



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

PEMANFAATAN ZEOLIT ALAM YANG TELAH DIAKTIVASI SEBAGAI MEDIA PENDUKUNG AMOBILISASI ENXIM AMILASE

SKRIPSI



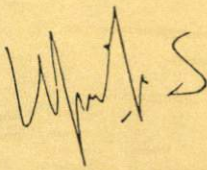
**AGRINA LISMA
06132036**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

Pemanfaatan Zeolit Alam Yang Telah Diaktivasi Sebagai Media Pendukung Amobilisasi Enzim α -Amilase. Skripsi ini disusun oleh oleh Agrina Lisma (No.BP 06 132 036) yang diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (Strata 1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas.

Disetujui oleh :

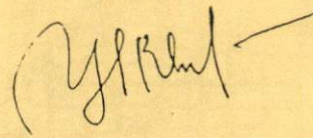
Pembimbing I



Dr. Upita Septiani

NIP. 19700917 199903 2 001

Perabimbing II



Dr. Yetria Rilda

NIP. 19640421 198903 2 002

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul ***“Pemanfaatan Zeolit Alam Yang Telah Diaktivasi Sebagai Media Pendukung Amobilisasi Enzim A-Amilase”***.

Skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Universitas Andalas Padang. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tua yang telah memberikan dorongan moril dan materil,
2. Ibu Dr.Upita Septiani sebagai pembimbing I dan Ibu Dr. Yetria Rilda sebagai pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan serta waktunya selama ini,
3. Bapak Dr. Adlis Santoni selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Andalas,
4. Bapak Prof. Dr. Syukri Arief selaku Kepala Laboratorium Kimia Material,
5. Ibu Prof. Dr. Sumaryati Syukur selaku Kepala Laboratorium Bioteknologi,
6. Ibu Fatmi selaku Analis Laboratorium Kimia Material,
7. Ibu Fitrinayanti, Amd selaku Analis Laboratorium Bioteknologi.

Semoga bantuan yang telah diberikan mendapatkan balasan dari Allah SWT. Akhir kata penulis mohon maaf bila ada kesalahan dan kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu penulis menerima kritikan dan saran yang bermanfaat bagi perbaikan skripsi ini.

Padang, April 2011

Penulis

ABSTRAK

PEMANFAATAN ZEOLIT ALAM YANG TELAH DIAKTIVASI SEBAGAI MEDIA PENDUKUNG AMOBILISASI ENZIM α -AMILASE

Oleh

**Agrina Lisma (06132036) dibimbing oleh
Dr. Upita Septiani dan Dr. Yetria Rilda**

Penelitian mengenai pemanfaatan zeolit alam yang telah diaktivasi sebagai media pendukung amobilisasi enzim α -amilase telah dilakukan. Zeolit alam yang diaktivasi dengan HCl 3M dapat menghilangkan pengotor yang terdapat dalam permukaan dan pori-pori zeolit sehingga dapat mengaktifkan gugus fungsi zeolit untuk berinteraksi dengan enzim α -amilase dalam proses amobilisasi enzim. Masa zeolit alam teraktivasi yang tepat untuk digunakan sebagai bahan pengamobil untuk mendapatkan aktifitas optimal dari enzim α -amilase amobil enzim α -amylase adalah sebesar 0,3 gram. Berdasarkan hasil pengukuran optimasi dari enzim α -amylase didapatkan suhu optimum 35°C, pH optimum 5,6 dan waktu inkubasi 35 menit dengan aktivitas unit sebesar 0,04845 unit/mL. Sedangkan untuk enzim α -amylase amobil akan stabil pada suhu optimum 50°C, pH 5,6 dan waktu inkubasi 45 menit dengan aktivitas unit sebesar 0.03003 unit/mL. Dari Pola SEM-EDX menunjukkan adanya perbedaan morfologi permukaan antara zeolit alam teraktivasi dengan zeolit alam yang mengandung enzim α -amilase. Dengan melakukan teknik amobilisasi ini dapat meningkatkan stabilitas penggunaan enzim α -amilase dengan efisiensi penurunan aktivitas enzim sebesar 32 – 70%.

Kata Kunci : *Zeolit, aktivasi, amobilisasi, Enzim α -amilase.*

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	i
KATA PENGANTAR	ii
ABSTRAK	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zeolit	4
2.2 Struktur zeolit	4
2.3 Sifat-sifat zeolit	5
2.4 Aktivasi Zeolit	6
2.5 Enzim α -amilase	7
2.6 Amobilisasi enzim	8

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	12
3.2 Alat dan Bahan	12
3.2.1 Alat yang digunakan	12
3.2.2 Bahan yang digunakan	12
3.3 Pembuatan Reagen	12

3.3.1	Pembuatan Reagen Nelson	12
3.3.2	Pembuatan Reagen Fosfomolibdat	13
3.3.3	Pembuatan Buffer Sitrat 0,1 N.....	13
3.3.4	Pembuatan Larutan Maltosa 1000 ppm	13
3.3.5	Pembuatan Larutan Standar maltosa	13
3.3.6	Pembuatan Larutan Substrat Amilum.....	14
3.4	Prosedur Kerja	14
3.4.1	Aktivasi Zeolit Alam	13
3.4.2	Penentuan Massa Optimum Zeolit Aktivasi Untuk Amobilisasi Enzim α -Amilase	14
3.4.3	Amobilisasi Enzim α -Amilase.....	15
3.4.4	Penentuan pH Optimum Enzim α -Amilase Sebelum dan Sesudah Amobilisasi.....	15
3.4.5	Penentuan Suhu Optimum Enzim α -Amilase Sebelum dan Sesudah Amobilisasi.....	15
3.4.6	Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Enzim α -Amilase Sebelum dan Sesudah Amobilisasi.....	16
3.4.7	Penentuan Aktivitas Enzim α -Amilase Sebelum dan Sesudah Amobilisasi pada Kondisi Optimum	16
3.4.8	Penentuan Aktivitas Enzim α -Amilase Amobilisasi Setelah Pemakaian Berulang	16
3.4.9	Karakterisasi Zeolit Alam sebagai Pengamobil Enzim α -Amilase.....	17

IV. HASIL DAN DISKUSI

4.1	Aktivasi Zeolit Alam	18
4.2	Penentuan pH Optimum Enzim α -Amilase Sebelum dan Sesudah Amobilisasi	19
4.3	Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Enzim α -Amilase Sebelum dan Sesudah Amobilisasi.....	21

4.4	Penentuan Suhu Optimum Enzim α -Amilase Sebelum dan Sesudah Amobilisasi.....	22
4.5	Penentuan Massa Zeolit Aktivasi Optimum	23
4.6	Pengulangan Pemakaian Enzim α -Amilase Setelah Amobilisasi...	24
4.7	Karakterisasi Dengan SEM-EDX	25
V. KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1	Kesimpulan	29
5.2	Saran	29
DAFTAR PUSTAKA.....		30
LAMPIRAN		32

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Kandungan komponen dalam zeolit alam dan zeolit enzim berdasarkan hasil SEM-EDX.....	28
Tabel 2	Panjang gelombang maksimum larutan standar maltosa.....	38
Tabel 3	Nilai absorban larutan standar maltose variasi konsentrasi.....	39
Tabel 4	Aktivitas enzim amylase sebelum amobil pada variasi pH.....	40
Tabel 5	Aktivitas enzim amylase sesudah amobil pada variasi pH.....	40
Tabel 6	Aktivitas enzim α -amilase sebelum amobilisasi pada variasi waktu inkubasi.....	41
Tabel 7	Aktivitas enzim α -amilase setelah amobilisasi pada variasi waktu inkubasi.....	41
Tabel 8	Aktivitas enzim α -amilase sebelum amobilisasi pada variasi suhu...	42
Tabel 9	Aktivitas enzim α -amilase setelah amobilisasi pada variasi suhu.....	42
Tabel 10	Aktivitas enzim α -amilase setelah amobilisasi pada variasi massa zeolit aktivasi.....	43
Tabel 11	Aktivitas enzim α -amilase setelah amobilisasi pada pemakaian berulang.....	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Kerangka utama zeolit.....	5
Gambar 2	Dealuminasi zeolit alam dengan asam	7
Gambar 3	Teknik amobilisasi carrier binding	9
Gambar 4	Teknik amobilisasi cross linking.....	10
Gambar 5	Teknik amobilisasi entrappment	10
Gambar 6	Reaksi dealuminasi dengan perlakuan asam	20
Gambar 7	Pengaruh pH terhadap enzim α -amilase sebelum amobilisasi dan setelah amobilisasi.....	20
Gambar 8	Pengaruh waktu inkubasi terhadap enzim α -amilase sebelum amobilisasi dan setelah amobilisasi.....	21
Gambar 9	Pengaruh suhu terhadap enzim α -amilase sebelum amobilisasi dan setelah amobilisasi	22
Gambar 10	Pengaruh massa zeolit aktivasi terhadap aktivitas enzim α -amilase	23
Gambar 11	Aktivitas enzim α -amilase amobilisasi setelah pemakaian berulang.....	24
Gambar 12	Hasil SEM dari zeolit alam aktivasi dan zeolit alam yang ditutupi oleh enzim α -amilase	25
Gambar 13	Hasil EDX dari zeolit alam aktivasi dan zeolit alam yang ditutupi oleh enzim α -amilase	26
Gambar 14	Bahan dasar yang digunakan	31
Gambar 15	Proses aktivasi zeolit.....	34
Gambar 16	Kurva panjang gelombang maksimum larutan standar maltosa	35
Gambar 17	Kurva persamaan regresi larutan standar maltosa	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil analisis XRD dari zeolit alam	32
Lampiran 2. Hasil Analisis Zeolit Alam dengan AAS-Flame, Spektro UV-VIS dan Grafimetri.....	33
Lampiran 3. Bahan baku yang digunakan	34
Lampiran 2. Skema kerja.....	35
Lampiran 3. Proses aktivasi zeolit alam dengan HCl 3M.....	37
Lampiran 4. Data Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum untuk Pengukuran Konsentrasi Maltosa secara Spektrofotometri	38
Lampiran 5. Data Pembuatan Persamaan Regresi	39
Lampiran 6. Data penentuan pH optimum enzim α -amilase sebelum dan setelah amobilisasi.....	40
Lampiran 7. Data penentuan waktu inkubasi optimum enzim α -amilase sebelum dan setelah amobilisasi	41
Lampiran 8. Data penentuan suhu optimum enzim α -amilase sebelum dan setelah amobilisasi	42
Lampiran 9. Massa zeolit yang cocok untuk amobilisasi dengan enzim α -amilase	43
Lampiran 10. Pengulangan pemakaian enzim α -amilase setelah amobilisasi	44
Lampiran 11. Contoh perhitungan aktivitas enzim.....	45

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Mineral zeolit telah dikenal sejak zaman romawi kuno, tetapi belum ditingkatkan secara optimal. Upaya-upaya penelitian dan pengembangan berwawasan lingkungan terhadap sumber daya mineral tersebut perlu terus dilakukan sehingga dapat memberikan hasil yang nyata. Sifat yang dimiliki oleh zeolit memungkinkan untuk dimodifikasi menjadi katalis, adsorben, dan sebagai matrik pengamobil. Zeolit merupakan mineral yang cukup berlimpah di Indonesia, karena wilayah Indonesia sebagian besar terdiri dari batuan gunung api atau rempah-rempah gunung api yang merupakan sumber mineral zeolit.⁽¹⁾

Zeolit alam pada umumnya memiliki ukuran pori yang tidak seragam, aktifitas katalitik rendah dan banyak mengandung pengotor. Oleh karena itu perlu diaktivasi terlebih dahulu sebelum digunakan. Aktivasi zeolit dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu cara kimia dan cara fisika. Aktivasi dengan cara fisika dilakukan dengan pemanasan sedangkan dengan cara kimia dilakukan dengan pemberian asam atau basa.^(2,3)

Zeolit terdiri dari kristal aluminosilikat terhidrasi yang mengandung kation alkali atau alkali tanah dalam kerangka tiga dimensinya. Kation tersebut dapat digantikan oleh kation-kation lain atau molekul lain tanpa merusak struktur zeolit dan dapat menyerap air secara reversible. Molekul tersebut dapat bergerak bebas yang memungkinkan zeolit dapat digunakan sebagai matrik pendukung untuk mengamobilisasi enzim.⁽³⁾

Penggunaan enzim amilase dalam industri akhir-akhir ini terus meningkat. Enzim ini menyumbang sekitar 30% dari total produksi enzim dunia dan mempunyai aplikasi yang luas di dalam industri. Beberapa industri yang menggunakan amilase adalah industri pengolah pati, makanan, pemeraman, deterjen, tekstil, dan kertas. Dilaporkan, enzim amilase yang digunakan dalam industri tekstil di Bandung, Jawa Barat jumlahnya tidak kurang dari 4 ton per bulan atau sekitar 2- 3 juta dolar Amerika setiap bulannya.⁽⁴⁾

Enzim mempunyai efisiensi kerja dan spesifitas yang tinggi, aktif pada suhu ruang dan pH yang mendekati normal serta memberikan peningkatan laju reaksi yang luar biasa dibandingkan dengan katalis lain. Penggunaan enzim juga tidak perlu mempertimbangkan faktor keamanan karena enzim itu sendiri adalah senyawa alami yang dapat diuraikan dan akan memberikan asam amino bila dihidrolisis.⁽⁵⁾

Secara umum enzim larut dalam air sehingga banyak enzim yang tidak ekonomis untuk digunakan pada pengoperasian dalam skala besar karena hanya dapat digunakan satu kali proses dengan biaya yang cukup mahal. Untuk mengatasi masalah ini dapat dilakukan dengan menjebak enzim dalam bahan-bahan yang tidak larut dalam air, dimana bahan-bahan tersebut dapat dipisahkan dengan mudah. Hal ini memungkinkan penggunaan kembali bahan-bahan tak larut yang mengandung enzim tersebut. Proses ini disebut dengan amobilisasi enzim.⁽⁶⁾

Pada penelitian ini digunakan zeolit sebagai senyawa pengamobilisasi enzim α -amilase dimana sebelumnya dilakukan pengaktifan zeolit alam dengan HCl. Kemudian dipelajari masa optimum zeolit alam aktivasi agar dapat digunakan untuk mengamobilisasi enzim sehingga menghasilkan kinerja enzim yang maksimal dan dapat menghasilkan keuntungan dalam proses industri yang menggunakan enzim ini.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan beberapa masalah yaitu :

1. Memanfaatkan zeolit alam teraktivasi dari Gunung Kidul untuk mengamobil enzim α -amilase.
2. Mengetahui massa optimum zeolit alam aktivasi yang diperlukan untuk amobilisasi enzim α -amilase.
3. Mempelajari kondisi optimum enzim α -amilase sebelum dan setelah diamobil dengan zeolit alam aktivasi.
4. Melihat efisiensi enzim α -amilase dapat digunakan secara berulang setelah diamobil dengan zeolit alam aktivasi.

1.3. Tujuan Penelitian

1. Memanfaatkan zeolit alam sebagai bahan untuk mengamobilisasi enzim α -amilase.
2. Menentukan massa zeolit alam aktivasi yang dibutuhkan untuk amobilisasi enzim α -amilase.
3. Menentukan kondisi optimum enzim α -amilase sebelum dan setelah amobilisasi.
4. Mengukur berapa efisiensi zeolit alam yang telah diaktivasi dapat mengamobilisasi enzim α -amilase.

4.1. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memanfaatkan keberadaan zeolit yang cukup melimpah di Indonesia. Selain itu hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai suatu landasan teori untuk mengembangkan teknik amobilisasi enzim dengan zeolit alam sebagai matrik alternatif sehingga dapat diaplikasikan untuk skala industri.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Zeolit

Kata “zeolit” berasal dari kata Yunani *zein* yang berarti membuih dan *lithos* yang berarti batu. Zeolit merupakan mineral hasil tambang yang bersifat lunak dan mudah kering. Warna dari zeolit adalah putih keabu-abuan, putih kehijau-hijauan, atau putih kekuning-kuningan. Zeolit terbentuk dari abu vulkanik yang telah mengendap jutaan tahun silam. Sifat-sifat mineral zeolit sangat bervariasi tergantung dari jenis dan kadar mineral zeolit.⁽³⁾

Zeolit adalah mineral dengan struktur kristal aluminasilikat yang berbentuk kerangka tiga dimensi, mempunyai rongga dan saluran serta mengandung ion-ion logam seperti Na, K, Mg, Ca dan Fe serta molekul air. Ion-ion logam ataupun molekul air tersebut dapat digantikan dengan molekul lain tanpa merusak struktur zeolit dan dapat menyerap air secara reversible. Ion-ion logam ataupun molekul tersebut dapat bergerak bebas yang memungkinkan zeolit dapat digunakan sebagai matrik pendukung untuk mengamobilisasi enzim.^(1,3,5)

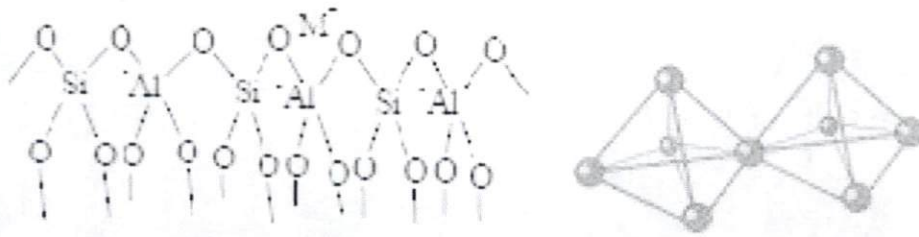
2.1.1. Struktur zeolit

Kerangka dasar struktur zeolit terdiri dari unit-unit tetrahedral $[Al_2O_3]$ dan $[SiO_2]$ yang saling berhubungan melalui atom O, sehingga rumus umum komposisi zeolit dapat dinyatakan sebagai berikut :



Dimana :

- n = Valensi kation M (alkali / alkali tanah)
- x, y = Jumlah tetrahedron per unit sel
- m = Jumlah molekul air per unit sel
- M = Kation alkali / alkali tanah



Gambar 1. Kerangka utama zeolit

2.1.2. Sifat – sifat zeolit

Zeolit merupakan senyawa alumina silika (Si/Al) yang mempunyai pori dan luas permukaan yang relatif besar, sehingga mempunyai sifat adsorpsi yang tinggi. Zeolit memiliki ruang kosong yang besar di dalam struktur yang memungkinkan ruang untuk kation besar seperti natrium, kalium, barium dan kalsium dan bahkan kation/molekul yang relatif besar seperti air, amonia, ion karbonat dan ion nitrat. Ruang-ruang tersebut saling berhubungan dan membentuk saluran lebar yang panjang dengan ukuran yang bervariasi tergantung pada jenis mineral. Saluran ini memungkinkan gerakan yang mudah pada ion dan molekul untuk masuk dan keluar dari struktur zeolit, sehingga zeolit dapat digunakan untuk penyerapan molekul tanpa merusak struktur dari molekul tersebut. ^(1,3)

Sifat zeolit secara umum meliputi :

a. Dehidrasi

Dehidrasi adalah proses yang bertujuan untuk melepaskan molekul-molekul air dari kisi kristal sehingga terbentuk suatu rongga dengan permukaan yang lebih besar dan tidak lagi terlindungi yang berpengaruh terhadap proses adsorpsi. Proses dehidrasi mempunyai fungsi utama melepas molekul air dari kerangka zeolit sehingga mempertinggi keaktifan zeolit. Jumlah molekul air sesuai dengan jumlah pori-pori atau volume yang hampa yang akan terbentuk bila unit sel kristal zeolit tersebut dipanaskan.

b. Penukar ion

Penukar ion di dalam zeolit adalah proses dimana ion asli yang terdapat dalam intra kristalin diganti dengan kation lain dari larutan.

c. Adsorpsi

Pada keadaan normal, ruang hampa dalam kristal zeolit terisi oleh molekul air bebas yang berada di sekitar kation. Bila kristal zeolit dipanaskan air tersebut akan keluar sehingga zeolit dapat berfungsi sebagai penyerap gas atau cairan. Dehidrasi menyebabkan zeolit mempunyai struktur pori yang sangat terbuka, dan mempunyai luas permukaan internal yang luas sehingga mampu mengadsorpsi sejumlah besar substansi selain air.

d. Katalisis

Zeolit merupakan katalisator yang baik karena mempunyai pori-pori yang besar dengan permukaan yang luas dan juga memiliki sisi aktif. Pori-pori ini juga dapat dimanfaatkan untuk menjebak molekul lain seperti enzim untuk bisa meningkatkan fungsi dari molekul itu sendiri.

e. Penyaringan / pemisahan

Zeolit dapat memisahkan molekul gas atau zat dari suatu campuran tertentu karena mempunyai rongga yang cukup besar dengan garis tengah yang bermacam-macam. Volume dan ukuran garis tengah ruang kosong dalam kristal-kristal ini menjadi dasar kemampuan zeolit untuk bertindak sebagai penyaring molekul. Molekul yang berukuran lebih kecil dapat masuk ke dalam pori, sedangkan molekul yang berukuran lebih besar dari pori akan tertahan.

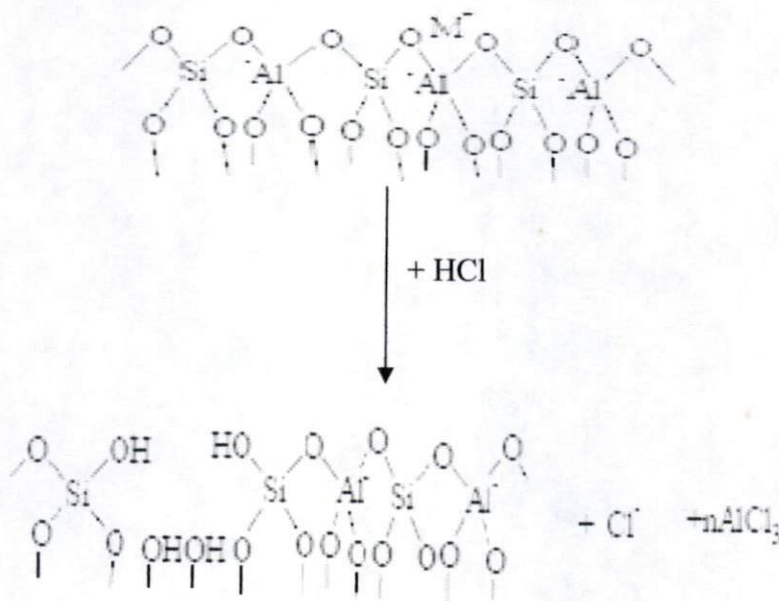
2.2. Aktivasi zeolit

Zeolit alam pada umumnya memiliki ukuran pori yang tidak seragam, aktifitas katalitiknya rendah dan mengandung banyak pengotor. Oleh karena itu perlu diaktivasi terlebih dahulu sebelum dapat digunakan. Kebanyakan zeolit alam memiliki pori-pori dengan diameter 1,5–1,6 nm, ukuran pori ini dapat diperbesar dengan mengaktifkan zeolit, sehingga ukuran porinya bisa mencapai lebih dari 20 nm. Semakin besar pori-pori pada zeolit, maka semakin besar kemampuan zeolit untuk mengadsorpsi molekul besar seperti dalam proses amobilisasi enzim. ^(6.7)

Aktivasi zeolit bisa dilakukan melalui 2 cara yaitu secara fisika dan secara kimia, secara fisika aktivasi zeolit dilakukan dengan proses pemanasan agar molekul air yang terdapat pada pori-pori zeolit dapat menguap sehingga pori-pori zeolit dapat lebih besar. Sedangkan untuk pengaktifan zeolit secara kimia adalah dengan asam ataupun basa dengan tujuan untuk membersihkan permukaan pori dan membuang senyawa pengotor yang terdapat pada zeolit alam. ^(6.7.8)

Menurut M.Sutarti dan Minta Rachmawati (1994) aktivasi zeolit dengan HCl dapat membersihkan pengotor-pengotor sehingga memperbesar permukaan pori-pori zeolit alam dan mengatur kembali posisi atom yang dapat dipertukarkan. Perlakuan asam pada padatan zeolit menyebabkan zeolit lebih bersih dari pengotor sehingga pori-pori zeolit lebih terbuka dan dapat digunakan untuk hal-hal lain yang lebih bermanfaat. ^(2.3)

Sedangkan menurut D. Srihapsari (2006) perlakuan asam mampu menyebabkan dealuminasi pada padatan zeolit. Proses dealuminasi oleh HCl menyebabkan lepasnya atom-atom Al dalam kerangka zeolit sehingga rasio Si/Al meningkat. Dengan meningkatnya rasio Si/Al juga mengakibatkan zeolit mempunyai sifat hidrofobik organofilik yaitu kemampuan suatu material untuk mengadsorpsi senyawa organik. ⁽¹²⁾



Gambar 2. Dealuminasi zeolit dengan asam

2.3. Enzim α -amilase

Enzim adalah biomolekul yang berfungsi sebagai katalis (senyawa yang mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi) dalam suatu reaksi kimia. Sebagian besar enzim bekerja secara spesifik, yang artinya setiap jenis enzim hanya dapat bekerja pada satu macam senyawa atau reaksi kimia. Hal ini disebabkan perbedaan struktur kimia tiap enzim yang bersifat tetap. Sebagai contoh, enzim α -amilase hanya dapat digunakan pada proses perombakan pati menjadi glukosa.⁽²⁾

Enzim merupakan satu atau beberapa gugus polipeptida (protein) yang berfungsi sebagai katalis (senyawa yang mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi) dalam suatu reaksi kimia. Enzim bekerja dengan cara menempel pada permukaan molekul zat-zat yang bereaksi dan kemudian akan mempercepat proses reaksi. Percepatan terjadi karena enzim menurunkan energi pengaktifan yang dengan sendirinya akan mempermudah terjadinya reaksi.⁽⁴⁾

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kerja enzim diantaranya adalah suhu, pH (tingkat keasaman), aktivator dan inhibitor, konsentrasi enzim dan substrat. Enzim tidak dapat bekerja secara optimal apabila suhu lingkungan terlalu rendah atau terlalu tinggi. Jika suhu lingkungan mencapai 0°C atau lebih rendah lagi, enzim tidak aktif. Jika suhu lingkungan mencapai 40°C atau lebih, enzim akan mengalami denaturasi (rusak). Suhu optimal enzim bagi masing-masing organisme berbeda-beda.^(2,4)

Enzim α -amilase merupakan enzim yang terdapat pada jaringan tanaman dan mikroorganisme. α -amilase merupakan enzim yang penting dalam bidang pangan dan bioteknologi. Produksi enzim α -amilase dapat menggunakan berbagai sumber karbon seperti tanaman, binatang dan mikroorganisme. Saat ini sejumlah enzim α -amilase telah diproduksi secara komersial.^(4,5)

Pemecahan molekul pati oleh enzim α -amilase akan menghasilkan polisakarida dengan rantai yang lebih pendek atau menjadi molekul gula yang lebih sederhana seperti maltosa, glukosa dan sebagainya. Enzim α -amilase dapat bekerja pada suhu kompartemen $\pm 37^{\circ}\text{C}$. Pemanasan yang dilakukan

(meningkatkan suhu), mengakibatkan enzim α -amilase menjadi inaktif. Bahkan bila diberi perlakuan termal berlebihan dapat menyebabkan denaturasi enzim. ⁽⁶⁾

2.4. Amobilisasi enzim

Amobilisasi enzim adalah suatu proses dimana pergerakan molekul enzim ditahan pada suatu tempat tertentu dalam ruang reaksi yang dikatalisisnya. Amobilisasi dapat dilakukan dengan mengikat molekul enzim pada suatu bahan pendukung melalui ikatan kimiawi atau menahan secara fisik dalam rongga bahan atau gabungan keduanya. Syarat-syarat material yang dapat menjadi bahan pendukung untuk amobilisasi enzim adalah tidak dapat larut dalam air, memiliki kapasitas yang tinggi untuk mengikat enzim, bersifat inert secara kimia dan stabil secara mekanik. ⁽²⁾

Efisiensi proses amobilisasi dapat ditentukan berdasarkan persentase yang tinggi dari enzim harus tertinggal dalam matriks (zeolit), aktivitas enzim terlindungi, ketahanan enzim secara fisika dari difusi ke dalam substrat. Sifat-sifat enzim amobil dipengaruhi oleh matriks dan metoda yang digunakan untuk amobilisasi. Konsentrasi substrat yang dibutuhkan enzim amobil meningkat daripada enzim dalam keadaan bebas. Perubahan sifat-sifat enzim setelah amobilisasi sulit untuk diamati dengan tepat, karena faktor-faktor yang menyebabkan terjadinya perubahan pada aktifitas enzim tidak diketahui secara pasti.

Teknik amobilisasi dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu :

a. Carrier Binding

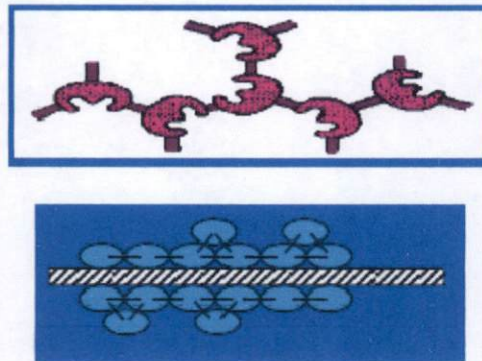
Merupakan teknik amobilisasi enzim dengan menggunakan pembawa (carrier) yang berikatan langsung dengan enzim, biasanya ikatan yang terjadi adalah kovalen dan ionik. Umumnya pembawa yang digunakan adalah bahan yang tidak larut dalam air. Metode ini ada tiga jenis yaitu metode adsorpsi, ikatan kovalen dan ikatan ionik.



Gambar 3. Teknik amobilisasi carrier binding

b. Cross Linking

Merupakan teknik amobilisasi dengan cara pengikatan silang antara matrik pendukung dengan enzim. Pada metode ini terjadi ikatan kimia, tetapi tidak menggunakan carrier yang tidak larut air tetapi pembentukan ikatan melintang inter molekuler antara molekul enzim dengan pereaksi bifungsional atau multifungsional. Pereaksi :glutaraldehid \Rightarrow paling banyak digunakan diazobenzidine (atau turunannya) Etil khloroformat dan N-N-hexamethylene bisiodoasetat, dll



Gambar 4. Teknik amobilisasi Cross Linking

c. Entrappment (penjebakan)

Entrappment adalah lokalisasi enzim dalam kisi matriks atau mikrokapsul (membran semipermeabel). Pada metoda ini enzim tidak terikat secara kimia pada matriks atau membrane.

Amobilisasi enzim pada zeolit yang telah diaktivasi menggunakan teknik penjebakan molekul enzim di dalam pori-pori zeolit yang merupakan cara fisik tanpa ada ikatan kimia yang terjadi. Cara ini dilakukan karena tidak merusak enzim dan struktur alami enzim tidak mengalami gangguan. Selain itu dengan menggunakan teknik ini enzim dapat digunakan berulang dan penghentian proses amobilisasi juga cepat.^(5,6,8)

Perubahan sifat-sifat enzim setelah amobilisasi sulit untuk diamati dengan tepat, karena faktor-faktor yang menyebabkan terjadinya perubahan pada aktifitas enzim tidak diketahui secara pasti. Selain pada enzim itu sendiri, perubahan itu mungkin disebabkan oleh bahan kimia yang digunakan untuk amobilisasi, seperti terbentuknya lapisan di sekitar enzim, efek halangan ruang dan interaksi antara zat pendukung dengan substrat. Berbagai kemungkinan adanya perubahan sifat enzim sebagai akibat proses amobilisasi dapat dimanfaatkan untuk pemakaian enzim amobil itu sendiri, dimana enzim yang telah diamobilisasi lebih stabil sehingga dapat digunakan kembali dan dapat disimpan lebih lama.⁽⁵⁾

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2010 sampai Januari 2011 di Laboratorium Kimia Material dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Andalas.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah magnetic stirrer (Agimatic REV-E), oven, sentrifuge, pH meter (Metro-HOME), incubator (Gallenkamp), spektrofotometer UV/VIS (Spektronik 20 D), neraca listrik (KERN-ew), desikator, kertas saring W-41 dan peralatan gelas.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan dan reagen kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah zeolit alam dari Gunung Kidul, enzim α -amilase dari Balai Besar Litbang Pascapanen, amilum, asam sitrat, natrium sitrat (Wako Pure Chemical Industries), asam molibdat, fosfomolibdat, natrium karbonat, kalium natrium tartarat, natrium bikarbonat, natrium sulfat anhidrat, tembaga sulfat penta hidrat, natrium hidroksida, natrium tungstat, dan asam pospat (MERCK).

3.3 Pembuatan Reagen

3.3.1. Pembuatan Reagen Nelson

Reagen nelson dibuat dengan mencampurkan 25 bagian nelson A dengan 1 bagian nelson B. Untuk membuat nelson A yaitu dengan melarutkan 2,5 gram natrium karbonat, 2,5 gram kalium natrium tartarat, 2 gram natrium bikarbonat, dan 20 gram natrium sulfat dalam 100 mL aquades, sedangkan untuk membuat nelson B,

yaitu dengan cara melarutkan 7,5 gram tembaga sulfat penta hidrat dalam 50 mL aquades dan ditambahkan dengan 1 tetes asam sulfat pekat.

3.3.2. Pembuatan Reagen Fosfomolibdat

Reagen fosfomolibdat dibuat dengan cara melarutkan 1 gram natrium tungstat dan 7 gram asam molibdat dalam 70 mL natrium hidroksida 5%, kemudian dididihkan kurang lebih 20 menit untuk menghilangkan amoniak, dinginkan lalu tambahkan 25 mL asam fospat 85% dan ditambahkan aquades hingga 250 mL.

3.3.3. Pembuatan Buffer Sitrat 0,1 N

Buffer sitrat dibuat dengan melarutkan asam sitrat 21,01 gram dan 29,41 gram natrium sitrat masing-masingnya dalam 1000 ml aquadest. Dari larutan ini dibuat larutan buffer dengan pH bervariasi dan di cek dengan pH meter.

3.3.4. Pembuatan Larutan Maltosa 1000 ppm

Sebanyak 0,1 gram maltosa dilarutkan dalam labu ukur 100 ml kemudian diencerkan sampai tanda batas dan dibuat larutan standar dengan variasi konsentrasi.

3.4.5. Pembuatan Larutan Standar Maltosa

Sebanyak 1 mL larutan standar Maltosa variasi konsentrasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 1 mL reagen nelson. Kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 20 menit. Dinginkan dalam gelas piala yang berisi air dingin sampai suhu kamar. Selanjutnya tambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan dikocok hingga sempurna lalu tambahkan 7 mL aquadest dan diamkan selama 30 menit untuk menyempurnakan reaksi. Lakukan pengukuran absorban pada panjang gelombang maksimum.

3.3.6. Pembuatan Larutan Substrat Amilum

Untuk membuat larutan substrat amilum, disiapkan sebanyak 1 gram amilum kemudian dilarutkan dalam 50 ml aquades, panaskan sampai terbentuk gelatin. setelah dingin tambahkan aquades sampai volume 100 ml.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1. Aktivasi Zeolit Alam

Aktivasi zeolit alam dilakukan dengan cara mencampurkan 30 gram zeolit alam dan 100 mL HCl 3M. Campuran dipanaskan sambil diaduk pada suhu 90°C selama 2 jam, kemudian didinginkan, disaring dan dicuci dengan aquades sampai zeolit tidak berwarna kekuningan lagi. Lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 5 jam, dan disimpan dalam desikator.

3.4.2. Penentuan Massa Optimum Zeolit Aktivasi Untuk Amobilisasi Enzim α -Amilase

Sebanyak 1 mL buffer sitrat pH optimum diaduk dengan variasi massa 0,1 – 1 gram zeolit alam aktivasi dan didiamkan selama 30 menit. Kemudian tambahkan 1 mL enzim α -amilase ke dalam masing-masing zeolit. Campuran diaduk dan didiamkan selama 60 menit. Enzim yang telah diamobil ditambahkan dengan substrat amilum 2% dan diinkubasi selama waktu 35 menit pada suhu 35°C. Selanjutnya enzim yang telah diamobilisasi dipisahkan dari produk dengan melakukan sentrifus selama 5 menit dan filtratnya ditambahkan dengan 1 mL reagen nelson dan panaskan selama 20 menit kemudian dinginkan hingga suhu 26°C. Setelah itu tambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan dikocok hingga sempurna. Lalu tambahkan 7 mL aquadest dan diamkan selama 30 menit. Absorban larutan diukur pada panjang gelombang maksimum. Massa zeolit yang menunjukkan enzim yang telah diamobil dengan aktivitas optimum akan digunakan untuk amobilisasi selanjutnya.

3.4.3. Amobilisasi Enzim α -Amilase

Pada 1 mL enzim α -amilase ditambahkan 0,3 gram zeolit alam aktivasi yang telah disesuaikan pH-nya dengan enzim α -amilase. Campuran diamkan pada suhu kamar selama 1 jam dengan sesekali pengadukan. Kemudian campuran disentrifuse selama 5 menit. Endapan yang diperoleh merupakan enzim amobil (enzim yang telah diamobilisasi).

3.4.4. Penentuan pH Optimum Enzim α -amilase Sebelum dan Setelah Amobilisasi

Enzim α -amilase dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL substrat amilum 2% yang telah dicampurkan dengan 1 mL buffer sitrat variasi pH 5 – 6,4. Kemudian diinkubasi diinkubasi pada suhu 35°C selama 35 menit. Selanjutnya, enzim dicelupkan pada air mendidih selama 5 menit untuk menginaktifkan enzim. Untuk enzim amobil campuran disentrifuse selama 5 menit dan filtratnya ditambahkan dengan 1 mL reagen nelson dan panaskan selama 20 menit, didinginkan hingga suhu 26°C. Kemudian tambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan dikocok hingga sempurna, dan ditambahkan 7 mL aquadest, diamkan selama 30 menit. Absorban masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang maksimum.

3.4.5. Penentuan Suhu Optimum Enzim α -amilase Sebelum dan Setelah Amobilisasi

Enzim α -amilase dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL substrat amilum 2% dengan pH 5,6. Larutan diinkubasi dengan variasi suhu 30°C – 55 °C selama 30 menit. Selanjutnya, enzim di celupkan pada air mendidih selama 5 menit untuk menginaktifkannya. Untuk enzim amobil campuran disentrifuse selama 5 menit dan filtratnya ditambahkan dengan 1 mL reagen nelson dan panaskan selama 20 menit. Kemudian dinginkan hingga suhu 26°C. Kemudian tambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan dikocok hingga sempurna. Lalu tambahkan 7 mL aquadest dan diamkan selama 30 menit. Absorban masing – masing larutan diukur pada panjang gelombang maksimum.

3.4.6. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Enzim α -amilase Sebelum dan Setelah Amobilisasi

Enzim α -amilase dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 1 mL substrat amilum 2% dengan pH 5,6. Larutan diinkubasi pada suhu optimum dengan variasi waktu 30 menit – 55 menit. Selanjutnya enzim di celupkan pada air mendidih selama 5 menit untuk menginaktifkannya. Untuk enzim amobil campuran disentrifus selama 5 menit dan filtratnya ditambahkan dengan 1 mL reagen nelson dan panaskan selama 20 menit. Kemudian dinginkan hingga suhu 26°C. Kemudian tambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan dikocok hingga sempurna. Lalu tambahkan 7 mL aquadest dan diamkan selama 30 menit. Absorban masing– masing larutan diukur pada panjang gelombang maksimum.

3.4.7. Penentuan Aktifitas Enzim α -Amilase Sebelum dan Setelah Amobilisasi Pada Kondisi Optimum

Enzim α -amilase dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 1 mL substrat amilum 2% dengan pH 5,6 kemudian diinkubasi pada suhu maksimum dan waktu maksimum. Selanjutnya enzim di celupkan pada air mendidih selama 5 menit untuk menginaktifkannya. Untuk enzim amobil campuran disentrifus selama 5 menit dan filtratnya ditambahkan dengan 1 mL Reagen Nelson dan panaskan selama 20 menit, dan dinginkan hingga suhu 26°C. Setelah itu tambahkan 1 mL Reagen Fosfomolibdat dan dikocok hingga sempurna. Lalu tambahkan 7 mL aquadest dan diamkan selama 30 menit. Absorban larutan diukur pada panjang gelombang maksimum.

3.4.8. Penentuan Aktivitas Enzim α -Amilase Amobilisasi Setelah Pemakaian Berulang

Enzim yang telah diamobil ditambahkan dengan 1 mL substrat amilum 2% pH 5,6 dan diinkubasi pada suhu inkubasi optimum selama waktu inkubasi optimum. Selanjutnya campuran disentrifus dan filtratnya ditambahkan dengan 1 mL reagen nelson dan panaskan selama 20 menit, dan dinginkan hingga suhu 26°C. Setelah

itu tambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan dikocok hingga sempurna. Lalu tambahkan 7 mL aquadest dan diamkan selama 30 menit. Absorban larutan diukur pada panjang gelombang maksimum. Pada enzim yang telah diamobil penambahan substrat amilum 2 % diulangi sampai beberapa kali untuk mengetahui kemampuan kontinuitas enzim dalam menguraikan substrat.

3.4.9. Karakterisasi Zeolit Alam Sebagai Pengamobil Enzim α -Amilase

Untuk mengamati proses amobilisasi enzim dengan zeolit alam teraktivasi maka dilakukan karakterisasi dengan Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Rays Spectroscopy (SEM-EDX)

IV. HASIL DAN DISKUSI

4.1 Aktivasi zeolit alam

Sampel zeolit alam yang digunakan sebagai material awal dalam penelitian ini adalah zeolit alam yang berasal dari daerah Gunung Kidul, Yogyakarta. Zeolit alam dari daerah ini merupakan batuan zeolit yang berwarna kehijau-hijauan. Analisis mineral zeolit alam meliputi penentuan jenis mineral penyusun zeolit dengan menggunakan difraksi sinar-X dan penentuan oksida-oksida yang terkandung di dalamnya dengan menggunakan AAS-Flame, Spektrofotometer UV-VIS dan Gravimetri. Analisis ini telah dilakukan oleh P.T Trijaya Aneka Usaha. Hasil analisis ini dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2.

Teknik amobilisasi enzim adalah teknik pengikatan / penjebakan enzim pada bahan-bahan yang tidak larut dalam air, dimana bahan-bahan tersebut dapat dipisahkan dari produk dengan mudah sehingga bahan-bahan tak larut yang mengandung enzim tersebut digunakan kembali. Pada penelitian ini bahan yang digunakan sebagai pengamobil adalah zeolit alam. Pada umumnya zeolit alam memiliki ukuran pori yang tidak seragam, aktifitas katalitiknya rendah dan mengandung banyak pengotor. Oleh karena itu perlu diaktivasi terlebih dahulu sebelum dapat digunakan.

Zeolit alam sebagai material awal diaktivasi dengan perlakuan asam. Dalam penelitian ini asam yang digunakan adalah asam klorida karena asam klorida dikenal sebagai asam yang mampu melarutkan senyawa anorganik. Menurut M.Sutarti dan Minta Rachmawati (1994) aktivasi zeolit dengan HCl dapat membersihkan pengotor-pengotor sehingga memperbesar permukaan pori-pori zeolit alam dan mengatur kembali posisi atom yang dapat dipertukarkan. Perlakuan asam pada padatan zeolit menyebabkan zeolit lebih bersih dari pengotor sehingga pori-pori zeolit lebih terbuka dan dapat digunakan untuk hal-hal lain yang lebih bermanfaat.^(2,3)

Konsentrasi asam klorida (HCl) yang digunakan adalah sebesar 3 M. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh D. Srihapsari (2006), aktivasi zeolit dengan HCl konsentrasi 3M lebih optimum untuk mengaktifkan pori-pori

perukaan zeolit jika dibandingkan dengan konsentrasi HCl 1M dan 2M. Perbedaan zeolit yang belum diaktivasi dengan zeolit yang telah diaktivasi dapat dilihat pada Gambar 6.

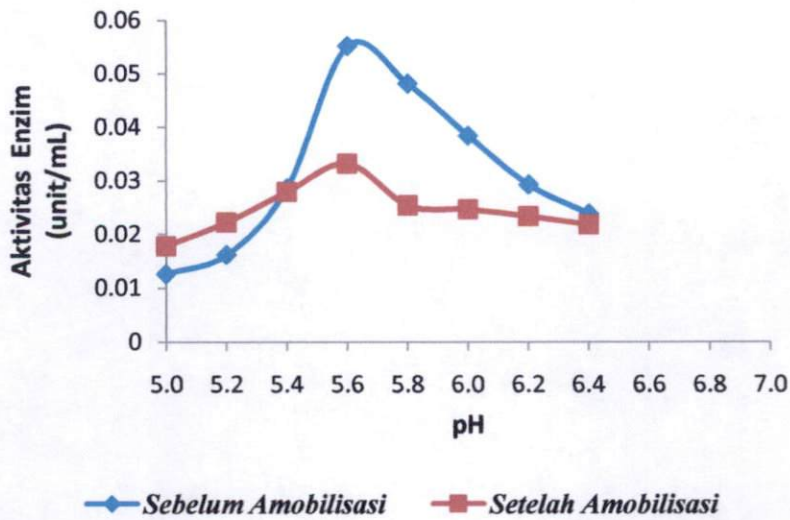


Gambar 6. Zeolit alam sebelum dan sesudah aktivasi dengan HCl 3M

Dari Gambar 6 warna larutan asam yang berwarna kuning menandakan bahwa pengotor-pengotor yang berada dalam zeolit alam telah terekstrak ke dalam asam ketika dipanaskan. Menurut R. Bakri, dkk (2008) proses pengaktifan dengan asam akan melarutkan pengotor-pengotor dan yang terdapat dalam zeolit yang ditandai dengan larutan berwarna kuning kehijauan yang mengandung senyawa dari logam-logam pengotor yang terdapat dalam zeolit. Sedangkan jika proses pengaktifasian hanya dilakukan dengan pemanasan saja maka hanya akan menghasilkan peristiwa dehidroksilasi (pelepasan air) dari zeolit.⁽¹⁸⁾

4.3 Penentuan pH Optimum Sebelum Dan Setelah Amobilisasi Enzim α -Amilase

Tujuan menentukan pH optimum adalah untuk mengetahui kondisi lingkungan enzim α -amilase dalam berinteraksi dengan substrat amilum untuk mendapatkan jumlah produk maltosa yang maksimum. Kondisi pH yang optimum akan mendukung enzim dalam melakukan katalisis suatu reaksi dengan baik. Berdasarkan penelitian K. Vidilaseris (2007) enzim α -amilase memiliki aktifitas optimum pada range pH 5,0 – 8,0.⁽¹⁹⁾



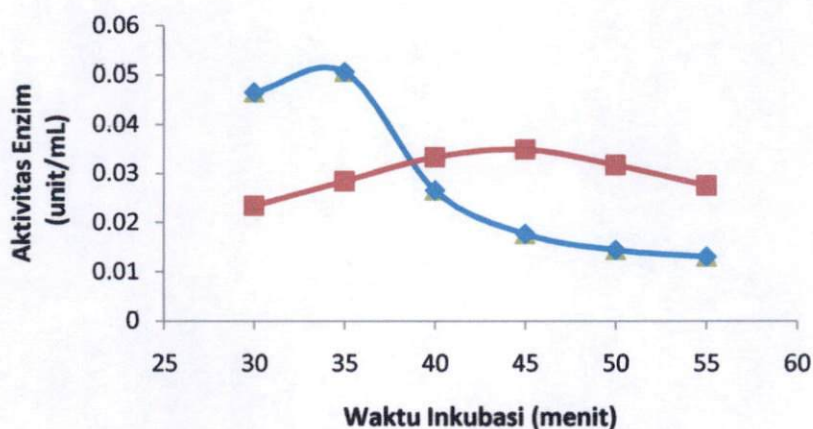
Gambar 7. Variasi pH terhadap enzim α -amilase sebelum amobilisasi (\blacklozenge) dan setelah amobilisasi (\blacksquare)

Pada Gambar 7 dapat dilihat bahwa aktivitas enzim α -amilase baik yang sebelum maupun yang setelah diamobil makin meningkat seiring dengan bertambahnya pH karena enzim α -amilase dibawah pH optimumnya belum beraktifitas dengan sempurna, sehingga aktifitasnya akan terus naik sampai pada titik pH optimumnya yaitu 5,6. Namun setelah melewati batas pH optimum aktifitas enzim α -amilase baik yang sebelum diamobil maupun yang sesudah diamobil akan mengalami penurunan. Menurut A. Budiman dan Sigit Setyawan penurunan aktifitas enzim setelah pH optimum terjadi karena enzim akan mengalami denaturasi akibat ketidakstabilan katalisis yang menyebabkan fungsi dan aktifitas dari enzim tersebut berkurang.⁽⁹⁾

Gambar 7 juga menunjukkan pH optimum enzim α -amilase sebelum diamobil dan yang telah diamobilisasi tidak mengalami perubahan. Karena proses amobilisasi enzim pada zeolit alam yang telah diaktivasi tidak mempengaruhi perubahan pH awal dari enzim tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa kestabilan pH enzim α -amilase tetap terjaga setelah diamobilisasi pada zeolit alam yang telah diaktivasi.

4.1. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Penentuan waktu inkubasi optimum enzim α -amilase sebelum diamobilisasi dengan enzim α -amilase yang telah diamobilisasi dapat dilihat pada Gambar 8.



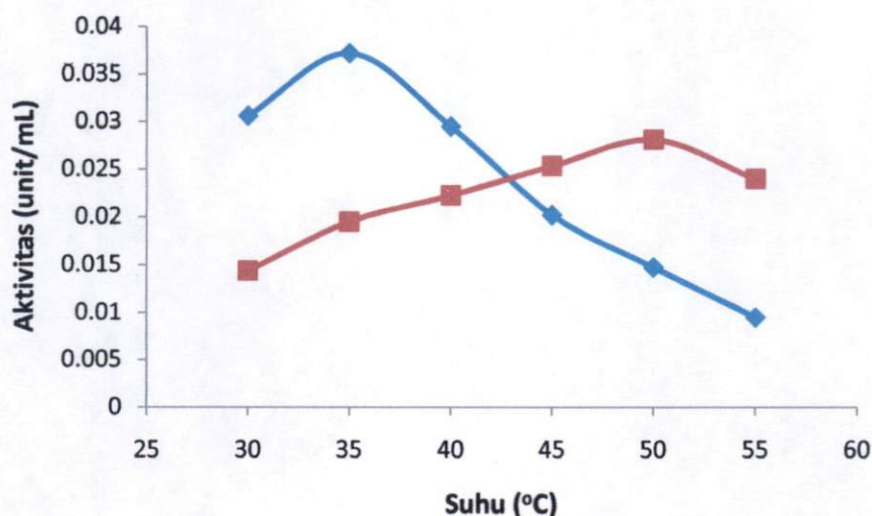
Gambar 8. Variasi waktu inkubasi terhadap aktifitas enzim α -amilase sebelum amobilisasi (◆) dan setelah amobilisasi (■)

Waktu inkubasi merupakan waktu yang diperlukan enzim α -amilase untuk berinteraksi dengan substrat amilum sehingga menghasilkan produk maltosa, dimana pada waktu inkubasi optimumnya substrat amilum menghasilkan produk maltosa dalam jumlah maksimum. Berdasarkan hasil penelitian, aktivitas enzim α -amilase sebelum dan sesudah diamobilisasi makin meningkat seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi sampai pada waktu inkubasi optimumnya, yaitu 35 menit pada enzim α -amilase yang belum diamobilisasi dan 45 menit pada enzim α -amilase yang telah diamobilisasi. Karena enzim α -amilase dibawah waktu inkubasi optimumnya belum beraktifitas dengan sempurna, sehingga aktifitasnya akan terus naik sampai pada waktu inkubasi optimumnya. Namun setelah melewati dari waktu optimum tersebut aktivitas enzim α -amilase baik yang belum diamobilisasi maupun yang telah diamobilisasi sama-sama mengalami penurunan. Menurut A. Laila dan John Hendri (2008) turunnya aktivitas enzim setelah waktu inkubasi optimum disebabkan oleh perubahan kondisi reaksi yaitu perubahan pH yang disebabkan bertambahnya produk pada akhir reaksi.⁽⁶⁾

Waktu inkubasi optimum enzim α -amilase yang belum diamobilisasi adalah 35 menit sedangkan pada enzim α -amilase yang telah diamobilisasi adalah 45 menit. Perbedaan waktu optimum ini disebabkan karena interaksi enzim α -amilase yang belum diamobil dapat langsung terjadi dengan substrat amilum. Sedangkan pada enzim α -amilase yang telah diamobilisasi interaksi substrat amilum dengan enzim α -amilase mempunyai halangan ruang pada zeolit sehingga membutuhkan waktu lebih lama untuk melakukan katalisis.

4.2. Penentuan Suhu Optimum

Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim α -amilase sebelum dan sesudah amobilisasi dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



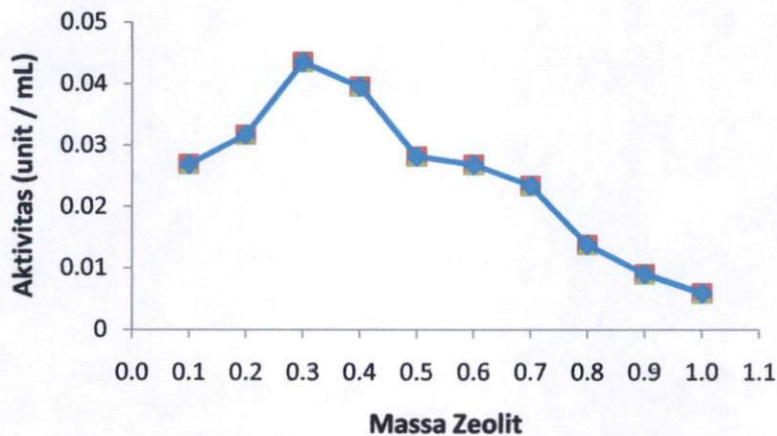
Gambar 9. Variasi suhu terhadap aktifitas enzim α -amilase sebelum amobilisasi (◆) dan setelah amobilisasi (■)

Pada Gambar 9 dapat dilihat bahwa aktivitas enzim α -amilase baik yang sebelum maupun yang setelah diamobil makin meningkat seiring dengan bertambahnya suhu karena aktifitas enzim α -amilase dibawah suhu optimumnya belum beraktifitas dengan sempurna, sehingga aktifitasnya akan terus naik sampai pada titik suhu optimumnya yaitu 35°C untuk enzim α -amilase bebas dan 50°C untuk enzim α -amilase amobil. Namun setelah melewati batas suhu optimum

aktifitas enzim α -amilase baik yang sebelum diamobil maupun yang sesudah diamobil akan mengalami penurunan karena enzim mengalami denaturasi akibat ketidakstabilan katalisis yang menyebabkan fungsi dan aktifitas dari enzim tersebut berkurang.⁽⁹⁾

Terdapat perbedaan suhu optimum antara enzim α -amilase sebelum amobilisasi dengan enzim α -amilase setelah diamobilisasi, dimana aktivitas optimum enzim α -amilase bebas terjadi pada suhu 35°C sedangkan pada enzim α -amilase yang telah diamobilisasi mengalami aktifitas optimum pada suhu 50°C. Menurut R. Trifani (2002) enzim yang terjebak dalam zeolit akan lebih terlindungi dari suhu yang tinggi sehingga kecendrungan mengalami denaturasi dan kerusakan pada enzim dan substrat dapat dikurangi. Dan inilah yang menyebabkan enzim α -amilase amobil lebih stabil terhadap panas daripada α -amilase yang belum diamobil.⁽⁵⁾

4.3. Penentuan Massa Zeolit Aktivasi Optimum



Gambar 10. Variasi massa zeolit aktivasi terhadap aktivitas enzim α -amilase

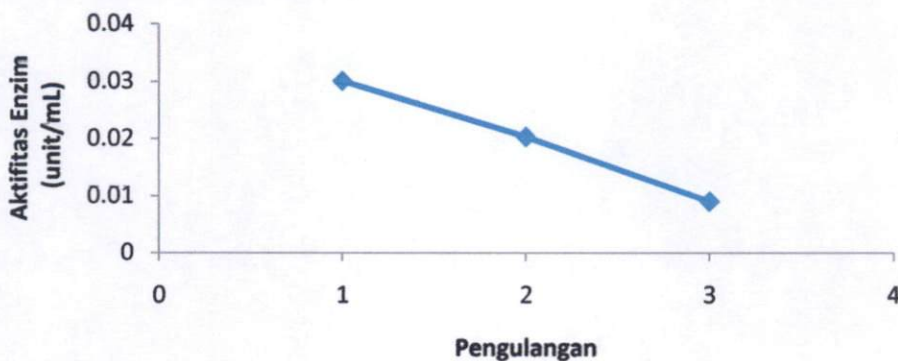
Amobilisasi enzim α -amilase ini adalah metoda secara fisika pada permukaan bahan yang tidak larut dalam air. Metoda ini juga merupakan metoda yang sederhana dan hemat biaya dari metoda lainnya. Bahan yang tidak larut dalam air ini juga dapat meminimalisir bercampurnya reaksi dan dapat digunakan sebagai bahan pendukung untuk adsorpsi fisik yang tahan lama serta dapat digunakan

kembali. Cara ini dilakukan karena tidak merusak enzim karena struktur alami enzim tidak mengalami gangguan. Selain itu dengan menggunakan teknik ini enzim dapat digunakan secara berulang dan penghentian proses amobilisasi juga cepat⁸

Gambar 10 memperlihatkan massa zeolit yang tepat untuk digunakan dalam amobilisasi enzim α -amilase adalah 0,3 gram, dimana interaksi fisik yang terjadi diantara enzim dan zeolit paling kuat. Semakin banyak massa zeolit yang digunakan maka interaksi fisik zeolit alam terhadap enzim makin kurang. Hal ini ditunjukkan oleh makin menurunnya aktivitas yang diberikan oleh enzim. Penurunan aktifitas pada saat amobilisasi, diakibatkan karena zeolit yang terlampau banyak mengakibatkan sulitnya interaksi hidropobik enzim untuk bercampur dengan zeolit yang disebabkan karena interaksi yang terjadi antara enzim dengan zeolit ini tidak kuat karena hanya mempunyai interaksi yang lemah yaitu interaksi Van der Waal dan interaksi hidropobik.

4.4. Pengulangan Pemakaian Enzim α -Amilase Setelah Amobilisasi

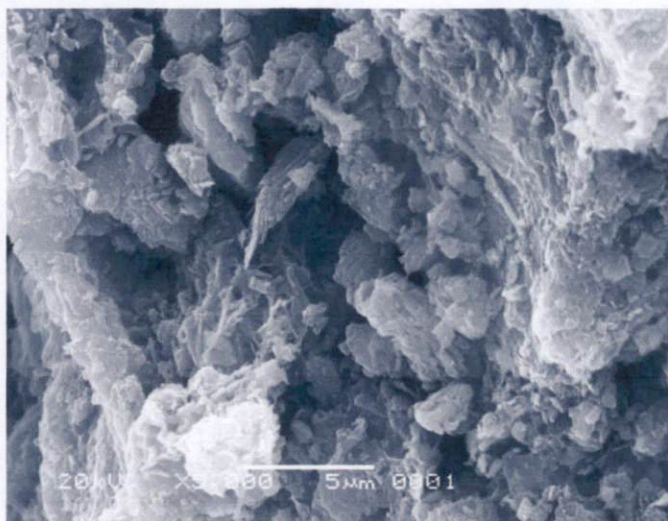
Seperti yang telah dikatakan sebelumnya bahwa keunggulan dari amobilisasi enzim adalah dapat digunakan berulang kali, tetapi tentu saja dengan aktifitas yang makin menurun. Hasil pemakaian enzim α -amilase yang telah diamobilisasi secara berulang kali dapat dilihat pada Gambar 11.



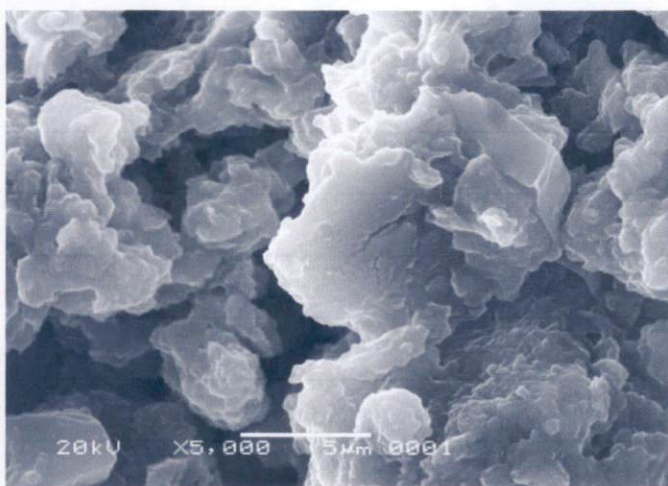
Gambar 11. Aktivitas enzim α -amilase amobilisasi setelah pemakaian berulang

Dari Gambar 11 dapat dilihat bahwa aktifitas enzim α -amilase yang telah diamobilisasi dapat digunakan sampai 3 kali pemakaian. Penurunan aktifitas ini disebabkan oleh faktor tidak kuatnya ikatan antara enzim dengan bahan pendukung sehingga terjadi pelepasan enzim yang berada dalam zeolit selama pemakaian.

4.5. Karakterisasi dengan SEM-EDX



a.

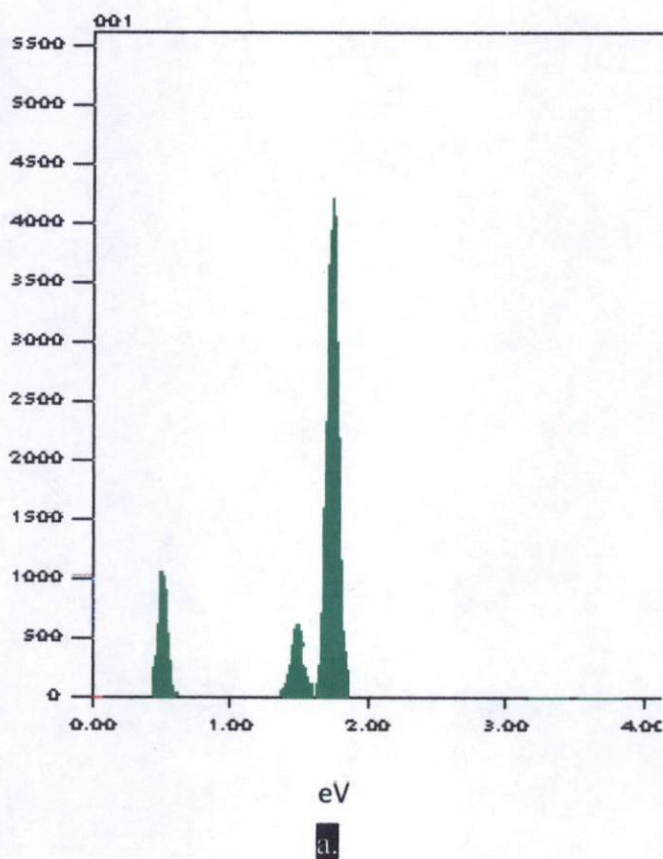


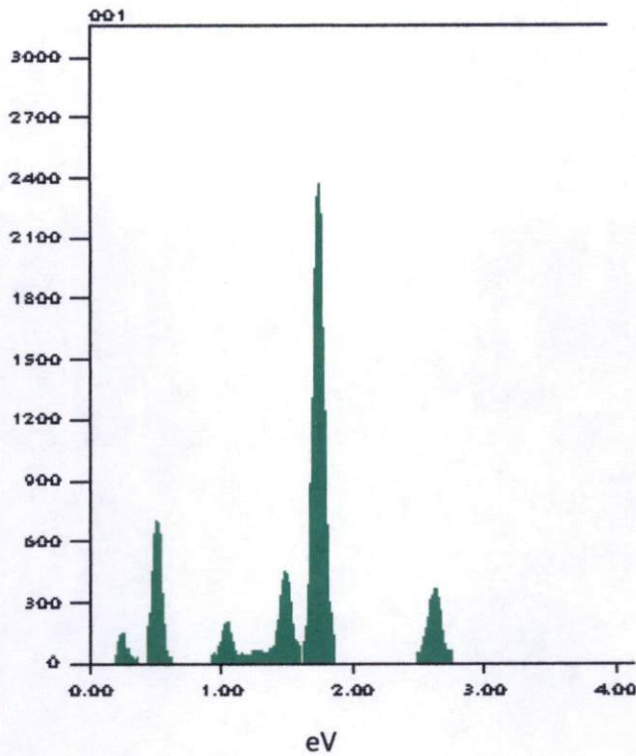
b.

Gambar. 12. Pola SEM dengan pembesaran 5000 kali dari a. Zeolit alam yang telah diaktivasi ; b. Zeolit enzim

Dari pola SEM pada Gambar 12 dapat dilihat bahwa terjadi perbedaan morfologi permukaan antara zeolit aktivasi dengan zeolit aktivasi yang menjebak enzim. Gambar 12 a. menunjukkan permukaan zeolit aktivasi yang lebih kasar dan tidak beraturan, dibandingkan dengan zeolit alam yang mengandung enzim. Pada Gambar 12.b terlihat enzim α -amilase telah menyelimuti permukaan dari zeolit tersebut sehingga dapat disimpulkan bahwa enzim α -amilase telah teramobil dalam zeolit alam teraktivasi.

Hasil EDX dapat dari zeolit alam aktivasi dan zeolit teramobil enzim amilase pada Gambar 13.





b

Gambar 13. Pola EDX dari a. Zeolit alam yang telah diaktivasi ; b. Zeolit enzim.

Pada zeolit alam aktivasi yang tidak mengandung enzim hanya terdapat senyawa-senyawa pembentuk batuan zeolit ini saja seperti SiO_2 , Al_2O_3 dan oksida-oksida lainnya seperti K_2O dan CaO . Sedangkan pada zeolit alam yang mengandung enzim dapat kita lihat bahwa adanya penambahan atom C dan gugus fungsi lain dari asam-asam amino enzim α -amilase telah mengisi sebahagian dari volume zeolit selain dari senyawa-senyawa pembentuk batuan zeolit tersebut. Kemunculan Na, Mg dan Cl dalam zeolit enzim kemungkinan merupakan kofaktor dari enzim itu tersebut. Hal ini membuktikan bahwa enzim α -amilase telah berada di permukaan zeolit alam yang telah diaktivasi.

Tabel 1. Kandungan komponen dalam zeolit alam dan zeolit enzim berdasarkan hasil SEM-EDX.

No	Komponen	Zeolit Teraktivasi	Zeolit Enzim
		Mass %	Mass %
1.	Al	6,30	5,62
2.	Si	35,77	25,45
3.	O	49,14	37,46
4.	C	-	14,07
5.	Na	-	3,25
6.	Mg	-	0,47
6.	Cl	-	6,70

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan beberapa hal, yaitu :

- 1 Zeolit alam teraktivasi dari Gunung Kidul dapat digunakan sebagai bahan pendukung untuk amobilisasi enzim α -amilase, berdasarkan hasil analisis SEM-EDX.
- 2 Masa zeolit alam teraktivasi yang dibutuhkan untuk mendapatkan aktivitas optimum dari enzim α -amilase amobil adalah 0,3 gram.
- 3 Terdapat perbedaan kondisi optimal antara enzim α -amilase bebas dengan enzim α -amilase amobil, kondisi masing-masingnya adalah suhu 35°C, pH 5,6, waktu inkubasi 35 menit dengan aktivitas unit sebesar 0,04845 unit/mL. Sedangkan untuk enzim α -amilase amobil adalah suhu 50°C, pH 5,6 dan waktu inkubasi 45 menit dengan aktivitas unit sebesar 0.030036 unit/mL.
- 4 Enzim α -amilase yang telah diamobilisasi dapat digunakan sebanyak dengan 3 kali pengulangan dengan penurunan aktivitas sebesar 32-70%.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya dalam pengaktifasian zeolit alam perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan lebar pori-pori zeolit agar dapat digunakan untuk amobilisasi enzim agar lebih maksimal. Sebaiknya dilakukan pengukuran lain seperti FT-IR untuk mengetahui apakah zeolit sudah teraktivasi dengan sempurna atau belum.

DAFTAR PUSTAKA

1. Setiadi dan Astri Pertiwi, 2007. *Preparasi Dan Karakterisasi Zeolit Alam Untuk Konversi Senyawa ABE Menjadi Hidrokarbon*. Universitas Indonesia. Jakarta,
2. Amalia. 2002. *Amobilisasi Enzim Papain Dari Getah Papaya Pada Zeolit Alam Yang Telah Diaktivasi*. Universitas Andalas. Padang,
3. M. Sutarti dan Minta Rachmawati. 1994. *Zeolit : Tinjauan literature*. Jakarta,
4. A. Trisanti, dkk. 2009. *Produksi dan Tekno Ekonomi Amilase Untuk Menunjang Industri Dalam Negeri*. Dikti 2009,
5. R. Trifani. 2002. *Amobilisasi Enzim Amilase Dari Ubi Jalar Pada Matrik Perlit Yang Telah Diaktivasi*. Universitas Andalas. Padang,
6. A. Laila dan John Hendri. 2008. *Studi Pemanfaatan Polimer Kitin Sebagai Media Pensukung Amobilisasi Enzim Amilase*. Universitas Lampung. Lampung,
7. R. Noorma. dkk. 2004. *Pengaruh Perbedaan Metode Aktivasi Terhadap Efektifitas Zeolit Sebagai Adsorben*. Majalah farmasi Airlangga Vol 4 no 1 hal 20.
8. H. Liesbetini. 2008. *Immobilisasi Enzim*. M.K Enzim. IPB,
9. A. Budiman dan Sigit Setyawan. *Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi Dan pH Dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase Dengan Menggunakan Media Jerami Padi*. Universitas Diponegoro. Semarang,
10. Charlena, dkk. 2008. *Pencirian dan uji aktivitas Katalitik zeolit alam teraktivasi*. *Jurnal riset kimia* Vol 1 No 2. Padang. hal 107 – 115,
11. G. Mutngimaturrohman dan Khabibi. *Aplikasi Zeolit Alam Terdealuminasi dan Termodifikasi HDTMA sebagai Adsorben Fenol*. Universitas Diponegoro. Semarang,

12. D. Srihapsari. 2006 *Penggunaan Zeolit Alam Yang Telah Diaktivasi Dengan Larutan Hcl Untuk Menjerap Logam-Logam Penyebab Kesadahan Air*. Universitas Negeri Semarang. Semarang,
13. A. Fatha. 2007. *Pemanfaatan Zeolit Aktif Untuk Menurunkan Bod Dan Cod Limbah Tahu*. . Universitas Negeri Semarang. Semarang,
14. S. Sho, S. Takata dan Haruo, Taguchi dan Noboru Yoshimura. 2001. *Development Of Novel Carrier Using Natural Zeolite And Continous Ethanol Fermentation With Immobilized Saccharomyces Cerevisiae In A Bioreactor*. Biotechnology Letters 23. Jepang,
15. O. Banu. 2001. *Immobilization of Lipase from Candida rugosa on Hydrophobic and Hydrophilic Supports*. Ýzmir Institute of Technology. Turki.
16. A. Setiawan dan Tejo Wibisono. 2006. *Produksi Enzym α -Amylase Dari Bacillus Subtilis*. ITS. Surabaya
17. C. Rocha, M.P. Gonçalves dan J.A.Teixeira. 2003. *Trypsin Immobilisation On Zeolites*. Portugal
18. R. Bakri, Tresye Utari, dan Indra Puspita Sari. 2008. *Kaolin Sebagai Sumber Sio₂ Untuk Pembuatan Katalis Ni/Sio₂ Karakterisasi Dan Uji Katalis Pada Hidrogenasi Benzena Menjadi Sikloheksana*. UI. Jakarta.
19. K. Vidilaseris. 2007. *karakterisasi alpha-amilase pendegradasi pati mentah bakteri laut bacillus subtilis alsh13*. ITB. Bandung

Lampiran 1

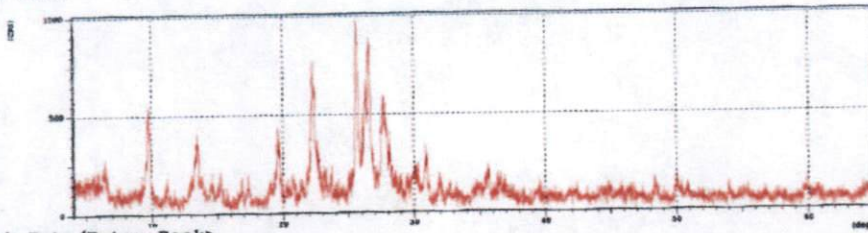
Hasil Analisis XRD Dari Zeolit Alam

***** SEARCH / MATCH RESULT *****

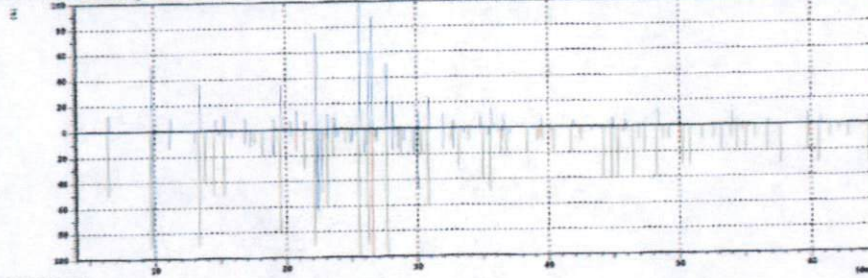
<Unknown Data>

Group Name : RUTIN
Data Name : 241109A
File Name : 241109A.PKR
Sample Name : 5911/09
Comment : Zeolite
Date & Time : 11-24-09 09:01:23

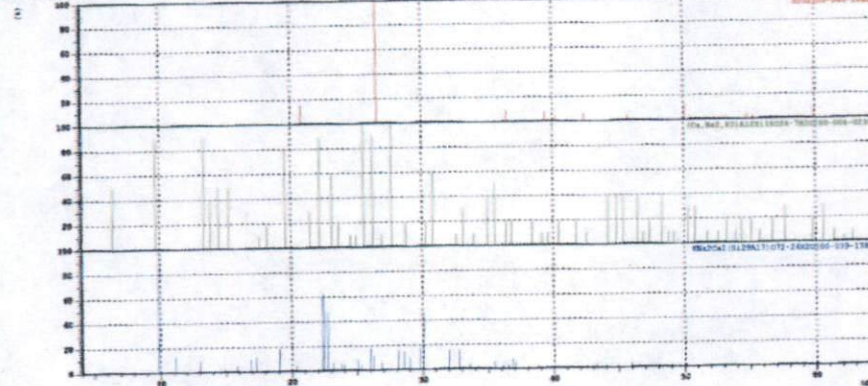
<Raw Data>



<Peak Data/Entry Peak>



<Card Data>



Lampiran 2

Hasil Analisis Zeolit Alam dengan AAS-Flame, Spektro UV-VIS dan Grafimetri



UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU

DP5.10.01/LPPT
Halaman 1 dari 1

LAPORAN HASIL UJI

Nomor : 3335/LPPT-UGM/U/X/2009

Laporan hasil pengujian dibuat untuk :
Nama : PT. Trijaya Aneka Usaha
Alamat : Jl. Raya Nglipar – Sambipitu Km. 2, Kedungkeris,
Nglipar, Gunung Kidul, Yogyakarta
Nomor sampel : 162-02-001-4587
Nama sampel : Zeolit
Jumlah sampel : 1
Parameter uji : MnO₂, Fe₂O₃, CaO, MgO, Cr₂O₃, K₂O, Na₂O, SiO₂, TiO₂, air
Metode : AAS-Flame, Spektrofotometer UV-vis, Gravimetri
Tanggal terima sampel : 15 September 2009
Tanggal pengujian : 17 September 2009

HASIL UJI

No	Parameter uji	Hasil	Satuan	Metode
1	MnO ₂	0,04	%	AAS-Flame
2	Fe ₂ O ₃	1,16	%	AAS-Flame
3	CaO	0,59	%	AAS-Flame
4	MgO	0,52	%	AAS-Flame
5	K ₂ O	0,44	%	AAS-Flame
6	Na ₂ O	0,04	%	AAS-Flame
7	Cr ₂ O ₃	< 0,02	ppm	AAS-Flame
8	SiO ₂	3091,45	ppm	Spektro UV-vis
9	TiO ₂	717,91	ppm	Spektro UV-vis
10	Air	5,86	ppm	Gravimetri

Batas deteksi Cr₂O₃ = 0,02 ppm



Prof. Sismindari, Apt., SU, Ph.D.

Yogyakarta, 12 Oktober 2009
Manajer Teknik,

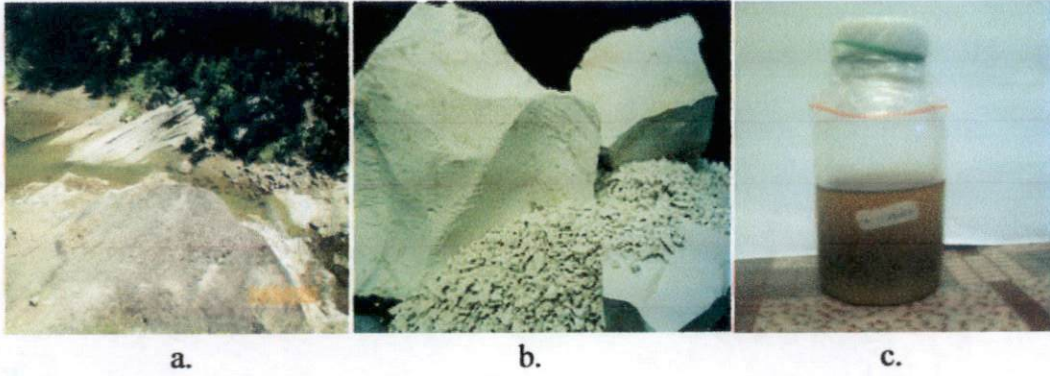
Dr. Tri Joko Raharjo, M.Si.

Hasil pengujian ini berlaku hanya untuk sampel yang diujikan
Tidak diperkenankan untuk menggandakan dokumen ini tanpa seijin LPPT-UGM

Sekip Utara, Jl. Kalurang Km. 4 Yogyakarta 55281 - Telp. (0274) 548348, 546868 - Fax (0274) 548348
E-mail : lppl_info@mail.ugm.ac.id - Website : www.lppl.ugm.ac.id

Lampiran 3

Bahan baku yang digunakan



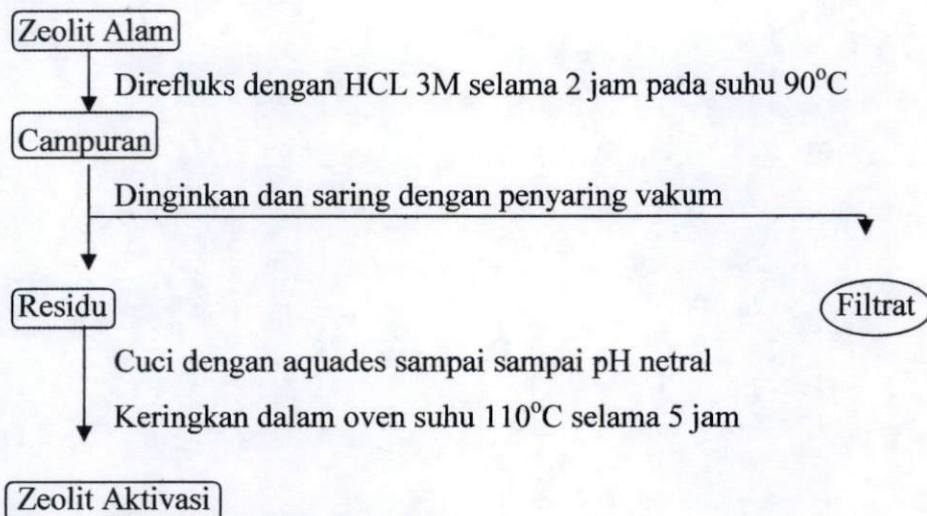
Gambar 15. Bahan dasar yang digunakan

Keterangan : a. Zeolit di alam
b. Bongkahan Zeolit
c. Enzim α -amilase

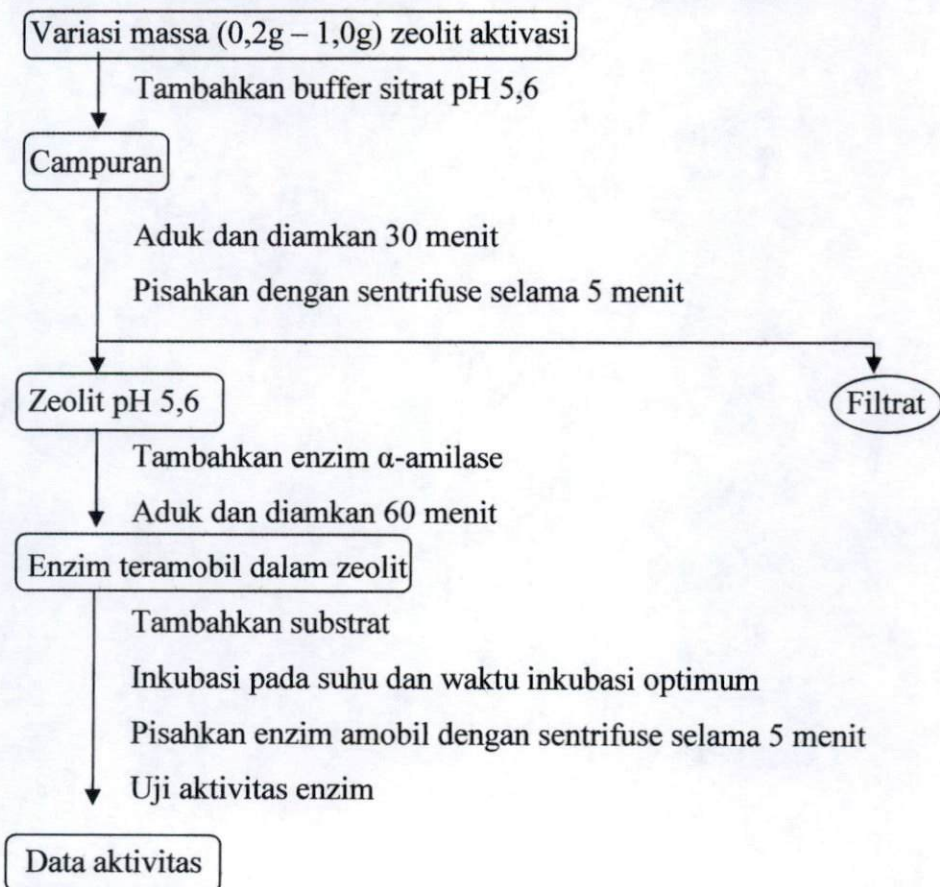
Lampiran 3

Skema kerja

1. Aktivasi Zeolit Alam

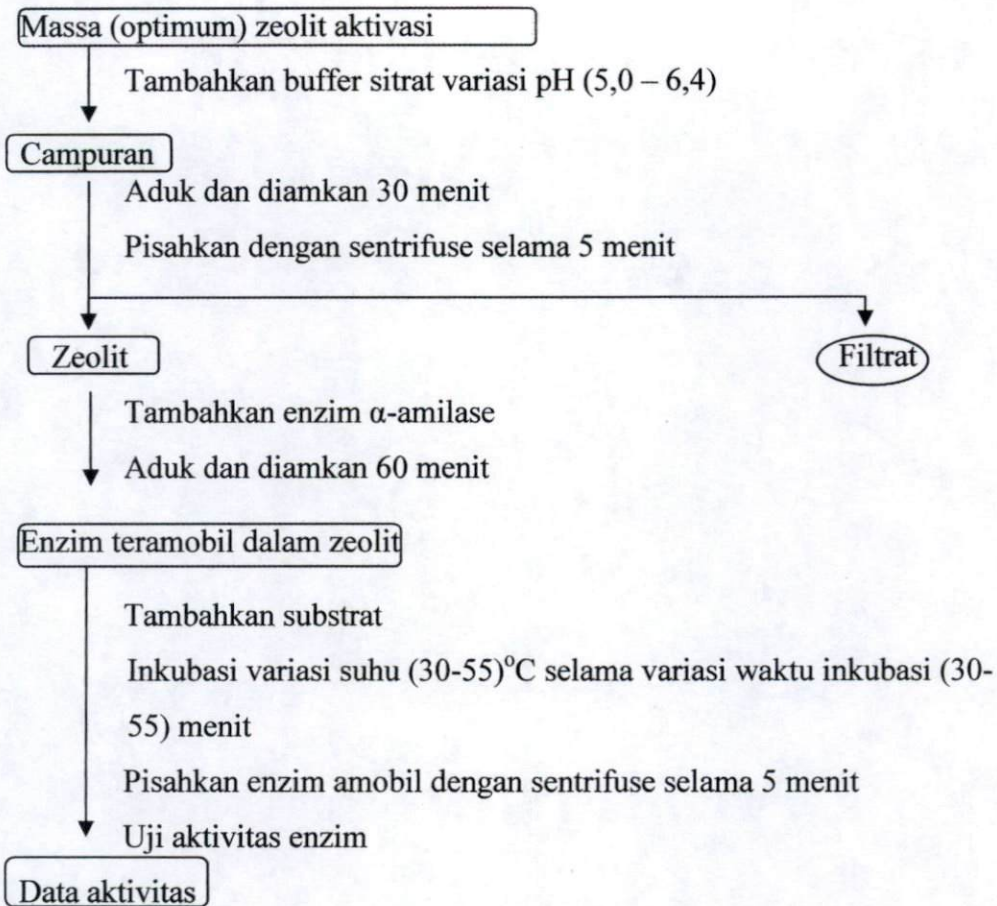


2. Penentuan Massa Zeolit Untuk Amobilisasi Enzim α -Amilase



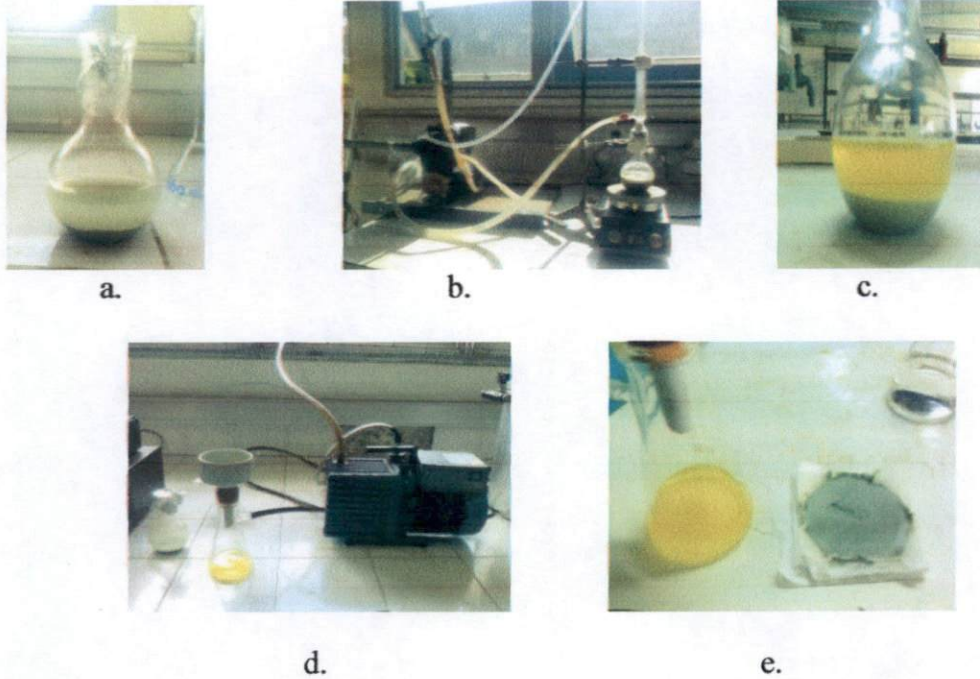
3. Penentuan Kondisi Optimum Untuk Enzim α -Amilase Setelah

Amobilisasi



Lampiran 4

Proses aktivasi zeolit alam dengan HCl 3M



Gambar 16. Proses aktivasi zeolit.

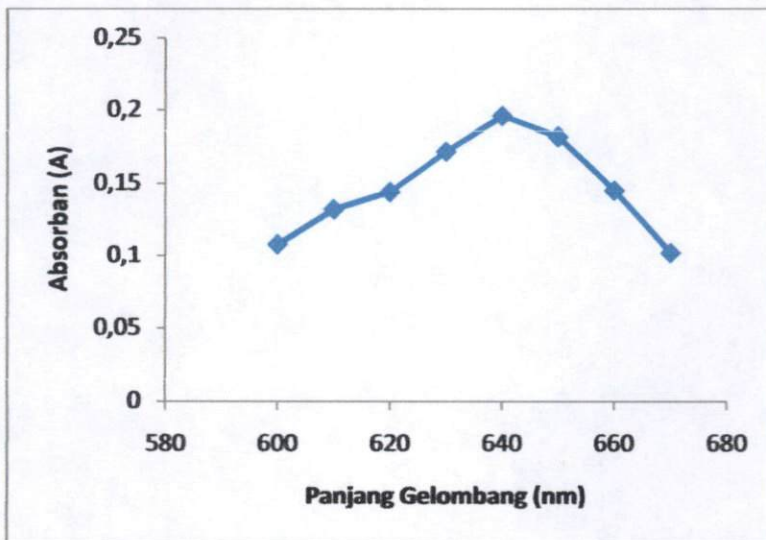
- Keterangan :
- a. Campuran Zeolit dan HCl 3M
 - b. Zeolit di refluks dengan HCl 3M selama 2 jam
 - c. Hasil zeolit yang telah diaktivasi
 - d. Penyaringan campuran zeolit alam dengan HCl 3M
 - e. Zeolit aktivasi dan sisa asam.

Lampiran 5

Data Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum untuk Pengukuran Konsentrasi Maltosa secara Spektrofotometri

Tabel 2. Panjang gelombang maksimum larutan standar maltosa

Panjang gelombang (nm)	Absorban (A)
600	0.108
610	0.132
620	0.144
630	0.172
640	0.196
650	0.182
660	0.145
670	0.102



Gambar 6.2 Kurva panjang gelombang maksimum larutan standar maltosa

Lampiran 6

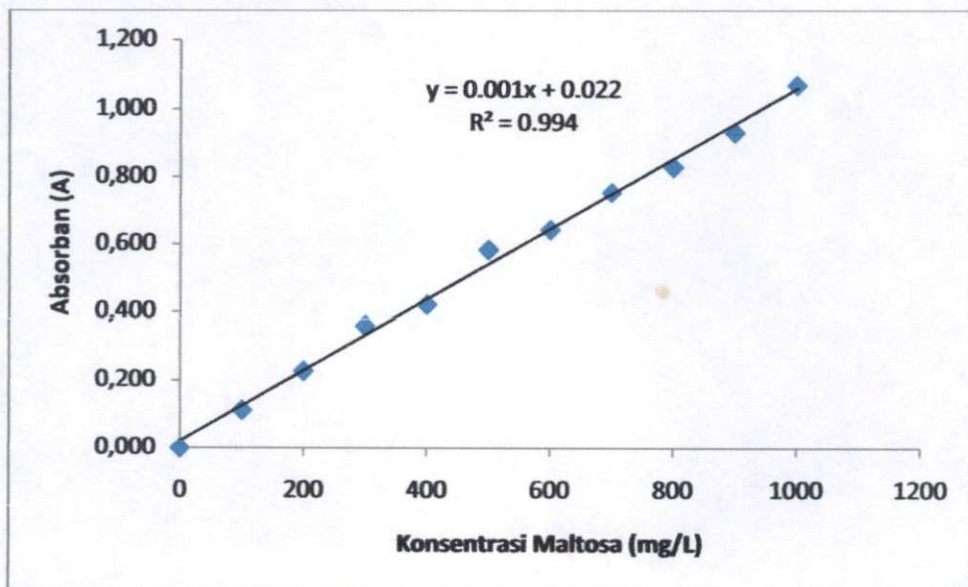
Data Pembuatan Persamaan Regresi Standar Maltosa

Tabel 3. Nilai absorban larutan standar maltosa variasi konsentrasi

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorban (A)
0.0	0.000
100	0.112
200	0.228
300	0.360
400	0.421
500	0.583
600	0.642
700	0.753
800	0.828
900	0.930
1000	1.070

Persamaan regresi yang diperoleh: $y = 0,001 X + 0,022$

Kurva persamaan regresi tersebut dapat digambarkan:



Gambar 6.3 Kurva persamaan regresi larutan standar maltosa

Lampiran 7

Data penentuan pH optimum enzim α -amilase sebelum dan setelah amobilisasi

Tabel 4. Aktivitas enzim α -amilase sebelum amobilisasi pada variasi pH

pH	Aktivitas Unit ($\mu\text{mol/mL.menit}$)
5.0	0.01261
5.2	0.01618
5.4	0.02863
5.6	0.05519
5.8	0.04813
6.0	0.03838
6.2	0.02926
6.4	0.02387

Tabel 5. Aktivitas enzim α -amilase setelah amobilisasi pada variasi pH

pH	Aktivitas Unit ($\mu\text{mol/mL.menit}$)
5.0	0.01782
5.2	0.02226
5.4	0.02794
5.6	0.03318
5.8	0.02541
6.0	0.02467
6.2	0.02337
6.4	0.02183

Lampiran 8

Data penentuan waktu inkubasi optimum enzim α -amilase sebelum dan setelah amobilisasi

Tabel 6. Aktivitas enzim α -amilase sebelum amobilisasi pada variasi waktu inkubasi

Waktu Inkubasi	Aktivitas Unit ($\mu\text{mol/mL.menit}$)
30	0.04647
35	0.05059
40	0.02656
45	0.01768
50	0.01443
55	0.01308

Tabel 7. Aktivitas enzim α -amilase setelah amobilisasi pada variasi waktu inkubasi

Waktu Inkubasi	Aktivitas Unit ($\mu\text{mol/mL.menit}$)
30	0.02344
35	0.02843
40	0.03331
45	0.03485
50	0.03170
55	0.02751

Lampiran 9

Data penentuan suhu optimum enzim α -amilase sebelum dan setelah amobilisasi

Tabel 8. Aktivitas enzim α -amilase sebelum amobilisasi pada variasi suhu

Suhu	Aktivitas Unit ($\mu\text{mol/mL.menit}$)
30	0.03061
35	0.03719
40	0.02950
45	0.02022
50	0.01475
55	0.00952

Tabel 9. Aktivitas enzim α -amilase setelah amobilisasi pada variasi suhu

Suhu	Aktivitas Unit ($\mu\text{mol/mL.menit}$)
30	0.01437
35	0.01949
40	0.022265
45	0.025349
50	0.028124
55	0.023992

Lampiran 10

Massa zeolit yang cocok untuk amobilisasi dengan enzim α -amilase

Tabel 10. Aktivitas enzim α -amilase setelah amobilisasi pada variasi massa zeolit aktivasi

Massa Zeolit (gram)	Aktivitas Unit ($\mu\text{mol/mL.menit}$)
0.0	0.04845
0.1	0.02688
0.2	0.03172
0.3	0.04353
0.4	0.03957
0.5	0.02815
0.6	0.02680
0.7	0.02339
0.8	0.01380
0.9	0.00904
1.0	0.00595

Lampiran 11

Pengulangan pemakaian enzim α -amilase setelah amobilisasi

Tabel 11. Aktivitas enzim α -amilase setelah amobilisasi pada pemakaian berulang

Pengulangan	Aktivitas Unit ($\mu\text{mol/mL.menit}$)
1	0.030036
2	0.020353
3	0.009005

Lampiran 12

Contoh perhitungan aktivitas enzim.

Pada enzim amobil pH 5.6 besar nilai absorban yang didapatkan adalah 0,894.

Penentuan Kadar Maltosa :

$$y = 0,022 + 0,001 x$$

y = absorban

x = kadar maltosa

$$0,894 = 0,022 + 0,001 x$$

$$x = (0,894 - 0,022)/0,001$$

$$= 872 \mu\text{g/mL}$$

Penentuan Aktivitas Enzim

$$AE = \frac{X_t - X_o}{BM_{\text{maltosa}} \times MI}$$

Dimana :

AE	= Aktivitas Enzim	($\mu\text{mol/mL.menit}$)
X _t	= Konsentrasi maltosa	($\mu\text{g/mL}$)
X _o	= Konsentrasi maltosa (kontrol)	($\mu\text{g/mL}$)
BM _{maltosa}	= Berat Molekul Maltosa	($\mu\text{g}/\mu\text{mol}$)
MI	= Masa Inkubasi	(menit)

$$AE = \frac{(872 - 334) \mu\text{g/mL}}{360,31 \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{mol}} \times 45 \text{menit}}$$
$$= 0,03318 \mu\text{mol/mL.menit}$$