm 0,4482$
	8,47	8,3	9,26	8,76	8,58	8,01	8,47	8,3	9,26	8,76	9,35	9,1	

**C.1.2. Data pengamatan berat selulosa nata de coco**

Hari Ke	Pengu- langan	Berat Basah (g)	Berat Kering (g)	% kadar Air	$\bar{x} \pm sd$
3	1	27,78	0,3235	98,84	0,2899 $\pm$ 0,0407
	2	28,94	0,3016	98,96	
	3	26,56	0,2446	99,08	
4	1	75,03	0,5828	99,22	0,5864 $\pm$ 0,0136
	2	71,29	0,6014	99,16	
	3	69,23	0,5749	99,17	
5	1	110,5	0,991	99,10	0,9647 $\pm$ 0,0276
	2	113,23	0,967	99,15	
	3	105,47	0,936	99,11	
6	1	122,2	1,1666	99,05	1,2051 $\pm$ 0,0355
	2	125,14	1,2123	99,03	
	3	121,19	1,2365	98,98	
7	1	111,35	1,3057	98,83	1,3221 $\pm$ 0,0182
	2	124,21	1,3417	98,92	
	3	116,94	1,3189	98,87	
8	1	108,65	1,6322	98,50	1,6278 $\pm$ 0,0183
	2	126,76	1,64339	98,70	
	3	119,49	1,6077	98,65	
9	1	142,43	2,0218	98,58	2,1893 $\pm$ 0,1546
	2	152,81	2,2198	98,55	
	3	143,28	2,3264	98,38	

### C.1.3. Data pengamatan pengaruh berbagai jenis buffer fosfat terhadap migrasi remazol

Buffer	Sample	Jarak migrasi (cm)			$\bar{x} \pm sd$
		1st	2nd	3th	
NaOH + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Red	3,2	5,5	3,8	4,16 ± 1,1930
	Yellow	3,5	6	4	4,50 ± 1,3229
	Brilliant	2,4	4,3	3,3	3,33 ± 0,9504
	Turkish	1,5	5,3	3,6	3,46 ± 1,9035
	Violet	3	5,5	4	4,166 ± 1,2583
	Suhu	61	60	71	64,66 ± 5,75
	61	62	73		
KOH + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Red	3,2	4,1	4	3,76 ± 0,493
	Yellow	3,5	5	4,5	4,33 ± 0,764
	Brilliant	3,1	4,1	3,6	3,60 ± 0,50
	Turkish	3,1	4,1	3,5	3,56 ± 0,5033
	Violet	~	4,1	~	4,10 ± 4,1
	Suhu	60	55	70	61,67 ± 6,2823
	58	58	69		
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> + NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Red	2,5	2,3	2	2,2667 ± 0,25
	Yellow	2,6	2,2	1,7	2,1667 ± 0,450
	Brilliant	2,5	2,2	1,7	2,1333 ± 0,4041
	Turkish	2,4	2	2	2,1333 ± 0,2309
	Violet	2,6	2,4	2	2,3333 ± 0,3055
	Suhu	38	40	38	38,67 ± 2,0656
	36	38	42		

### C.1.4. Data pengaruh pH terhadap migrasi remazol

pH	Warna	Pengulangan (cm)			$\bar{x} \pm sd$
		1st	2nd	3th	
2	Red	1,5	1,4	0,9	$0,84 \pm 0,6427$
	Yellow	3,8	4,3	2,1	$3,26 \pm 1,3795$
	Brilliant	3	2,6	1,3	$1,88 \pm 0,9365$
	Turkish	2,9	2,5	1,5	$1,86 \pm 0,8649$
	Violet	2,1	0,9	0,4	$0,96 \pm 0,8264$
3	Warna	1st	2nd	3th	$\bar{x} \pm sd$
	Red	2,6	0,4	1,1	$1,825 \pm 1,2971$
	Yellow	2,8	1	2,9	$2,475 \pm 0,9979$
	Brilliant	1,9	0,3	1,9	$1,6 \pm 0,8869$
	Turkish	1,5	0,2	2,2	$1,55 \pm 0,9678$
4	Violet	2,5	0,2	1,6	$1,725 \pm 1,1117$
	Warna	1st	2nd	3th	$\bar{x} \pm sd$
	Red	1,7	1,6	3	$2,1 \pm 0,7810$
	Yellow	1,9	1,8	3,4	$2,3666 \pm 0,8963$
	Brilliant	1,1	1,5	2,3	$1,6333 \pm 0,6110$
5	Turkish	0,6	1,4	2,2	$1,4 \pm 0,8000$
	Violet	1,4	1,3	2,8	$1,8333 \pm 0,8386$
	Warna	1st	2nd	3th	$\bar{x} \pm sd$
	Red	2,6	1,4	1,7	$1,9 \pm 0,6245$
	Yellow	2,5	2,2	2,6	$2,4333 \pm 0,2082$
6	Brilliant	2	1,3	1,2	$1,5 \pm 0,4359$
	Turkish	1,2	1,6	1,2	$1,3333 \pm 0,2309$
	Violet	2,6	1,7	1,4	$1,9 \pm 0,6245$
6	Warna	1st	2nd	3th	$\bar{x} \pm sd$



	Red	3	1,6	3,4	$2,6666 \pm 0,9452$
	Yellow	3,4	2,6	3,5	$3,1666 \pm 0,4933$
	Brilliant	2,5	0,4	1,8	$1,5666 \pm 1,0693$
	Turkish	0,2	0,3	0,3	$0,2666 \pm 0,0577$
	Violet	2,6	1,5	2,8	$2,3 \pm 0,7000$
	Warna	1st	2nd	3th	$\bar{x} \pm sd$
	Red	3,4	3,6	4,5	$3,8333 \pm 0,5859$
	Yellow	4,1	2,6	5,2	$3,9666 \pm 1,3051$
7	Brilliant	3,2	2,9	3	$3,0333 \pm 0,1528$
	Turkish	2,1	2,5	2,4	$2,3333 \pm 0,2082$
	Violet	3,4	2,5	3,9	$3,2666 \pm 0,7095$
	Warna	1st	2nd	3th	$\bar{x} \pm sd$
	Red	2,9	3,9	3,7	$3,5 \pm 0,5292$
	Yellow	2,6	4,2	4	$3,6 \pm 0,8718$
8	Brilliant	1,7	2	2,5	$2,0666 \pm 0,4041$
	Turkish	1,5	1,5	2,4	$1,8 \pm 0,5196$
	Violet	2,4	2,5	3,6	$2,8333 \pm 0,6658$
	Warna	1st	2nd	3th	$\bar{x} \pm sd$
	Red	2,4	2,8	3,2	$2,8 \pm 0,4000$
	Yellow	2,5	3,4	3,1	$3 \pm 0,4583$
9	Brilliant	2,3	2	2,3	$2,2 \pm 0,1732$
	Turkish	2,3	1,9	2	$2,0666 \pm 0,2082$
	Violet	2,6	2,9	3,2	$2,9 \pm 0,3000$
	Warna	1st	2nd	3th	$\bar{x} \pm sd$
	Red	5,8	6,1	5,8	$5,9 \pm 0,1732$
	Yellow	5,8	6,2	5,9	$5,9667 \pm 0,2082$
10	Brilliant	5,5	5,6	5,4	$5,5 \pm 0,1$
	Turkish	5,5	5,7	5,5	$5,5667 \pm 0,1155$
	Violet	5,3	5,8	5,7	$5,6 \pm 0,2646$

	Warna	1st	2nd	3th	$\bar{x} \pm sd$
11	Red	6	5	6,2	$5,7333 \pm 0,6429$
	Yellow	6	5	5,8	$5,6 \pm 0,5292$
	Brilliant	5,2	4,1	5,2	$4,8333 \pm 0,6351$
	Turkish	5,5	4,7	5,6	$5,2667 \pm 0,4933$
	Violet	5,9	4,9	5,8	$5,5333 \pm 0,5508$
	Warna	1st	2nd	3th	$\bar{x} \pm sd$
12	Red	5,5	6,5	6,3	$6,1 \pm 0,5292$
	Yellow	5,5	6,5	6,2	$6,0667 \pm 0,5132$
	Brilliant	4,5	5,1	5,7	$5,1 \pm 0,6$
	Turkish	5,5	5,7	5,9	$5,7 \pm 0,2$
	Violet	5	5,8	5,9	$5,5667 \pm 0,4933$

Data pengaruh pH diatas diuji menggunakan Uji *Analysis of Variance two factor with replication* menggunakan fungsi data analysis pada microsoft excel dan dihasilkan data seperti dibawah ini

ANOVA						
<i>Sumber</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-</i>	<i>F</i>
<i>Keberagaman</i>				<i>hitung</i>	<i>value</i>	<i>tabel</i>
Variasi pH	406,41	10	40,64	92,47	0,00	1,92
Variasi Remazol	26,84	4	6,71	15,27	0,00	2,45
Interaction	23,83	40	0,60	1,36	0,11	1,50
Error	48,35	110	0,44			
Total	505,42	164				

## Pengambilan Kesimpulan

### Variasi pH

Ho : tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai pH yang digunakan

H1 : sekurang – kurangnya ada satu nilai pH yang memberikan jarak migrasi yang berbeda

Keputusan:

F hitung = 92,47

F tabel = 1,92

F hitung > F tabel, sehingga *Ho ditolak*

Artinya terdapat sekurang – kurangnya satu nilai pH yang memberikan jarak migrasi remazol yang berbeda

### Variasi jenis remazol

Ho : tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai jenis remazol yang digunakan

H1 : sekurang – kurangnya ada satu jenis remazol yang memberikan jarak migrasi yang berbeda

Keputusan:

F hitung = 15,27

F tabel = 2,45

F hitung > F tabel, sehingga *Ho ditolak*

Artinya terdapat sekurang – kurangnya satu jenis remazol yang memberikan jarak migrasi yang berbeda

Setelah perbedaan data yang disimpulkan uji Anova, dilanjutkan dengan uji LSD dan didapatkan kesimpulan dibawah ini :

*Uji LSD perbedaan jarak migrasi masing – masing remazol dalam berbagai nilai pH*

pH	Jarak Migrasi ( cm)				
	Red	Yellow	Brilliant	Turquoise	Violet
2	1,267 a	3,4 abc	2,3 ab	2,3 bc	1,133 a
3	1,367 a	2,233 a	1,367 a	1,3 b	1,433 a
4	2,1 ab	2,367 ab	1,633 a	1,4 b	1,833 ab
5	1,9 ab	2,433 ab	1,5 a	1,33 b	1,9 ab
6	2,667 bc	3,167 abc	1,567 a	0,267 a	2,3 abc
7	3,833 d	3,967 c	3,033 b	2,33 bc	3,267 c
8	3,5 cd	3,6 bc	2,067 ab	1,8 bc	2,833 bc
9	2,8 bcd	3 abc	2,2 ab	2,067 bc	2,9 bc
10	5,9 e	5,967 d	5,5 c	5,567 d	5,6 d
11	5,733 e	5,6 d	4,833 c	5,267 d	5,533 d
12	6,1 e	6,067 d	5,1 c	5,7 d	5,567 d
Nilai LSD	1,114673	1,33364	1,063616	0,869439	1,180175

*Uji LSD perbedaan jarak migrasi 5 remazol dalam satu nilai pH*

remazol	Jarak Migrasi (cm)										
	pH 2	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9	pH 10	pH 11	pH 12
Red	1,267 a	1,367 a	2,1 a	1,9 ab	2,667 bc	3,833 b	3,5 b	2,8 a	5,9 bc	5,733 a	6,1 b
Yellow	3,4 b	2,233 a	2,367 a	2,433 b	3,167 c	3,967 b	3,6 b	3 a	5,967 c	5,6 a	6,067 b
Brilliant	2,3 ab	1,367 a	1,633 a	1,5 a	1,567 ab	3,033 ab	2,067 a	2,2 a	5,5 a	4,833 a	5,1 a
Turquoise	2,3 ab	1,3 a	1,4 a	1,333 a	0,267 a	2,333 a	1,8 a	2,06 a	5,567 a	5,267 a	5,7 ab
Violet	1,133 a	1,433 a	1,833 a	1,9 ab	2,3 bc	3,267 ab	2,833 ab	2,9 a	5,6 ab	5,533 a	5,567 a
Nilai LSD	1,523 5	1,931	1,439 4	0,840 2	1,354 9	1,316 1	1,126 4	1,126 4	0,332 151	1,042 976	0,886 29

### C.1.5.Data Pengaruh Umur Nata terhadap migrasi nata de coco

Umur (hari)	Warna	Jarak Migrasi (cm)			$\bar{x} \pm sd$
		1st	2nd	3th	
3	Red	4,2	4,2	4,1	$4,1666 \pm 0,0577$
	Yellow	4	4,5	4,8	$4,4333 \pm 0,4041$
	Brilliant	3,8	3,9	3,5	$3,7333 \pm 0,2081$
	Turkish	2,8	3,6	3,8	$3,4 \pm 0,5291$
	Violet	3,8	4,1	3,6	$3,8333 \pm 0,2516$
4	Red	2,5	3,4	3,4	$3,1 \pm 0,5196$
	Yellow	2,6	3,5	3,5	$3,2 \pm 0,5196$
	Brilliant	2,5	2,5	2,1	$2,3666 \pm 0,2309$
	Turkish	2,4	2,2	2,3	$2,3 \pm 0,1$
	Violet	2,6	2,4	2,5	$2,5 \pm 0,1$
5	Red	2,3	2,8	2,6	$2,5666 \pm 0,2516$
	Yellow	2,2	2,9	3	$2,7 \pm 0,4358$
	Brilliant	2,2	2	2,3	$2,1666 \pm 0,1527$
	Turkish	2	2,1	2,1	$2,0666 \pm 0,0577$
	Violet	2,5	2,3	2,4	$2,4 \pm 0,1$
6	Red	2	2,4	2,3	$2,2333 \pm 0,2081$
	Yellow	1,7	2,6	2,2	$2,1666 \pm 0,4509$
	Brilliant	1,7	2,3	1,7	$1,9 \pm 0,3464$
	Turkish	2	2	1,7	$1,9 \pm 0,1732$
	Violet	2	2,2	2,3	$2,1666 \pm 0,1527$
7	Red	2,3	1,9	2	$2,0666 \pm 0,2081$
	Yellow	1,6	2,1	1,9	$1,8666 \pm 0,2516$
	Brilliant	1,9	1,9	1,2	$1,6666 \pm 0,4041$
	Turkish	2	1,6	1,3	$1,6333 \pm 0,3511$
	Violet	2	1,9	1,8	$1,9 \pm 0,1$

	Red	1,7	1,8	1,4	$1,6333 \pm 0,2081$
	Yellow	1,5	1,6	1,5	$1,5333 \pm 0,0577$
8	Brilliant	1,5	1,9	1,4	$1,6 \pm 0,2645$
	Turkish	1,4	2,1	1	$1,5 \pm 0,5567$
	Violet	1,9	2	1,3	$1,7333 \pm 0,3785$

Data pengaruh umur nata de coco diatas diuji menggunakan Uji *Analysis of Variance two factor with replication* menggunakan fungsi data analysis pada microsoft excel dan dihasilkan data seperti dibawah ini :

ANOVA						
<i>Sumber Keragaman</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F hitung</i>	<i>P-value</i>	<i>F tabel</i>
Variasi umur	51,762	5	10,352	108,972	8,86E-29	2,368
Variasi Remazol	3,796	4	0,949	9,990	0,0000029	2,525
Interaction	1,913	20	0,096	1,007	0,468	1,748
Error	5,7	60	0,095			
Total	63,17122	89				

### **Pengambilan Kesimpulan**

#### **Variasi umur nata de coco**

Ho : tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai umur nata de coco yang digunakan.

H1 : sekurang – kurangnya ada satu umur nata de coco yang memberikan jarak migrasi yang berbeda

Keputusan:

F hitung = 108,972

F tabel = 2,368

F hitung > F tabel, sehingga ***Ho ditolak***

Artinya ada perbedaan jarak migrasi remazol terhadap berbagai umur nata de coco yang digunakan (signifikan)

### **Variasi jenis remazol**

Ho : tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai jenis remazol yang digunakan

H1 : sekurang – kurangnya ada satu jenis remazol yang memberikan jarak migrasi yang berbeda

Keputusan:

F hitung = 9,990

F tabel = 2,525

F hitung > F tabel, sehingga Ho ditolak

Artinya ada perbedaan jarak migrasi remazol terhadap berbagai jenis remazol yang digunakan (signifikan).

Setelah perbedaan data yang disimpulkan uji Anova, dilanjutkan dengan uji LSD dan didapatkan kesimpulan dibawah ini :

### *Uji LSD perbedaan jarak migrasi masing – masing remazol dalam berbagai umur nata de coco*

Umur Nata (hari)	Jarak Migrasi Remazol (cm)				
	Red	Yellow	Brilliant	Turquoise	Violet
3	4,167 <sup>e</sup>	4,433 <sup>d</sup>	3,733 <sup>c</sup>	3,4 <sup>c</sup>	3,833 <sup>e</sup>
4	3,1 <sup>d</sup>	3,2 <sup>c</sup>	2,367 <sup>b</sup>	2,3 <sup>b</sup>	2,5 <sup>d</sup>
5	2,567 <sup>c</sup>	2,7 <sup>bc</sup>	2,167 <sup>b</sup>	2,067 <sup>ab</sup>	2,4 <sup>cd</sup>
6	2,233 <sup>bc</sup>	2,167 <sup>ab</sup>	1,9 <sup>ab</sup>	1,9 <sup>ab</sup>	2,167 <sup>bc</sup>
7	2,067 <sup>ab</sup>	1,867 <sup>a</sup>	1,667 <sup>a</sup>	1,633 <sup>a</sup>	1,9 <sup>ab</sup>
8	1,633 <sup>a</sup>	1,533 <sup>a</sup>	1,6 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	1,733 <sup>a</sup>
Nilai LSD	0,4961	0,6864	0,4996	0,6317	0,3703



*Uji LSD perbedaan jarak migrasi 5 remazol dalam satu hari*

Remazol	Jarak Migrasi Remazol (cm)					
	3 hari	4 hari	5 hari	6 hari	7 hari	8 hari
Red	4,167 bc	3,1 bc	2,567 bc	2,233 a	2,067 a	1,633 a
Yellow	4,433 c	3,2 c	2,7 c	2,167 a	1,867 a	1,533 a
Brilliant	3,733 ab	2,367 a	2,167 ab	1,9 a	1,667 a	1,6 a
Turquoise	3,4 a	2,3 a	2,067 a	1,9 a	1,633 a	1,5 a
Violet	3,833 abc	2,5 abc	2,4 abc	2,167 a	1,9 a	1,733 a
Nilai LSD	0,6052	0,6372	0,4381	0,5272	0,5167	0,6142

### C.1.6. Data pengaruh volume terhadap migrasi remazol

Volume (ml)	Jarak migrasi ( cm)			$\bar{x} \pm sd$	
	Warna	1st	2nd		3th
470	Red	4,2	4,5	4	$4,2333 \pm 0,2517$
	Yellow	4,7	5	4,2	$4,6333 \pm 0,4041$
	Brilliant	4,1	4	3,5	$3,866 \pm 0,3215$
	Turkish	4,2	4,2	3	$3,8 \pm 0,6928$
	Violet	4,5	4,3	3,5	$4,1 \pm 0,5292$
	Suhu	34	30	32	$32 \pm 2$
550	Red	3,8	4,1	4,2	$4,0333 \pm 0,2082$
	Yellow	4,1	4,4	4,2	$4,2333 \pm 0,1528$
	Brilliant	3,5	3,8	4	$3,7667 \pm 0,2517$
	Turkish	3,5	4	4,2	$3,9 \pm 0,3606$
	Violet	3,6	4	4	$3,8667 \pm 0,2309$
	Suhu	40	38	40	$39,33 \pm 1,1547$
750	Red	2,9	3,7	3,4	$3,33 \pm 0,4041$
	Yellow	3,5	3,9	3,4	$3,6 \pm 0,2646$
	Brilliant	2,7	3,2	3	$2,9667 \pm 0,2517$
	Turkish	3,2	3,6	3,5	$3,4333 \pm 0,2082$
	Violet	3,3	3,4	3,5	$3,4 \pm 0,10$
	Suhu	44	44	45	$44,3 \pm 0,5774$
950	Red	~	~	~	$\sim \pm \sim$
	Yellow	~	~	~	$\sim \pm \sim$
	Brilliant	1,6	2,7	2,9	$2,4 \pm 0,7$
	Turkish	2,5	2,5	2,1	$2,3667 \pm 0,2309$
	Violet	3	3	3,1	$3,0333 \pm 0,0577$
	Suhu	48	50	52	$50,0 \pm 2,00$
1150	Red	~	~	~	$\sim \pm \sim$
	Yellow	~	~	~	$\sim \pm \sim$
	Brilliant	2,1	2,4	2,8	$2,4333 \pm 0,3512$

Turkish	2,6	2,8	3	$2,8 \pm 0,20$
Violet	~	~	~	$\sim \pm \sim$
Suhu	52	56	54	$54 \pm 2$

### C.1.7. Pengaruh Tegangan yang diberikan pada elektroforesis terhadap migrasi remazol

Tegangan (V)	Warna remazol	Jarak Migrasi (cm)			$\bar{x} \pm sd$
		1	2	3	
75	Red	2,1	2,4	2,5	$2,33 \pm 0,207$
	Yellow	2,5	2,9	2,7	$2,7 \pm 0,2$
	Brilliant	2,1	2,1	2,2	$2,133 \pm 0,057$
	Turkish	2,3	2,2	2,3	$2,267 \pm 0,0577$
	Violet	2,2	2,1	2,2	$2,1667 \pm 0,057$
	Suhu (°C)	32	30	32	$31,33 \pm 1,154$
100	Red	2,8	3,3	3,1	$3,0667 \pm 0,251$
	Yellow	3,2	3,5	3,2	$3,3 \pm 0,173$
	Brilliant	2,9	3,1	2,8	$2,933 \pm 0,152$
	Turkish	2,7	3,2	2,8	$2,9 \pm 0,264575$
	Violet	2,9	3,3	2,9	$3,033 \pm 0,23$
	Suhu (°C)	34	34	34	$34 \pm 0$
125	Red	3,8	4	4,5	$4,1 \pm 0,360$
	Yellow	4	4,2	4,6	$4,267 \pm 0,305$
	Brilliant	3,9	4	4,3	$4,067 \pm 0,208$
	Turkish	3,8	3,6	4,2	$3,867 \pm 0,305$
	Violet	3,8	3,7	4,2	$3,9 \pm 0,264$
	Suhu (°C)	34	32	35	$33,67 \pm 1,527$
150	Red	4,5	5	4,8	$4,767 \pm 0,251$
	Yellow	4,8	5,1	5,1	$5 \pm 0,173$
	Brilliant	4,3	4,5	4,7	$4,5 \pm 0,2$

Turkish	4,5	4,5	4,8	$4,6 \pm 0,173$
Violet	4,5	4,6	4,7	$4,6 \pm 0,1$
Suhu (°C)	36	32	36	$34,67 \pm 2,309$

Data pengaruh tegangan diatas diuji menggunakan Uji *Analysis of Variance two factor with replication* menggunakan fungsi data analysis pada microsoft excel dan dihasilkan data seperti dibawah ini :

#### ANOVA

<i>Sumber</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F hitung</i>	<i>P-value</i>	<i>F table;</i>
Variasi tegangan	49,666	3	16,555	353,493	8,18E-29	2,839
Vaiasi remazol	1,488	4	0,372	7,945	0,000082	2,606
Interaction	0,205	12	0,017	0,365	0,968	2,003
Error	1,873	40	0,047			
Total	53,2325	59				

#### Pengambilan Kesimpulan

##### Variasi tegangan

- Ho : tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai tegangan yang digunakan
- H1 : sekurang – kurangnya ada satu tegangan yang memberikan jarak migrasi yang berbeda

Keputusan:

F hitung = 353,493

F tabel = 2,839

F hitung > F tabel, sehingga Ho ditolak

Artinya ada perbedaan jarak migrasi remazol terhadap variasi tegangan yang digunakan (signifikan)

### Variasi jenis remazol

Ho : tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai jenis remazol yang digunakan

H1 : sekurang – kurangnya ada satu jenis remazol yang memberikan jarak migrasi yang berbeda

Keputusan:

F hitung = 7,945

F tabel = 2,606

F hitung > F tabel, sehingga *Ho ditolak*

Artinya ada perbedaan jarak migrasi remazol terhadap berbagai jenis remazol yang digunakan (signifikan)

Setelah perbedaan data yang disimpulkan uji Anova, dilanjutkan dengan uji LSD dan didapatkan kesimpulan dibawah ini :

*uji LSD perbedaan jarak migrasi masing – masing remazol dalam berbagai tegangan*

Tegangan (v)	Jarak Migrasi (cm)				
	Red	Yellow	Briliiant	Turquoise	Violet
75	2,333a	2,7a	2,133a	2,267a	2,167a
100	3,0667b	3,3b	2,933b	2,9b	3,033b
125	4,1c	4,267c	4,067c	3,867c	3,9c
150	4,767d	5d	4,5d	4,6d	4,6d
Nilai LSD	0,5156	0,4139	0,3122	0,4174	0,3480

*Uji LSD perbedaan jarak migrasi 5 remazol dalam satu tegangan*

Remazol	Jarak migrasi (cm)			
	75 V	100 V	125 V	150 V
Red	2,333 a	3,067 a	4,1 a	4,767 a
Yellow	2,7 b	3,3 b	4,267 a	5 a
Brilliant	2,133 a	2,933 a	4,067 a	4,5 a
Turquoise	2,267 a	2,9 a	3,867 a	4,6 a
Violet	2,167 a	3,033 a	3,9 a	4,6 a
Nilai LSD	0,2486	0,3986	0,5335	0,3387

**C.1.8. Pengaruh lama waktu elektroforesis terhadap migrasi remazol**

Waktu (menit)	Warna remazol	Jarak Migrasi (cm)			$\bar{x} + sd$
		1st	2nd	3th	
10	Red	2,2	2,1	2,1	2,133 ± 0,057
	Yellow	2	2,5	2,3	2,267 ± 0,251
	Brilliant	1,7	2,2	1,8	1,9 ± 0,264
	Turkish	1,8	2	2,1	1,967 ± 0,152
	Violet	2,6	2,4	2,5	2,5 ± 0,1
	Suhu	32	36	35	34,33 ± 2,081
20	Red	4,7	5,5	5	5,067 ± 0,404
	Yellow	4,8	5,7	4,9	5,13 ± 0,493
	Brilliant	3,5	3	3,2	3,233 ± 0,251
	Turkish	3,7	4	3,5	3,733 ± 0,251
	Violet	3,7	4	4,8	4,167 ± 0,568
	Suhu	42	41	40	41 ± 1
30	Red	8,2	6,5	7,3	7,33 ± 0,85
	Yellow	7,5	6,7	6,8	7 ± 0,435

	Brilliant	4,5	4,4	4	$4,3 \pm 0,264$
	Turkish	5	5,3	5,2	$5,166 \pm 0,152$
	Violet	6	5	6,1	$5,7 \pm 0,608$
	Suhu	48	46	45	$46,333 \pm 1,527$
40	Red	10,9	9,8	10,5	$10,4 \pm 0,556$
	Yellow	10,5	9,5	9,8	$9,9333 \pm 0,513$
	Brilliant	5,6	5,3	5,1	$5,333 \pm 0,251$
	Turkish	5	6,3	6,2	$5,833 \pm 0,723$
	Violet	7,5	6	7,2	$6,9 \pm 0,793$
	Suhu	51	52	50	$51 \pm 1$
50	Red	12	12,5	12,5	$12,33 \pm 0,288$
	Yellow	11,5	12	12	$11,833 \pm 0,288$
	Brilliant	6,2	6,8	7	$6,667 \pm 0,416$
	Turkish	6,8	7,5	7,9	$7,4 \pm 0,556$
	Violet	7	7,8	8,4	$7,733 \pm 0,702$
	Suhu	56	60	61	$59 \pm 2,645751$

Data pengaruh waktu diatas diuji menggunakan Uji *Analysis of Variance two factor with replication* menggunakan fungsi data analysis pada microsoft excel dan dihasilkan data seperti dibawah ini :

## ANOVA

<i>Sumber Keragaman</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F hitung</i>	<i>P-value</i>	<i>F tabel</i>
Variasi waktu	460,514	4	115,128	539,328	1,92E-40	2,557
Variasi remazol	122,866	4	30,716	143,894	8,86E-27	2,557
Interaction	56,985	16	3,562	16,684	9,48E-15	1,850
Error	10,673	50	0,213			
Total	651,0379	74				

## Pengambilan Kesimpulan

### Variasi lama waktu elektroforesis

- Ho : tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai lama waktu yang digunakan
- H1 : sekurang – kurangnya ada satu lama waktu elektroforesis yang memberikan jarak migrasi yang berbeda

Keputusan:

F hitung = 539,328

F tabel = 2,557

F hitung > F tabel, sehingga *Ho ditolak*

Artinya ada perbedaan jarak migrasi remazol terhadap variasi waktu yang digunakan (signifikan)

### Variasi jenis remazol

- Ho : tidak ada perbedaan jarak migrasi untuk berbagai jenis remazol yang digunakan
- H1 : sekurang – kurangnya ada satu jenis remazol yang memberikan jarak migrasi yang berbeda

Keputusan:

F hitung = 143,894

F tabel = 16,684

F hitung > F tabel, sehingga *Ho ditolak*

Artinya ada perbedaan jarak migrasi remazol terhadap berbagai jenis remazol yang digunakan (signifikan)

Setelah perbedaan data yang disimpulkan uji Anova, dilanjutkan dengan uji LSD dan didapatkan kesimpulan dibawah ini :



*uji LSD perbedaan jarak migrasi masing – masing remazol dalam berbagai waktu*

Waktu (menit)	Jarak Migrasi (cm)				
	Red	Yellow	Brilliant	Turquoise	Violet
10	2,133a	2,267a	1,9a	1,967a	2,5a
20	5,067b	5,133b	3,233b	3,733b	4,167b
30	7,333c	7c	4,3c	5,167c	5,7c
40	10,4d	9,933d	5,333d	5,833d	6,9d
50	12,333e	11,833e	6,667e	7,4e	7,733e
Nilai LSD	0,9216	0,7471	0,5396	0,7902	1,0996

*Uji LSD perbedaan jarak migrasi 5 remazol dalam satu waktu*

Warna remazol	Jarak migrasi (cm)				
	10 mnt	20 mnt	30 mnt	40 mnt	50 mnt
Red	2,133ab	5,067c	7,333c	10,4c	12,333c
Yellow	2,267bc	5,13c	7c	9,933c	11,833c
Brilliant	1,9a	3,233a	4,3a	5,333a	6,667a
Turquoise	1,967ab	3,733ab	5,167ab	5,833ab	7,4ab
Violet	2,5c	4,167b	5,7b	6,9bc	7,733b
Nilai LSD	0,3354	0,7530	0,9546	1,0885	0,8699

## Lampiran D

### Foto Dokumentasi Penelitian

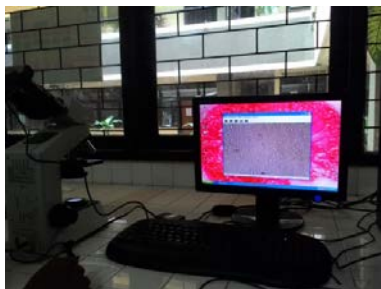
#### D.1. Pembuatan Nata de Coco



#### D.2. Pengukuran Ketebalan Nata de Coco



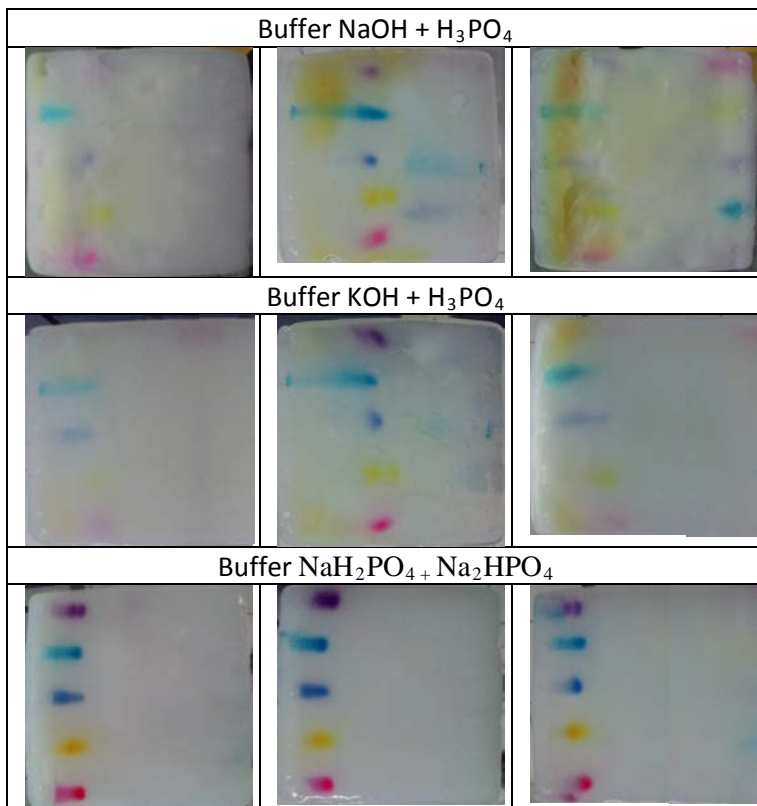
#### D.3. Pengamatan Mikroskop







## D.4. Perhitungan berat selulosa







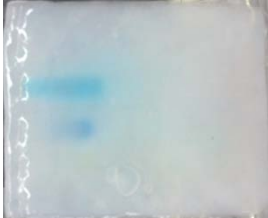
## D.5. Pengamatan jenis buffer








D.6. Hasil Elektroforesis Pengaruh Tegangan terhadap jarak migrasi remazol

Tegangan (V)	GAMBAR
75	
100	
125	
150	

## D.7. Pengaruh volume buffer terhadap migrasi remazol

Volume/ Tinggi Buffer	Gambar
470 mL (0,7 cm)	
550 mL (1 cm)	
750 mL (1,5 cm)	
950 mL (2 cm)	
1150 mL (2,5 cm)	

## D.8. Pengaruh Umur Nata de coco

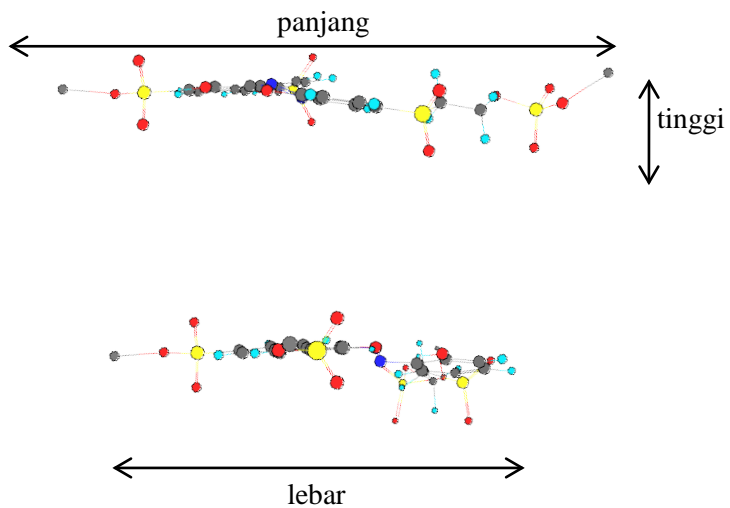
Umur Nata de coco	GAMBAR
3 hari	
4 hari	
5 hari	
6 hari	
7 hari	

8 hari	
--------	---

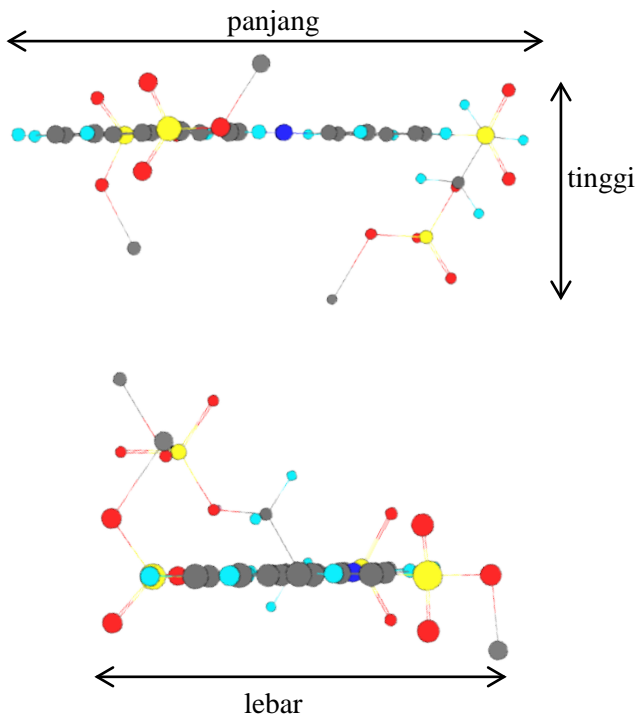
## Lampiran E

### Pengukuran Volume Molekul Remazol

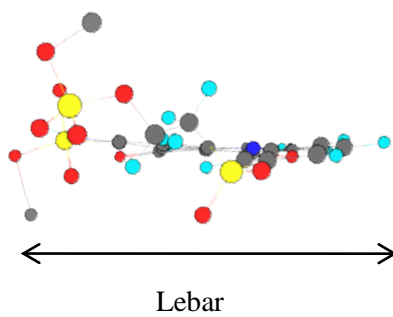
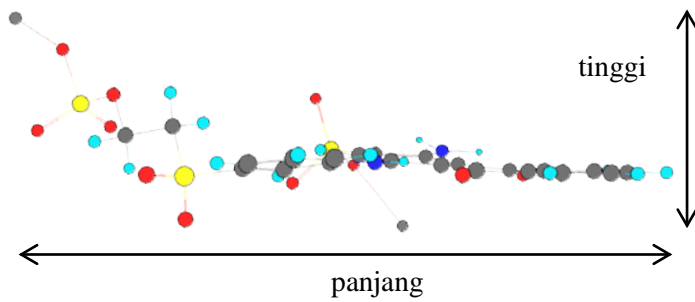
#### E.1. Remazol Red RB

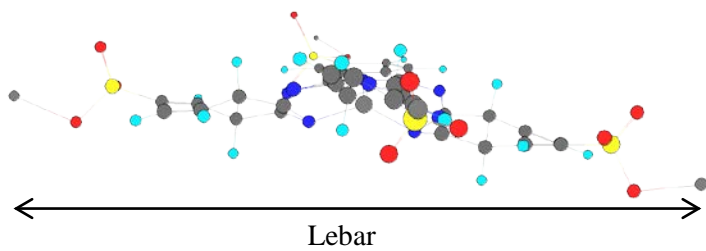
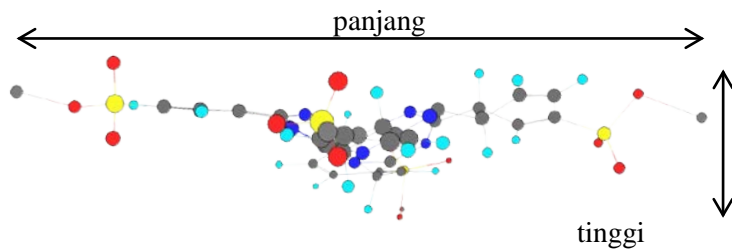




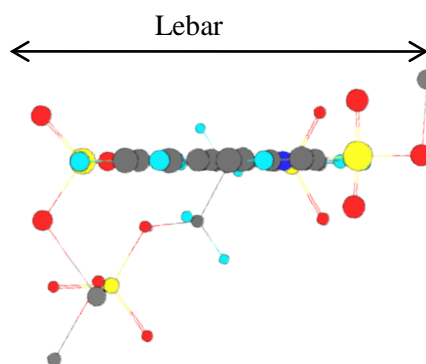
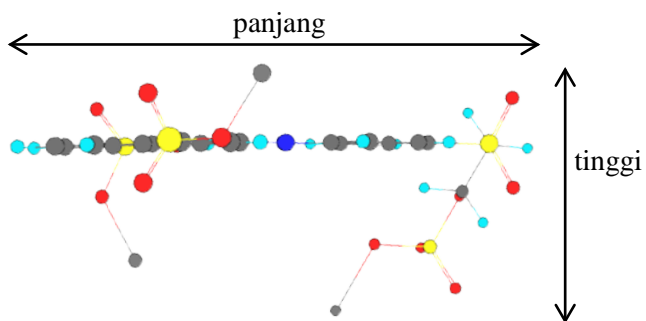
**E.2. Remazol Yellow FG**

### E.3. Remazol Brilliant blue R



**E.4. Remazol Turquoise Blue G.**

*“Halaman Ini sengaja dikosongkan”*

**E.5. Remazol Violet 5R**

## BIODATA PENULIS



Penulis bernama lengkap Lutfi Andre Yahya, dilahirkan di Lamongan tanggal 1 April 1993, merupakan anak ke-2 dari lima bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal, yaitu SDN Tanah KaliKedinding VII Surabaya (1999-2005), SMPN 9 SURABAYA (2005-2008), SMKN 5 SURABAYA jurusan Kimia Analisa (2008-2012). Penulis diterima di Jurusan Kimia FMIPA ITS Surabaya melalui jalur SNMPTN Tertulis tahun 2012 dengan NRP 1412100085. Selama kuliah, penulis aktif di organisasi kemahasiswaan, yaitu Staff Divisi Chemistry Week HIMKA-ITS (2013-2014), Ketua Departemen Chemistry Week HIMKA-ITS (2014-2015) dan mengikuti beberapa pelatihan serta menjadi panitia diberbagai kegiatan baik dalam lingkup HIMKA maupun BEM ITS. Selain itu, penulis pernah melakukan kerja praktek di bagian *Riset and Development* di PT Dahana (persero) Subang. Penulis mengambil bidang minat Kimia Instrumentasi Sains dan Analitik dalam menyelesaikan Tugas Akhir jenjang S1 dibawah bimbingan Dra. Ita Ulfin, M.Si dan Dr.rer.nat.Fredy Kurniawan, M.Si. Semoga hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat dan inspirasi bagi para pembaca untuk kemajuan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang ilmu kimia. Penulis menerima pertanyaan, kritik, saran dan diskusi melalui:

*Phone number* : +6285733325736

*Email* : [andreyahyalutfi@yahoo.com](mailto:andreyahyalutfi@yahoo.com)

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**