

PENGEMBANGAN ELEKTRODE BIOSENSOR LIPASE TERMOSTABIL ISOLAT BANYUWEDANG YANG DIAMOBIL DENGAN PVC UNTUK PENENTUAN KADAR TRIGLISERIDA

DGE. Sastra Wiguna¹⁾, KD. Wirmandiyanti²⁾, IGPNA. Santika³⁾

¹⁾ Program Studi Pendidikan Biologi FPMIPA IKIP PGRI BALI

²⁾ Program Studi Yoga Kesehatan Fakultas Brahma Widya IHDN Denpasar

³⁾ Program Studi Pendidikan Jasmani Kesehatan dan Rekreasi FPOK IKIP PGRI Bali

E-Mail : ¹⁾ dewasastra@ikipgribali.ac.id, ²⁾ dwirmandiyanti@gmail.com, ³⁾
ngurahadisantika@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk (1) menentukan rentang kerja (suhu dan pH) elektrode biosensor lipase termostabil isolat Banyuwedang yang diamobil dengan menggunakan PVC dan (2) menentukan kadar trigliserida dalam emulsi minyak olive dengan elektrode biosensor tersebut. Subjek penelitian ini adalah elektrode biosensor trigliserida. Objek penelitian adalah Rentang Kerja (Suhu dan pH) elektrode biosensor dan kadar trigliserida dalam emulsi minyak olive. Data suhu dan pH optimum serta kadar trigliserida dalam emulsi minyak olive dianalisis secara deskriptif kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Rentang kerja biosensor berdasarkan pengukuran kedua jenis elektrode didapatkan pada pH 6,0 hingga 8,0 dan pada suhu 10-70°C. Hubungan kadar trigliserida yang terukur terhadap emulsi minyak olive yang digunakan diperoleh hubungan bahwa kadar trigliserida terukur berbanding lurus dengan emulsi minyak olive yang digunakan dan diperoleh persamaan $Y = 0,009X - 0,026$, dengan Y adalah kadar trigliserida yang terukur sebagai konsumsi oksigen (ppm) dan X adalah emulsi minyak olive yang digunakan (ppm).

Kata kunci : biosensor lipase banyuwedang, trigliserida, emulsi minyak olive

ABSTRACT

The aim of this research is (1) to overcome range (temperature and pH) of biosensor electrode lipase termostabil Banyuwedang Isolat that was immobilized by PVC and (2) to overcome triglyceride disposal on olive oil using biosensor electrode. The subject of this research is biosensor triglyceride electrode. Object of this research is range (temperature and pH) of biosensor electrode and triglyceride disposal on olive oil. The result of this research show that the range of biosensor has pH 6,0 - 8,0 and the temperature 10-70°C. The relation of triglyceride disposal with olive oil that was used showing that triglyceride disposal linear with olive oil that was used and has show by the equality $Y = 0,009X - 0,026$, with Y is triglyceride disposal as oxygen consumed (ppm) and X is olive oil that was used (ppm).

Keywords : lipase banyuwedang biosensor, triglyceride, olive oil emulsion

PENDAHULUAN

Trigliserida alami adalah triester dari asam lemak berantai panjang dan gliserol. Trigliserida merupakan ukuran lemak yang lebih kecil (Santika, 2016). Apabila keberadaan trigliserida dalam darah berlebih dapat meningkatkan resiko terkena

atheroclerosis dan hipertensi. *Atheroclerosis* ditandai oleh penebalan lapisan dalam dinding pembuluh darah arteri sehingga terjadi penyempitan lumen pembuluh, membatasi aliran darah dan elastisitas pembuluh, merangsang pembentukan pembekuan darah yang menghambat aliran darah dan

dapat mengakibatkan kerusakan pada jantung, otak dan jaringan paru-paru yang sifatnya fatal (Wallach, 1996). Meningkatnya trigliserida dalam darah juga dapat menyebabkan resiko arteri koronari (CAD, *Coronary artery disease*) (Klotzsch and Namara, 1990). Adanya berbagai penyakit yang disebabkan oleh kadar trigliserida berlebih di dalam darah sehingga perlu diketahui kadar trigliserida dalam darah secara dini. Oleh karena itu, deteksi secara cepat dan murah pada penentuan trigliserida terus dijajagi.

Sejumlah metode telah diterapkan untuk penentuan gliserida dalam serum darah, seperti metode enzimatik (Fossati, and L. Prencipe, 1982), fluorometri (Voysey, and D.C. Wilton, 1994), bioluminisensi (Lowry, et al., 1951), kromatografi (Bjorkhem, et al., 1989) dan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) (Okazaki, et al., 1998). Metode-metode ini tidak populer, sebab presisinya rendah, peralatan yang digunakan sangat mahal, membutuhkan *pretreatment* (perlakuan awal) dan derivatisasi analit yang relatif besar.

Metode lain yang dapat mengatasi berbagai kekurangan tersebut yaitu metode kalorimetri yang menggunakan rangkaian enzim lipase, gliserol kinase, gliserol-3-fosfat oksidase dan peroksidase. Metode ini lebih sederhana, sensitif, dan spesifik bila dibandingkan dengan metode yang digunakan sebelumnya, sehingga metode ini sangat baik untuk analisis rutin. Namun, bila sampel yang dianalisis banyak maka jumlah enzim yang dibutuhkan menjadi sangat banyak, sehingga biaya yang dikeluarkan juga besar. Selain itu alat yang digunakan juga tidak praktis dan efisien. Metode yang dapat mengatasi dua kendala ini yaitu metode yang dikembangkan oleh

Bhambi *et al.* (2006). Metode ini menggunakan pengukuran trigliserida secara potensiometer dengan mengamobil enzim lipase, gliserol kinase, gliserol-3-fosfat oksidase pada membran PVC serta menempelkan pada DO meter. Kegunaan PVC didasarkan atas kemampuannya melakukan pertukaran ion, daya adsorpsi dan sifat katalitiknya (Xiang LI, *et al.*, 2005). Peningkatan daya guna PVC sebagai *solids support* dapat dilakukan dengan mengaktivasi PVC secara fisis dengan penambahan glutaraldehid 2,5% (Bhambi *et al.*, 2006). Namun pengukuran tersebut masih menggunakan enzim lipase dari mikroba mezofilik.

Penggunaan enzim lipase dalam rangkaian biosensor untuk analisis trigliserida mengikuti alur mekanisme reaksi enzimatik, yang dapat diuraikan sebagai berikut : trigliserida yang terkandung dalam sampel akan dipecah oleh enzim lipase menjadi asam lemak dan gliserol. Gliserol selanjutnya oleh enzim gliserol kinase (GK) diubah menjadi gliserol-3-fosfat. Dalam kondisi aerob (O_2) oleh enzim gliserol-3-fosfat oksidase (GPO) diubah menjadi dehidroksiaseton fosfat (DHAP) dan H_2O_2 (Bhambi *et al.*, 2006). Berkurangnya kelarutan oksigen karena membentuk H_2O_2 diukur dengan alat DO-meter, yang dikaitkan dengan enzim yang telah diamobilisasi dengan membran PVC. Penggunaan PVC didasari pada sifatnya yang tahan terhadap bahan kimia, harga murah, tidak beracun, afinitas dan respon yang tinggi dengan ligan kimia yang sederhana.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Bhambi (2006) diperoleh bahwa penggunaan enzim lipase dari mikroba mezofilik dalam analisis

trigliserida kurang efektif. Hal ini karena lipase yang digunakan tidak tahan dengan suhu tinggi, sehingga respon yang dihasilkan relatif lambat. Kendala ini dapat diatasi dengan menggunakan enzim lipase termostabil dari *Bacillus* BYW2 (Isolat Banyuwedang) yang diamobilisasi dengan menggunakan pengamobil PVC yang telah diaktivasi secara fisik.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan rentang kerja (suhu dan pH) elektrode biosensor lipase termostabil isolat Banyuwedang yang diamobil dengan menggunakan PVC dan menentukan kadar trigliserida dalam emulsi minyak olive yang diukur dengan elektrode biosensor lipase termostabil isolat Banyuwedang yang diamobil dengan membran PVC.

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat diperoleh alat untuk menentukan kadar trigliserida dalam emulsi minyak olive yang menggunakan lipase termostabil isolat Banyuwedang yang diamobil dengan membran PVC.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Organik Jurusan Pendidikan Kimia, Universitas Pendidikan Ganesha di Singaraja. Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini meliputi; Neraca analitik, Kaca arloji, Corong, Pipet volum, Pipet ukur, Labu ukur, Erlenmeyer, Gelas kimia, Buret, Statif dan klem, Batang pengaduk, Pipet tetes, Magnetik strirer, Gelas ukur, DO-meter, pH meter. Bahan-bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini yaitu: Membran PVC, Glutaraldehid 2,5%, Buffer Na-fosfat 0,1 M (pH 6, 6,5, 7, 7,5, dan 8, Enzim lipase termostabil isolat Banyuwedang, Aquades, Minyak olive, GPO (gliserol-3-posfat oksidase),

GK (gliserol kinase), tissu, LAS (Linear Alkil Sulfonat), ATP, $MgCl_2$ dan Kertas saring.

Penentuan Rentang Kerja Elektrode Enzim

Elektroda enzim yang telah dibuat kemudian dilakukan penentuan rentang kerja dari elektroda itu. Dipepet sebanyak 18 mL buffer na-fosfat (0,1 M) kedalam gelas kimia. Ditambahkan emulsi minyak olive sebanyak 2 mL. Campuran tersebut kemudian ditambahkan dengan aquades hingga volume 100 mL. Penentuan Rentang Kerja (Suhu dan pH) biosensor dilakukan melalui pengukuran kelarutan oksigen yang dihasilkan dari konsumsi oksigen dengan respon pada berbagai pH dan suhu percobaan.

Penentuan Trigliserida

Elektroda DO-meter yang dilapisi membran PVC-enzim digunakan untuk menentukan kadar trigliserida dalam emulsi minyak olive. Kadar trigliserida dalam emulsi minyak olive dapat diketahui dengan adanya konsumsi oksigen pada pengukuran elektrode eksperimen untuk membentuk H_2O_2 . Penggunaan oksigen tersebut akan menyebabkan perubahan kelarutan oksigen yang terukur antara kontrol dan eksperimen.

Dalam penentuan kadar trigliserida dengan biosensor ini dapat dilakukan dengan dua tahap :

Tahap I : Pada Tahap I ini dilakukan penentuan kelarutan oksigen menggunakan elektrode biosensor dengan membran PVC tanpa enzim (elektrode kontrol). Dipepet sebanyak 18 mL buffer na-fosfat (0,1 M) dengan rentang kerja pH dan suhu yang diperoleh dan variasi volume emulsi minyak

olive. Campuran tadi ditambahkan dengan aquades hingga volume 100 mL. Kemudian diukur dengan elektrode kontrol.

Tahap II : Pada tahap I telah diperoleh konsentrasi oksigen terlarut dari hasil pengukuran oleh elektrode kontrol (oksigen terlarut awal), untuk tahap II ini dilakukan penentuan kelarutan oksigen menggunakan elektrode

biosensor membran PVC-enzim teramobil (elektrode eksperimen). Dipepet sebanyak 18 mL buffer n-afosfat (0,1 M) dengan rentang kerja pH dan suhu yang telah diperoleh serta emulsi minyak olive dengan variasi konsentrasi dan ditambahkan aquades hingga volume 100 mL. Kemudian diukur dengan elektrode eksperimen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan rentang kerja elektrode pada berbagai pH

Tabel 1
 Rentang Kerja Elektrode pada Berbagai pH

pH	Kelarutan Oksigen Elektrode Kontrol (x) (ppm)	Kelarutan Oksigen Elektroda Eksperimen (y) (ppm)	KOP (x-y) (ppm)	KOT (ppm)
6,0	5,46	5,32	0,14	0,11
6,5	5,56	5,40	0,16	0,14
7,0	5,52	5,31	0,21	0,16
7,5	5,44	5,20	0,24	0,19
8,0	5,54	5,28	0,26	0,15

Keterangan :

KOT = Konsumsi Oksigen Teoritis

KOP = Konsumsi Oksigen Praktis

Data hasil pengukuran rentang kerja elektrode kontrol dan eksperimen pada berbagai pH serta konsumsi oksigen yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel tersebut menunjukkan bahwa ada kenaikan konsumsi oksigen secara praktik dari pH 6,0 hingga pH 8,0. Penentuan Rentang Kerja pH.

Salah satu variabel yang digunakan dalam menentukan rentang

kerja dari biosensor yaitu pH. Pada penelitian ini digunakan variasi pH yaitu 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; dan 8,0 (Bhambi *et al.*, 2006). Variasi pH ini diujikan pada dua jenis elektrode yang berbeda yaitu elektrode yang hanya menggunakan membran PVC tanpa menggunakan enzim (Elektrode Kontrol) dan elektrode yang menggunakan membran PVC serta enzim yang teramobil pada membran

(Elektrode Eksperimen). Semua perlakuan tersebut dilakukan pada suhu kamar.

Berdasarkan data hasil pengukuran dengan menggunakan elektrode kontrol dan elektrode eksperimen seperti pada Tabel 1. dapat terlihat konsentrasi kelarutan oksigen yang terukur pada elektrode kontrol (x) dan elektrode eksperimen (y). Jika diamati konsentrasi kelarutan oksigen pada pengukuran menggunakan elektrode eksperimen mengalami penurunan dari hasil pengukuran menggunakan elektrode kontrol.

Penurunan ini disebabkan oleh bereaksinya emulsi minyak olive dengan enzim-enzim yang terdapat pada membran PVC, dimana enzim-enzim tersebut akan mengubah oksigen pada larutan menjadi hidrogen peroksida. Berubahnya oksigen menjadi hidrogen peroksida dinyatakan sebagai oksigen terkonsumsi. Besarnya konsumsi oksigen ini dapat dihitung dengan mengurangi hasil pengukuran elektrode kontrol dengan hasil pengukuran pada elektrode eksperimen, secara matematika dapat ditulis $x-y$.

Penentuan Rentang Kerja Elektrode Pada Berbagai Suhu

Data hasil pengukuran rentang kerja elektrode kontrol dan eksperimen pada berbagai suhu disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2
 Rentang Kerja Elektrode pada Berbagai Suhu

Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	pH	Kelarutan Oksigen Elektrode Kontrol (x) ppm	Kelarutan Oksigen Elektroda Eksperimen (y) ppm	KOP (x-y) ppm	KOT (ppm)
10	7,0	6,32	5,97	0,35	0,48
20	7,0	5,86	5,57	0,29	0,24
30	7,0	5,52	5,31	0,21	0,16
40	7,0	4,96	4,79	0,17	0,12
50	7,0	3,87	3,73	0,14	0,09
60	7,0	1,94	1,82	0,12	0,08
70	7,0	1,24	1,14	0,10	0,01

Keterangan :

KOT = Konsumsi Oksigen Teoritis

KOP = Konsumsi Oksigen Praktis

Data hasil pengukuran rentang kerja elektrode kontrol dan eksperimen pada berbagai suhu serta konsumsi oksigen yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel tersebut menunjukkan bahwa terjadi penurunan konsumsi oksigen secara praktik mulai dari suhu 10°C hingga suhu 70°C .

Variabel lain yang mempengaruhi kerja biosensor adalah suhu. Suhu menjadi variabel yang diperhitungkan karena adanya fakta bahwa enzim memiliki perbedaan kemampuan pada suhu yang berbeda pula. Fakta yang lain juga menerangkan bahwa apabila enzim melewati ambang

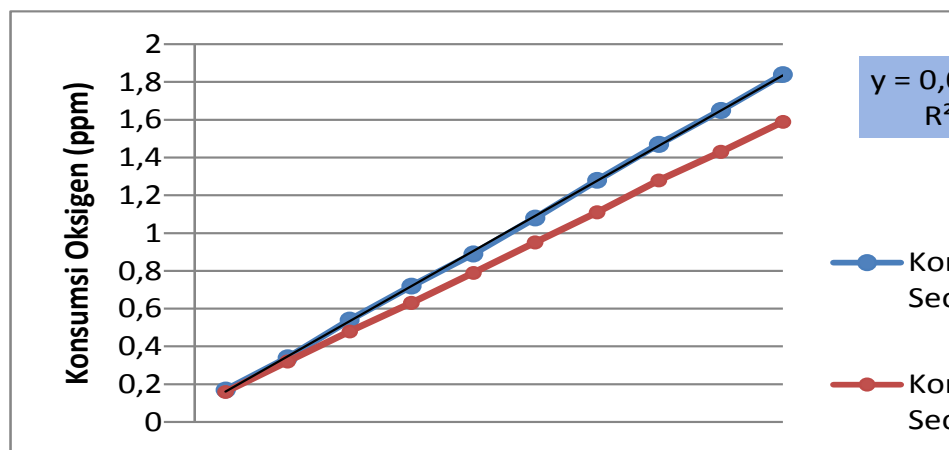
batas suhu maka akan menyebabkan kerusakan pada enzim. Pada penentuan rentang kerja suhu biosensor, Suhu yang digunakan yaitu variasi suhu dari 10^o-70^oC. Hal ini mengingat enzim lipase Banyuwedang memiliki suhu optimum pada 50 ^oC dan maksimum pada suhu 70^oC.

Berdasarkan data pada Tabel 2. teramati bahwa konsentrasi kelarutan oksigen pada elektrode eksperimen dan elektrode kontrol mengalami penurunan seiring naiknya suhu. Hal ini disebabkan pengaruh suhu pada konsentrasi kelarutan oksigen, dimana suhu semakin besar akan menyebabkan oksigen yang mula-mula larut dalam larutan sedikit demi sedikit berubah menjadi gas seiring dengan bertambahnya suhu (Putranegoro, 2009). Seperti halnya

pada penentuan rentang kerja pH, maka penurunan konsentrasi kelarutan oksigen yang terukur pada elektrode eksperimen dibandingkan konsentrasi kelarutan oksigen yang terukur pada elektrode kontrol pada penentuan rentang kerja suhu disebabkan oleh bereaksinya emulsi minyak olive dengan enzim-enzim yang terdapat pada membran PVC.

Konsumsi Oksigen

Data hasil pengukuran rentang kerja elektrode kontrol dan eksperimen pada berbagai volume emulsi minyak olive serta konsumsi oksigen yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel tersebut menunjukkan bahwa ada kenaikan konsumsi oksigen secara praktik dari volume 2 mL hingga 20 mL.



Gambar 1. Hubungan Konsumsi Oksigen Secara Teoritis dan Praktis pada Berbagai Volume Emulsi Minyak Olive

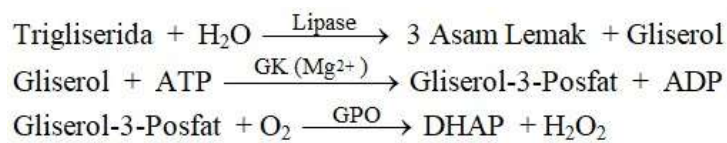
Seperti halnya pada penentuan rentang kerja pH dan suhu, maka penurunan konsentrasi kelarutan oksigen yang terukur pada elektrode eksperimen dibandingkan konsentrasi kelarutan oksigen yang terukur pada elektrode kontrol pada penentuan rentang kerja suhu disebabkan oleh

bereaksinya emulsi minyak olive dengan enzim-enzim yang terdapat pada membran PVC, dimana enzim-enzim tersebut akan mengubah oksigen pada larutan menjadi hidrogen peroksida. Konsumsi oksigen ini dapat dihitung dengan mengurangkan hasil pengukuran elektrode kontrol dengan hasil

pengukuran pada elektrode eksperimen. Adapun konsumsi oksigen yang diperoleh terlihat pada Gambar 1. Perolehan ini sesuai dengan perhitungan konsumsi oksigen secara teoritik, dimana secara teoritik juga diperoleh kenaikan konsumsi oksigen sebanding dengan naiknya volume emulsi minyak olive yang digunakan. Selain itu berdasarkan Gambar 1, diperoleh

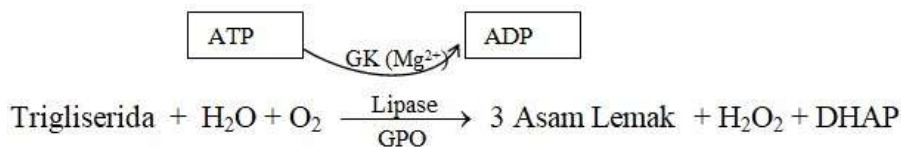
persamaan regresi untuk menentukan konsumsi oksigen secara praktik; $Y = 0,093X - 0,026$. dengan X adalah volume emulsi minyak olive (mL) dan Y adalah konsumsi oksigen yang ingin diketahui (ppm).

Adapun reaksi yang terjadi pada saat pengukuran menggunakan elektrode eksperimen adalah sebagai berikut :

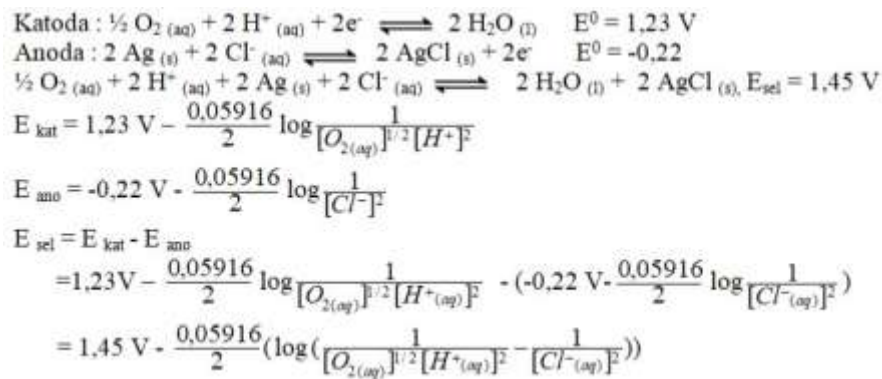


Seperti terlihat dalam reaksi diatas, ada tiga jenis enzim yang digunakan yaitu lipase yang berasal dari Isolat Banyuwedang yang berfungsi mengubah trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol. Kemudian gliserol yang dihasilkan akan diubah menjadi gliserol-3-posfat dan ADP oleh enzim Gliserol Kinase (GK) dengan prekursor Mg^{2+} dimana pada proses tersebut terlebih dahulu ditambahkan ATP. Kemudian proses terakhir adalah pengubahan gliserol-3-posfat menjadi DHAP dan H_2O_2 oleh enzim GPO

(gliserol-3-posfat Oksidase). Reaksi tersebut mengakibatkan berkurangnya konsentrasi kelarutan oksigen yang terukur pada elektrode eksperimen jika dibandingkan dengan elektrode kontrol. Berkurangnya konsentrasi kelarutan oksigen disebabkan karena oksigen dalam larutan berubah membentuk H_2O_2 . Bagaimana mekanisme serta reaksi yang terjadi pada elektrode biosensor hingga sampai terukurnya konsumsi oksigen dapat diuraikan sebagai berikut :



Adapun reaksi yang terjadi di elektrode biosensor (DO meter-Enzim) sebagai berikut :



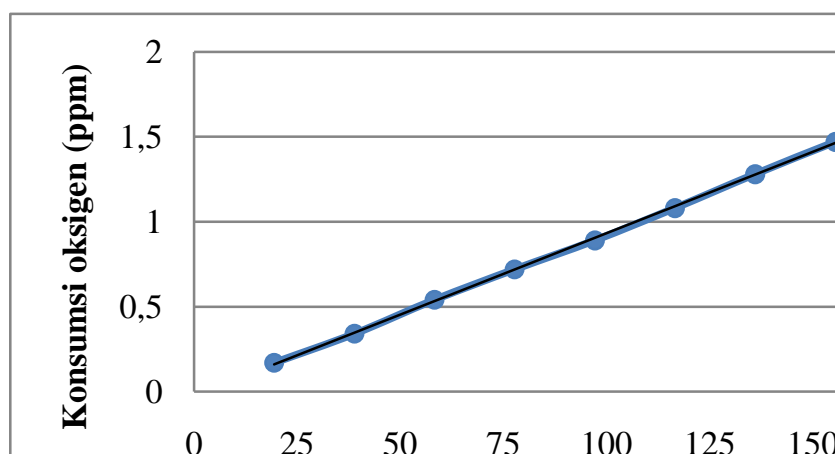
(Harris, Daniel.C, 2003)

Reaksi tersebut menunjukkan pengaruh konsentrasi oksigen terlarut terhadap E_{sel} reaksi. Semakin besar konsentrasi oksigen terlarut dalam larutan maka semakin besar pula E_{sel} yang terukur.

Penentuan Trigliserida

Hasil pengukuran dari elektrode kontrol digunakan sebagai konsentrasi kelarutan oksigen mula-mula. Dimana pada pengukuran yang menggunakan elektrode kontrol tidak mengandung enzim sehingga tidak akan

terjadi reaksi penggunaan oksigen. Konsentrasi kelarutan oksigen yang hilang karena berubah menjadi H_2O_2 (oksigen konsumsi) dapat dihitung dengan mengurangi konsentrasi kontrol dengan konsentrasi. Kadar trgliserida diperoleh dari konsumsi oksigen secara praktis yaitu dengan menggunakan perhitungan. Dengan menggunakan perhitungan tersebut diperoleh hasil dalam bentuk grafik sebagai berikut.



Gambar 2. Hubungan Konsumsi Oksigen Dengan Konsentrasi Emulsi Minyak Olive

Berdasarkan grafik tersebut dapat diketahui konsentrasi trigliserida praktis yang diperoleh dari hasil perhitungan terhadap konsumsi oksigen

yang diperoleh. Dari grafik tersebut juga dapat kita peroleh persamaan regresi untuk menghitung kadar trigliserida; $Y = 2,571X - 0,714$. dengan X adalah

volume emulsi minyak olive (mL) dan Y adalah konsentrasi trigliserida yang ingin ditentukan (ppm).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa rentang kerja pH biosensor berdasarkan pengukuran kedua jenis elektrode mengalami kenaikan mulai dari pH 6,0 hingga 8,0. Namun untuk aplikasi pengukuran selanjutnya digunakan pH 7,0. Rentang kerja suhu biosensor berdasarkan pengukuran kedua jenis elektrode mengalami penurunan dari suhu 10-70°C. Pengukuran selanjutnya menggunakan suhu 30°C untuk mempermudah aplikasi pengukuran.

Hubungan kadar trigliserida terukur berbanding lurus dengan emulsi minyak olive yang digunakan dan diperoleh persamaan, $Y = 0,009X - 0,026$, dengan Y adalah kadar trigliserida yang terukur sebagai konsumsi oksigen (ppm) dan X adalah emulsi minyak olive yang digunakan (ppm).

Saran

Dalam penelitian ini, sangat perlu dilakukan pengkajian dan penelitian secara lebih mendalam terhadap aplikasi biosensor dalam penentuan trigliserida.

DAFTAR PUSTAKA

- Bjorkhem, K Sandelin, and T Anders, *A Simple, Fully Enzymatic Bioluminine – Scent Assay For Triglycerides In Serum*. *Clin. Chem.* 28 (1989). pp. 1742-1744.
- Bhambi, M., Minakshi and C.S Pundir (2006), Preparation of Oxygen Meter Based Biosensor for Determination of Triglyceride in Serum, *Sensor & Transducers Magazine (S & T e-Digest)*, Vol. 67, issue 5 pp.561-567.
- Fossati, and L. Prencipe. 1982. *Serum Triglycerides Determined Colorimetrically With An Enzyme That Produces Hydrogen Peroxide*. *Clin. Chem.* 28. pp. 2077-80.
- Harris, Daniel.C. 2003. *Quantitative Chemical Analysis, 6th ed.* W.H. Freeman & Company. New York:p384
- Klotzsch, S.G, and J.R McNamara. 1990. *Trygliceride measurement : reviw of methods and interferences*, *Clin. Chem.* 36, pp 1605-1613.
- Lowry, N.J. Rosenbrough, A.L Farr., and R.J. Randall, (1951), *Protein Measurement With The Folin Phenol Reagent*. *J. Biol. Chem.* 193. pp. 265-275.
- Okazaki, N Komoriya, H Tomoike, N Inowe, S. Itoh, and S. Hoosaki. 1998. *“Quantitative Detection Method Of Triglycerides In Serum Lipoproteins And Serum Free Glycerol By High Performance Liquid Chromatography”*. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 709. pp. 179-187.
- Putranegoro, David. 2009. *Medical Info*. www.airoxindonesia.com.
- Tika, I N. I.W Redhana,dan N.P. Ristiati (2006). *Isolasi, Pemurnian dan karakterisasi Lipase termofilik dari Bakteri termofilik yang diisolasi dari Sumber Air Panas Banyuwedang, Kecamatan*

- gerogak Buleleng Bali,*
Laporan Penelitian
Fundamental, Dirjen Dikti.
- Voysey, and D.C. Wilton, Rapid. 1994.
*Sensitive Fluorometric
Determination Of Serum
Triglyceride By Measuring
Lipase Liberated Fatty Acids.*
Clin. Chem. 40. pp. 14-17.
- Wallach, 1996. *Interpretation of
diagnostic tests.* in: Little
brown (Ed.). Lippin cott.
Raven Publishers.
Philadelphia. PA 19106.
- Xiang LI, Yun Long ZENG, Chun Ran
TANG. 2005. *Glucose
Biosensor Based on
Carbon/PVC-
COOH/Ferrocene Composite
with Covalently Immobilized
Enzyme.* *Chinese Chemical
Letters* Vol. 16, No. 10, pp
1357-1360.