

## Sintesis Nanopartikel Poly(NIPAM) Polimer untuk Pemurnian Enzim Protease dengan Teknik Afinitas Presipitasi

Munir Mukhlisin\*, Risky Rifaldy, Syaubari, Muhammad Faisal  
Jurusan Teknik Kimia, Universitas Syiah Kuala  
\*Email: [1304103010125@che.unsyiah.ac.id](mailto:1304103010125@che.unsyiah.ac.id)

### Abstract

Currently, the biospecific affinity method for separation has gain attention and is continuously being developed. Precipitation affinity techniques continue to be developed because of it's simplicity economic value without reducing the purity of the product and the recoverable polymer can be reused And easy to scale-up. The polymer used for the precipitation affinity has a ligand group that can work specifically therefore named "smart polymer". The hydrophilic polymer and the soluble liquid are altered to become hydrophobic and insoluble by changing the pH, temperature, ionic strength, or reagent. The research is used specific ligand for soluble polymers conducted in two stages and tested for enzyme purification. NIPAM and AIBN are fixed variable for NIPAM polymer synthesis the first stage. The second stage is PABA conjugation where synthesis NIPAM in conjugated with PABA ligands. At this stage, the characterization of PABA is the dependable variable. Dry weight of carboxylated poly(NIPAM) is 91,3%, carboxylated poly(NIPAM)-co MPA 0,4 is 90,4%, carboxylated poly(NIPAM)-co MPA 0,6 is 88,9%. After characterization using SEM, the morphological structure of poly(NIPAM) has a relatively smoother surface. Meanwhile, FTIR characterize obvious changes in weak spectrum 3300-2500  $\text{cm}^{-1}$ . This is due the presence of carboxyl groups characterized in poly(NIPAM). Spectrophotometer tests obtained LCST conditions of 40°C. Conjugation of PABA in poly(NIPAM)-co MPA 0,6 with 50 mg of PABA has better conjugate efficiency with a conjugate yield percentage of 52,6%.

Keywords: NIPAM, precipitation, smartpolymer

### Abstrak

Dewasa ini, metode afinitas biospesifik untuk pemisahan menjadi pusat perhatian dan terus menerus dikembangkan hingga saat ini. Teknik afinitas presipitasi terus dikembangkan karena metode ini lebih sederhana, tidak rumit, dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi tanpa mengurangi kemurnian produk serta polimer yang diperoleh dapat dipergunakan kembali dan mudah untuk scale-up. Polimer yang digunakan untuk afinitas presipitasi memiliki gugus sebagai ligan yang dapat bekerja secara spesifik sehingga polimer ini disebut "smart polymer". Polimer hidrofilik dan cairan yang larut diganti dengan hidrofobik dan menjadi cairan yang tak larut apabila dikondisikan oleh pH, temperatur, kekuatan ionik, atau pun penambahan suatu reagent. Penelitian ini dimaksudkan untuk memanfaatkan pasangan ligan untuk polimer cair yang larut berdasarkan makroligannya dan mudah dikembangkan untuk skala besar. Pada penelitian ini dilakukan dengan dua tahapan dan siap untuk dilakukan pengujian pemurnian enzim. Pertama, sintesis polimer NIPAM, pada tahapan ini NIPAM dan AIBN sebagai variable tetap. Sedangkan, MPA sebagai variable berubah. Kedua, konjugasi PABA, polimer NIPAM yang telah disintesis dikonjugasi dengan ligan PABA. Pada tahap ini karakterisasi PABA menjadi variabel yang berubah. Berat kering carboxylated Poly(NIPAM) didapat 91,3%, carboxylated Poly(NIPAM)-co MPA 0,4 sebesar 90,4%, dan carboxylated Poly(NIPAM)-co MPA 0,6 sebesar 88,9%. Pada uji SEM struktur morfologi Poly(NIPAM) yang di karakterisasi memiliki permukaan yang relative lebih halus. Sedangkan, pada uji FTIR, salah satu perubahan yang jelas terdapat pada spectra 3300-2500  $\text{cm}^{-1}$  lemah. Hal ini disebabkan adanya gugus karboksil yang terkarakterisasi pada poly(NIPAM). Pada uji spektrofotometer didapat kondisi LCST pada suhu 40°C. Konjugasi PABA pada poly(NIPAM)co-MPA 0,6 dengan 50 mg PABA memiliki efisiensi konjugasi yang lebih baik dengan persentase yield terkonjugasi sebesar 52,6%.

Kata kunci: NIPAM, presipitasi, smartpolymer

### 1. Pendahuluan

Protease adalah enzim-enzim multifungsi yang mengkatalisis hidrolisis protein untuk polipeptida dan oligopeptida untuk asam amino. Enzim ini hampir 60% utuh dan telah digunakan dalam berbagai macam aplikasi termasuk produksi obat-obatan, deterjen, pupuk, teksti, makanan, dan bioteknologi industri. Enzim ini dapat diisolasi dari

tanaman, hewan, dan mikroorganisme. Dari sumber-sumber ini, mikroorganisme menunjukkan besarnya potensi produksi protease karena biokimia yang luas, beranekaragam, dan kerentanan mikroorganisme terhadap manipulasi genetik. Diperkirakan bahwa enzim protease dari mikroba mewakili sekitar 40% dari total penjualan enzim di seluruh dunia [1].

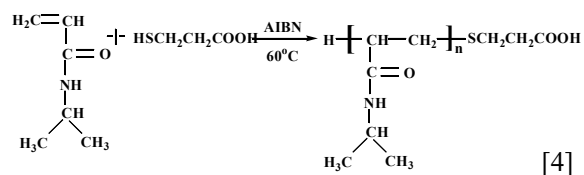
Karakterisasi biokimia enzim penting untuk mengevaluasi potensi bioteknologi. Studi tentang sifat protease, seperti spesifisitas substrat, kondisi pH katalitik optimum, profil suhu, dan stabilitas dapat digunakan untuk memprediksi keberhasilan penerapan enzim untuk industri atau proses tertentu [2]. Setelah mikroorganisme terisolasi kemudian harus diidentifikasi. Sampai saat ini, identifikasi mikroba penghasil protease masih banyak dengan menggunakan isolat dan kultur murni yang kemudian dianalisis sifat fisiologi dan biokimianya saja. Sehingga mikroba yang tidak terisolasi (*not yet cultured*) tidak dapat diidentifikasi. Dengan kemajuan bidang biologi molekuler, identifikasi semua organisme dapat dilakukan dengan analisis gen 16s-rRNA ini sesuai untuk identifikasi mikroorganisme karena gen ini terdapat di semua organisme.

Untuk isolasi suatu enzim/protein dapat dilakukan dengan memanfaatkan sintesa polimer. Protein merupakan salah satu zat terpenting yang banyak terdapat di alam dan dapat dimanfaatkan baik untuk hewan dan tumbuhan maupun manusia. Peranan protein begitu besar sehingga menarik perhatian ilmuwan untuk terus mengembangkan teknik pemisahan protein yang efektif dan efisien. Konjugat protein-polimer telah lama digunakan untuk memanipulasi sifat asli dari protein [3].

## 2. Metode Penelitian

### 2.1 Prosedur Sintesis Polimer NIPAM

Sintesa polimer dapat dilakukan dengan sepuluh gram NIPAM dilarutkan dalam 20 ml etanol di dalam suatu erlenmeyer. Ditambahkan *Mercaptopropionic Acid* (MPA) sesuai rasio dan 0.1 gram 2, 2-Azobis(*isobutyronitrile*) (AIBN) yang ditambahkan bersama-sama dengan campuran dari larutan tersebut dan diinkubasi pada 60°C selama 20 jam. Produk yang berupa precipitat dapat diambil dengan memasukkan larutan diethyl eter. Pada temperatur optimum menghasilkan precipitat yang dapat diukur dengan panjang gelombang pada 470 nm dengan Spektrofotometer UV setelah dipanaskan larutan polimer tersebut dalam air selama 10 menit. Recovery berat kering precipitasi dihitung berdasarkan berat kering larutan polimer dalam air pada 37°C selama 15 menit. Proses monomer menjadi polimer dapat dianalisa strukturnya dengan FTIR dan SEM.



Gambar 1 Sintesa polimer NIPAM

Pada tahap yang terakhir, dilakukan uji karakteristik dan kinerja polimer. Karakteristik yang diuji meliputi struktur morfologi dan indentifikasi gugus fungsi polimer. Sedangkan, penentuan suhu presipitasi polimer digunakan pengujian dengan spektrofotometer UV.

#### 2.1.1 Analisis morfologi

Morfologi polimer NIPAM menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) di Laboratorium Pusat Survey Geologi Bandung. Tipe SEM yang digunakan yaitu JEOL JSM 6360LA. Sampel diuji menggunakan berkas elektron dengan energi kinetik sebesar 10 kV. Perbesaran gambar yang diambil yaitu 10.000 kali untuk dapat mengetahui morfologi bagian permukaan (*surface*).

#### 2.1.2 Analisis gugus fungsi

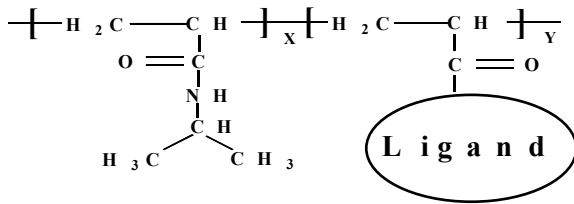
Gugus fungsi polimer dianalisis menggunakan alat *Fourier Transform Infrared* (FTIR) di Laboratorium Teknik Lingkungan. Tipe alat yang digunakan yaitu FTIR Shimadzu 8400. Sampel Polimer NIPAM pada panjang gelombang 400  $\text{cm}^{-1}$  - 4000  $\text{cm}^{-1}$  dan dihasilkan spektra transmitans.

#### 2.1.3 Analisa LCST

Polimer NIPAM merupakan polimer yang memiliki suhu yang sensitive pada pelarutnya atau yang biasa disebut LCST. LCST merupakan titik temperature kritis terendah larutan, dimana pada kondisi ini larutan terhomogen dengan baik dan kondisi ini juga merupakan kondisi terbaik untuk melakukan teknik presipitasi. Oleh karena itu, perlu dianalisa LCST dari larutan Poly(NIPAM) untuk mendapatkan presipitat yang optimum pada proses presipitasi. Untuk mengetahui suhu presipitasi ini, dilakukan pengujian absorbansi terhadap polimer NIPAM dengan menggunakan spektrofotometer UV. Uji spektrofotometer dilakukan di laboratorium instrumentasi.

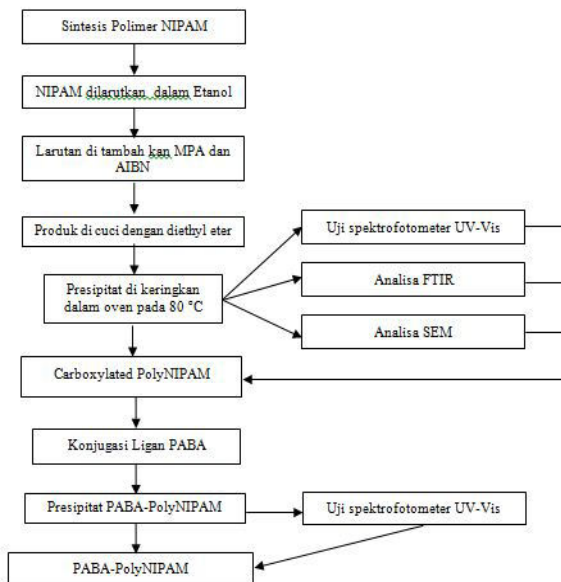
### 2.2 Prosedur Konjugasi Ligan PABA terhadap PolyNIPAM

Dua gram polimer NIPAM dilarutkan dalam 15 ml air, tambahkan 450 mg p-aminobenzamidine (PABA), dan pH diatur 6.5 dengan NaOH. 550 mg, 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride (EDC) ditambahkan sedikit demi sedikit yang dibagi dalam tiga porsi selama 12 jam serta diaduk pada temperatur kamar. PABA-konjugat di presipitasi dengan menaikkan temperatur diatas 38°C. Precipitat dicuci dua kali dengan air dingin dan satu kali dengan buffer 10 mM Tris-HCl (pH 8.1). Polimer dikeringkan pada oven temperatur 80°C selama 5 jam. Polimer dilarutkan dalam air untuk memperoleh 10% berat/v untuk disimpan sebagai larutan percobaan lebih lanjut.



Gambar 2 Konjugasi ligan terhadap polimer NIPAM

Setelah didapatkan presipitat PABA-polyNIPAM, langkah berikutnya yaitu melakukan analisa kadar PABA yang terikat pada poly(NIPAM) dengan menggunakan Spektrofotometer UV-vis. Dengan menggunakan analisa kuantitatif ini secara tidak langsung diharapkan juga dapat mewakili analisa kualitatif pada sampel presipitat PABA-Poly(NIPAM). Terakhir, dilakukan analisa PABA-poly(NIPAM) dengan menggunakan enzim murni.



Gambar 3 Skema langkah sintesis nanopartikel polyNIPAM dan konjugasi PABA-polimer NIPAM

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1 Sintesis Polimer NIPAM

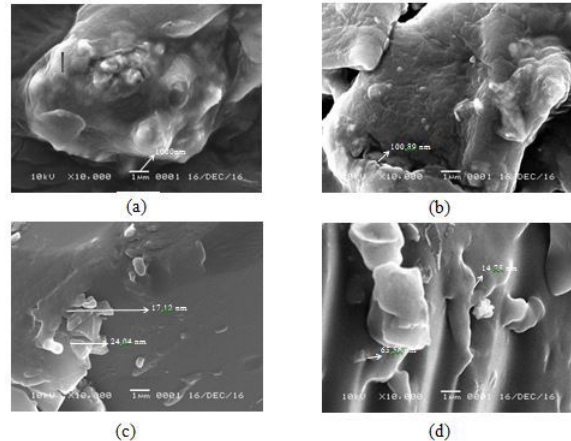
Hasil sintesa polimer NIPAM yang dikarakterisasi dengan penambahan MPA disebut dengan carboxylated poly(NIPAM). Sintesa polimer NIPAM dengan menggunakan pelarut non-polar ethanol karena inisiator yang digunakan hanya larut pada pelarut non-polar. Pada karakterisasi poly(NIPAM) dengan penambahan MPA dibuat secara bervariasi. Sampel pertama tanpa MPA, kedua dengan 0,4 ml MPA, dan yang ketiga dengan penambahan MPA 0,6 ml. Yield yang didapatkan dari sintesa ini berturut-turut 91,3%; 90,4%; dan 88,9%.

Setelah didapatkan presipitat berat kering sampel dilakukan pengujian morfologi carboxylated poly(NIPAM) dengan menggunakan SEM dan uji gugus fungsi dengan FTIR serta uji LCST dengan menggunakan spektrofotometer. Perubahan struktur

morfologi Poly(NIPAM) terhadap modifikasi dan variasi perlakuan diamati dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan indentifikasi gugus fungsi polimer dengan menggunakan alat *Fourier Transform Infrared* (FTIR).

#### 3.1.1 Analisa morfologi dengan (SEM)

*Scanning Electron Microscope* (SEM) merupakan salah satu alat analisis untuk mengamati struktur morfologi polimer yang terbentuk. Analisis yang dilakukan yaitu mengamati struktur morfologi permukaan polimer (NIPAM). Analisis ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi MPA pada struktur nano Poly(NIPAM). Untuk melihat pengaruh penambahan konsentrasi MPA pada struktur Nano Poly(NIPAM), dari empat sampel poly(NIPAM) dilakukan pengujian analisa SEM. Salah satu cara untuk mengembangkan/mengkarakterisasi sifat mekanik poly(NIPAM) adalah dengan mensubstitusi komponen organik dan non organik ke dalam jaringan tersebut [5].



Gambar 4 Hasil analisa uji SEM yang menunjukkan morfologi permukaan Poly(NIPAM) a) monomer NIPAM, (b) Poly(NIPAM) tanpa MPA, (c) Poly(NIPAM) dengan 0,4 MPA, (d) Poly(NIPAM) dengan 0,6 MPA

Dari analisa SEM yang didapatkan jelas bahwa struktur morfologi berhubungan dengan penambahan MPA serta menunjukkan struktur morfologi Poly(NIPAM) murni itu halus dan kasar. Namun dengan penambahan MPA struktur morfologi menjadi lebih halus. Hal ini disebabkan karena NIPAM bersifat hidrofilik dan MPA adalah oleofilik [5]. Pengujian analisa SEM dilakukan di Badan Pusat Geologi Bandung. Pembesaran yang digunakan pada uji SEM ini, yaitu pada pembesaran 10.000x. Berdasarkan uji SEM yang dilakukan, Gambar 4 menunjukkan jelas bahwa struktur nano itu terkait dengan penambahan MPA. Gambar (a) menunjukkan bahwa NIPAM murni berbentuk suatu gumpalan dan bergelombang. Gambar (b), Poly(NIPAM) dengan 0 MPA memperlihatkan permukaan Poly(NIPAM) yang juga relatif datar, bergelombang kasar, dan sedikit berlubang. Selain

itu juga, terlihat beberapa lubang dengan ukuran  $\pm 100$ nm. Namun, Gambar (c) mengalami perubahan yang signifikan dengan penambahan 0,4 MPA pada Poly(NIPAM), yaitu lebih datar, halus, dan sedikit bergelombang. Namun, dapat terlihat ukuran pori yang mengecil pada ukuran 24,04 nm dan 17,12 nm. Sedangkan, Gambar (d) dengan penambahan 0,6 MPA pada Poly(NIPAM), serupa dengan gambar sebelumnya datar, halus, dan sedikit lebih banyak gelombang dengan ukuran pori yang juga beragam namun relatif lebih kecil pada ukuran 14,75 nm dan 65,56 nm.

Semakin banyak MPA yang terikat pada Poly(NIPAM), maka semakin kecil ukuran dari polimer tersebut. Selain itu, permukaan polimer akan terlihat lebih halus dengan penambahan MPA. Dengan banyaknya MPA yang terikat pada Poly(NIPAM) diharapkan *smart polymer* ini dapat dengan banyak mengikat ligan PABA. Seperti diketahui sebelumnya, MPA dimanfaatkan untuk digunakan sebagai media yang mengikat ligan PABA. Dimana, ligan PABA akan dimanfaatkan untuk dapat mengikat suatu enzim spesifik pada proses aplikasi dari *smart polymer* ini. Aplikasi *smart polymer* ini diharapkan dapat menjadi solusi alternatif penanganan limbah dan juga pemanfaatan pengolahan limbah.

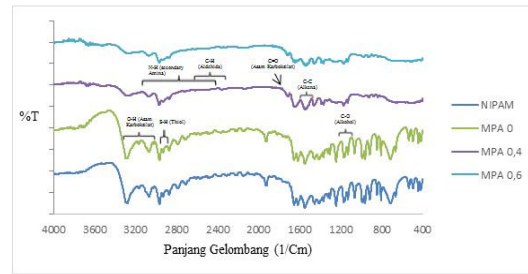
### 3.1.2 Analisa Gugus Fungsi dengan (FTIR)

*Fourier Transform Infrared* (FTIR) merupakan suatu alat instrumen untuk mengetahui gugus fungsi dari suatu sampel dengan interaksi molekul berupa absorpsi atau transmisi dari sinar infra merah yang diteruskan pada sampel. Analisis dilakukan dengan melihat spektrumnya (puncak spesifik) yang menunjukkan jenis dari gugus fungsional yang dimiliki oleh senyawa tersebut. Hasil pembacaan analisis FTIR dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 5 menunjukkan spektrum FTIR poly(Nipam) yang terkarboksilasi dan monomer NIPAM. Spectrum IR dari polimer NIPAM ditandai dengan frekuensi khas ( $3300-3100\text{ cm}^{-1}$ ) untuk N-H amida sekunder, ( $1675-1665\text{ cm}^{-1}$ ) untuk C=C alkena, ( $2971-2861\text{ cm}^{-1}$ ) ikatan C-H dalam kelompok isopropyl dan ( $1650\text{ cm}^{-1}$ ) ikatan C=O. Sedangkan karakterisasi spesifik polimer pada carboxylated Poly(NIPAM) terlihat pada spectra  $3300-2500\text{ cm}^{-1}$  untuk O-H *carboxylic acid*,  $1310-1250\text{ cm}^{-1}$  kuat untuk C-O, dan  $2600-2550$  untuk S-H.

Pada empat grafik diatas terlihat jelas bahwa terdapat perbedaan spectrum antar satu grafik dengan yang lainnya. Spectra untuk monomer NIPAM relatif lebih kuat jika dibanding dengan 2 grafik carboxylated Poly(NIPAM). Hal ini dapat dilihat jelas perbedaan pada spectra  $3300-2500\text{ cm}^{-1}$  lemah, dimana ini menunjukkan adanya gugus O-H dari *carboxylic acid* yang merupakan gugus yang

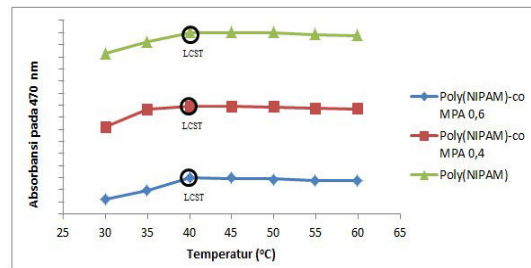
terdapat pada MPA yang dikarakterisasi pada Poly(NIPAM).



Gambar 5 Hasil analisis FTIR pada monomer NIPAM, Poly(NIPAM) tanpa MPA, Poly(NIPAM) dengan 0,4 MPA, dan Poly(NIPAM) dengan 0,6 MPA

### 3.1.3 Analisa LCST dengan Spektrofotometer UV

Salah satu polimer NIPAM hasil sintesa dilakukan analisa spektrofotometer UV untuk menentukan suhu presipitasinya. Pada pengukuran spektrofotometer UV, sampel dikondisikan berada pada suhu LCST. LCST (Lower Critical Solution Temperature) adalah suhu larutan kritis yang lebih rendah atau suhu yang rendah, dimana komponen campuran tercampur untuk semua komposisi. Pengukuran OD (Optical Density) dilakukan pada panjang gelombang 470 nm. Sebelum dilakukan pengukuran OD, larutan polimer dipanaskan (beberapa menit) dalam water bath pada suhu yang bervariasi seperti pada Gambar 6 Nilai LCST untuk kopolimer berbasis Poly(NIPAM) yang diukur selama pemanasan melalui perubahan ukuran partikel biasanya diamati pada suhu sekitar  $35^{\circ}\text{C}$  [6].

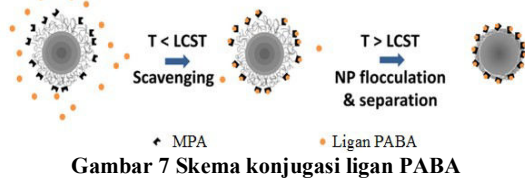


Gambar 6 Kurva kalibrasi Polimer NIPAM

Pada panjang gelombang 470 nm, didapat nilai absorbansi yang berbeda berdasarkan temperature sistem yang berbeda juga. Harus ditekankan bahwa nilai LCST dari kopolimer yang diperoleh oleh kita sedikit lebih tinggi dari pada rata-rata yang ditemukan dalam literatur untuk kopolimer berbasis NIPAM (Pelton, 2000). Gambar 6 menunjukkan absorbansi dengan  $40^{\circ}\text{C}$  memiliki nilai absorbansi paling tinggi dari suhu lainnya. Sedangkan, absorbansi terendah terdapat pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$ . Grafik diatas menunjukkan bahwa polimer ini memiliki suhu untuk presipitasi pada  $40^{\circ}\text{C}$ . Sehingga, untuk melakukan teknik presipitasi pada polimer ini, larutan polimer ini perlu dikondisikan terlebih dahulu pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  didalam *water bath*.

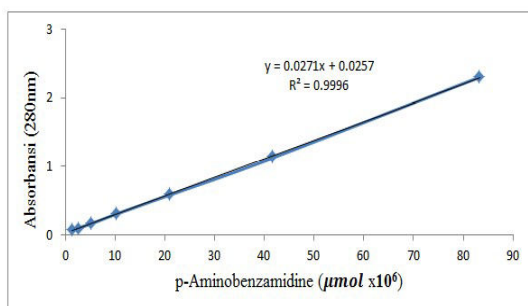
### 3.2 Konjugasi Ligan PABA pada Poly(NIPAM)

Setelah dilakukan analisa karakteristik, baik analisa morfologi maupun analisa gugus fungsi polimer, carboxylated poly(NIPAM) dikonjugasikan dengan ligan PABA. Dilakukannya konjugasi ligan dimaksudkan untuk pengikatan ataupun penangkapan enzim spesifik yang nantinya akan berikatan dengan PABA secara langsung dan spesifik.



Pada Gambar 7 di atas menjelaskan bahwa dibawah kondisi LCST pada *carboxylated* poly(NIPAM) terjadi pencarian ligannya yang terpecah acak dan tidak berpasangan. Pada kondisi LCST, carboxylated poly(NIPAM) berikatan dan berpasangan dengan ligannya. Sedangkan kondisi diatas LCST terjadi proses penggumpalan. Berdasarkan sifat *smart polymer* diatas, rekayasa PABA-poly(NIPAM) mengikuti dan memanfaatkan ketiga kondisi diatas. Pembuatan larutan PABA-poly(NIPAM) dilakukan dibawah kondisi LCST. Hal ini dimaksudkan agar larutan terhomogen sempurna. Kemudian, larutan dinaikkan suhunya hingga pada mencapai kondisi LCST, dimana pada penelitian ini kondisi LCST berada pada suhu 40°C. Pada kondisi ini diharapkan ligan PABA banyak yang dapat terikat pada carboxylated poly(NIPAM). Selanjutnya, dilakukan proses penggumpalan menggunakan suhu diatas LCST yaitu pada 60°C.

Kurva kalibrasi p-Aminobenzamidine diperlihatkan pada Gambar 8. Konjugasi dari PABA dianalisa dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 280 nm. Konjugasi dengan NIPAM menggunakan PABA 50 mg dan 450 mg pada pH 6,5. Presipitat yang didapatkan dilakukan pengujian spektrofotometer UV dengan melarutkan 10 mg presipitat dalam 8 ml aquadest.



**Gambar 8 Kurva kalibrasi PABA**

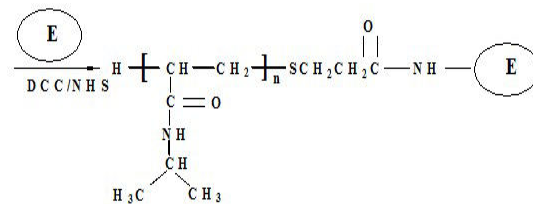
Berdasarkan kurva kalibrasi diatas, dilakukan pengujian pada carboxylated poly(NIPAM) untuk

mengetahui jumlah ligan PABA yang terkonjugasi. Persen PABA yang terkonjugasi dapat dilihat pada table 3.1 berikut.

**Tabel 1 Persen yield ligan PABA yang terkonjugasi**

No.	Sampel	PABA (mg)	Yield terkonjugasi (%)
1	Poly(NIPAM)co-MPA 0,4	50	42,3
2	Poly(NIPAM)co-MPA 0,6		52,6
3	Poly(NIPAM)co-MPA 0,4		46,9
4	Poly(NIPAM)co-MPA 0,6	150	54,2
5	Poly(NIPAM)co-MPA 0,4		46,2
6	Poly(NIPAM)co-MPA 0,6	250	55,6

Ketiga kondisi ini memperlihatkan hampir sama jumlah PABA yang dapat terkonjugasi, hanya saja terjadi kenaikan yang sangat sedikit, hal ini disebabkan jumlah PABA 150 mg dan 250 mg terlalu besar untuk mengikat 2 gram carboxylated poly(NIPAM). Terkait dengan perlakuan yang efisien, penggunaan PABA 50 mg lebih unggul karena lebih efisien. Hasil PABA-poly(NIPAM) yang diperoleh dapat digunakan untuk eksplorasi enzim. Setelah dilakukan konjugasi ligan, PABA-poly(NIPAM) bisa dilakukan pengujian terhadap enzim tertentu/spesifik. Pengujian poly(NIPAM) secara spesifik dan komersil pada limbah dapat dilakukan pada penelitian selanjutnya. Berikut Gambar 9 yang menunjukkan eksplorasi enzim spesifik pada PABA-poly(NIPAM).



**Gambar 9 Enzim diserap/berikatan dengan ligan pada poly(NIPAM)**

### 4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan berat kering carboxylated Poly(NIPAM) didapat 91,3%, carboxylated Poly(NIPAM)-co MPA 0,4 sebesar 90,4%, carboxylated Poly(NIPAM)-co MPA 0,6 sebesar 88,9%. Poly(NIPAM) yang dikarakterisasi dengan MPA akan memiliki morfologi struktur permukaan yang lebih halus dan rata jika dibandingkan dengan monomer dan polimer NIPAM itu sendiri. Sedangkan, karakterisasi Poly(NIPAM) membuat spectra pada spectra 3300-2500  $\text{cm}^{-1}$  menjadi lebih lemah dari sebelumnya. Hal ini dikarenakan gugus O-H karboksil asam pada MPA telah tersubstitusi pada Poly(NIPAM). Sedangkan karakterisasi lainnya juga terlihat pada spectra 3300-2500  $\text{cm}^{-1}$  untuk O-H *carboxylic acid*, 1310-1250  $\text{cm}^{-1}$  kuat untuk C-O, dan 2600-2550 untuk S-H. Sementara, LCST dari larutan Poly(NIPAM) didapatkan pada suhu 40°C. Konjugasi PABA pada poly(NIPAM)co-MPA 0,6

dengan 50 mg PABA memiliki efisiensi konjugasi yang lebih baik dengan persentase *yield* terkonjugasi sebesar 52,6%.

#### Daftar pustaka

- [1] Janser, Ruann, Soares, D. C., Tânia, G. N., Hélia, H. S. 2014. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology Production and Biochemical Properties of Proteases Secreted by *Aspergillus Niger* under Solid State Fermentation in Response to Different Agroindustrial Substrates. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 3(4): 236–45.
- [2] Janser, Ruann, Soares, D. C., Tânia, G. N., Hélia, H. S. 2015. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology A Versatile System Based on Substrate Formulation Using Agroindustrial Wastes for Protease Production by *Aspergillus Niger* under Solid State Fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 4(4): 678–84.
- [3] Cummings, C., Murata, H., Koepsel, R., Russell, A. J. 2013. Tailoring enzyme activity and stability using polymer-based protein engineering. *Biomaterials*, 34(30): 7437–7443.
- [4] Syaubari, Sari, M., Chuah, T. G., Zulkafli, G., Ishak, M. 2004. Synthesis of Poly(NIPAM) with  $\beta$ -Mercaptopropionic Acid and Their Conjugate to *p*-Aminobenzamidine, *Applied Technology*. 2(2): 76–81.
- [5] Ming, L. Z., Qu, L. L., Kang, Z. M., Yi, F. M., Yong, J. 2015. Preparation and properties of controllable amphiphilic P(NIPAM-co-LMA) gel for drug delivery, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 29: 245–250.
- [6] Tomasz, Ś., Maciej J., Ewa A., Mikołaj S., Jacek, G. 2017. Uptake and controlled release of a dye from thermo-sensitive polymer P(NIPAM-co-Vim), *Reactive and Functional Polymers*. 115: 102–2108.