



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.

METODA AKTIVASI ZEOLIT ALAM DAN APLIKASINYA SEBAGAI MEDIA AMOBILISASI ENZIM α -AMILASE

SKRIPSI



WENI ASTUTI
07132011

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2012

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dan demikianlah Kami wahyukan kepadamu wahyu (Al-qur'an) dengan perintah Kami. Sebelumnya kamu tidaklah mengetahui apakah al-Kitab (Al-Qur'an) dan tidak pula mengetahui apakah iman itu, tetapi Kami menjadikan Al-Qur'an itu cahaya, yang Kami tunjuki dengan dia siapa yang Kami kehendaki di antara hamba-hamba Kami. Dan kamu benar-benar memberi petunjuk kepada jalan yang lurus. (Yaitu) jalan Allah yang kepunyaan-Nya segala apa yang ada dilangit dan apa yang ada di bumi. Ingatlah bahwa kepada Allah-lah kembali semua urusan. (Asy-Syuuraa: 52 – 53)

Ilmu ini tak seberapa jika dibandingkan dengan ilmuNya Allah. Aku mohon padaMu ya Allah, ini sebagai langkah awal hamba untuk selalu mensyukuri nikmatMu dan semoga bermanfaat dalam menegakkan agamaMu di muka bumi. Sumber pengetahuan adalah dari Engkau. Engkau mudahkan memahami ilmu bagi orang yang Engkau kehendaki dan Engkau sulitkan bagi orang yang Engkau kehendaki. Ya Allah berikan kepadaku ilmu yang bermanfaat, ilmu yang membuat aku semakin dekat denganMu. Sebagaimana ilmu yang kau berikan kepada nabi Khidir as. Ilmu yang semakin membangun, ilmu yang membuat aku semakin tawadhu.

Rencana Allah Jauh Lebih Indah Dari Pada Rencana Manusia Itu Sendiri
Allah Telah Memilihkan Jalan Terbaik Bagi Hamba-Hambanya Yang Luar Biasa

Hasil Yang Sederhana Aku Persembahkan Untuk Yang Terkasih Di Dalam Hatiku

Rasa syukur luar biasa untuk Allah swt, pemilik alam semesta ini. Karena semua ini telah dituliskannya dalam lauful mafuzh. Ya Allah semoga Ilmu yang kau berikan ini berbekas buat umat ini. Kemudian sumber inspirasiku dan tauladan umat manusia, baginda Rasulullah Muhammad saw. Mudah-mudahan semakin berkurang usia semakin tawadhu untuk mencontoh kehidupan beliau.

Buat kedua orang tuaku, papa yang duluan menuju Allah, mudah-mudahan tempatmu di alam barzakh diberi cahaya oleh Allah. Buat mama, dengan caramu mendidik telah membentuk kepribadian anak-anakmu. Buat kedua abangku, abang Riki dan abang Anton, semoga semakin sukses. Buat uni Lena, yang sangat menyanyangiku. Buat adik-adiku, Ridwan, Mega, Marisa, Novi dan Laila, sebagai saudara yang benar-benar saudara. Buat Apak-ku, pak Ahmad Telur semua biaya kuliah ini dari engkau. Ucapan terima kasih saja rasanya kurang cukup, mudah-mudahan suatu saat nanti ada yang aku bisa lakukan sesuatu buat engkau. Buat Ante Tin, Mitan Ayun, Ayang Deli, Ande Dewi, Muning dan Metek terima kasih.

Buat teman -temanku yang sangat luar biasa dahsyat, Epi, Mutia, Qori, Feni, Restu, Nury, Hazna dan Novia. Kalian bagai saudara ketika di Padang dalam masa kuliah ini. Buat semuanya yang pernah setengal sewisma Kak Opi, Rya, Vicka, Tika, Cece, Nadra, Atika, Septri, Ully. Dengan kalian aku mencoba hidup dengan kesabaran yang tinggi. Buat teman organisasi, kaput kak Lina, aku kangen dalam lembaga dengan perjuangan luar biasa ini, ni Desi yang udah nikah, mudah-mudahan bisa mendidik anaknya menjadi anak yang sholeh dan sholicha, buat Widi, semoga sukses kuliahnya, buat qomariah, buat ni Restu, moga nyusul juga tamatnya. Dan semua teman-teman kimia angkatan 2007 yang selama ini telah banyak membantu, sumber inspirasi dan sumber motivasi.

Teman kos aku sekarang, Rina Permata Sati dari fakultas hukum. Sepertinya aku juga tertarik mempelajari tentang hukum. Mudah-mudahan Rina bisa menjadi pengacara yang memperjuangkan kebenaran. Buat Ayu dan kak Fitri, saudara di kosan. Dan teman-teman lainnya yang telah mengenalku.

ABSTRAK

Metoda Aktivasi Zeolit Alam dan Aplikasinya Sebagai Media Amobilisasi Enzim α -Amilase

Oleh
Weni Astuti (07132011)

Sarjana Sains (S.Si) dalam Bidang Kimia Fakultas MIPA Universitas Andalas
Dibimbing oleh Dr. Upita Septiani dan Dr. Yetria Rilda

Penelitian tentang beberapa metoda untuk mengaktivasi zeolit alam dan aplikasinya sebagai media amobilisasi enzim α -amilase telah dilakukan. Zeolit diaktivasi dengan metoda fisika yaitu dengan pemanasan pada suhu 400°C dan metoda kimia yaitu dengan menggunakan larutan asam HCl 6 N, H₂SO₄ 0,5 N dan larutan basa NaOH 2 M. Pengamatan metoda yang terbaik berdasarkan aktivitas enzim yang telah diamobilisasi pada zeolit yang teraktivasi. Dari hasil uji aktivitas katalitik enzim α -amilase terhadap substrat amilum, diperoleh nilai aktivitas terbesar pada enzim yang diamobilisasi pada zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N. Efisiensi enzim amobil lebih efektif pada zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N dan H₂SO₄ 0,5 N dengan penurunan aktivitas berkisar antara 13 – 30 % dengan dua kali pengulangan. Morfologi permukaan dan komposisi komponen penyusun dari zeolit yang diaktivasi dan zeolit yang telah mengamobilisasi enzim dikarakterisasi dengan SEM-EDX. Dari hasil SEM-EDX, zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N memiliki struktur rongga yang sangat terbuka dengan rasio Si/Al yang lebih besar dari zeolit alam tanpa aktivasi yaitu 9,05 serta hilangnya senyawa-senyawa pengotor dari kerangka zeolit. Pada amobilat enzim, enzim yang terjebak lebih banyak pada permukaan zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N dibandingkan dengan zeolit yang diaktivasi dengan pemanasan suhu 400°C.

ABSTRACT

Activation Methods of Natural Zeolites and Its Application as Immobilization Media of α -amylase Enzyme

By
Weni Astuti (07132011)

Bachelor of Science (SSi) in the Field of Chemistry Faculty of Mathematical and
Natural Science University of Andalas

Supervised by Dr. Upita Septiani and Dr. Yetria Rilda

Activation methods of natural zeolites and its application as immobilization media of α -amylase enzyme had been done. Zeolites was activated with physical and chemical methods. Physical method used heat at temperature 400°C and chemical methods used HCl 6 N, H₂SO₄ 0,5 N and NaOH 2 M. The best method was observed based on enzyme activity when immobilized at zeolites activated. Result from enzyme activity assay on amyłum substrat, highest value was obtained when used zeolite activated with HCl 6 N. Efficiency of immobilized enzyme was more effective at zeolite activated with HCl 6 N and H₂SO₄ 0,5 N with decresing of activity about 13 – 30 % with two times repeated. Morphology surface and component composition zeolite activated and zeolite in immobilized was characterized by SEM-EDX. From SEM-EDX pattern shows hole structure of zeolite activated with HCl 6 N was opened, higher Si/Al ratio compared by natural zeolite without activation is 9,05 and removal impurity compounds from zeolite framework. The differences in the surface morphology between immobilate, more enzyme was trapped at surface of zeolite activated with HCl 6 N compared by zeolite activated with heat at temperature 400°C.

KATA PENGANTAR

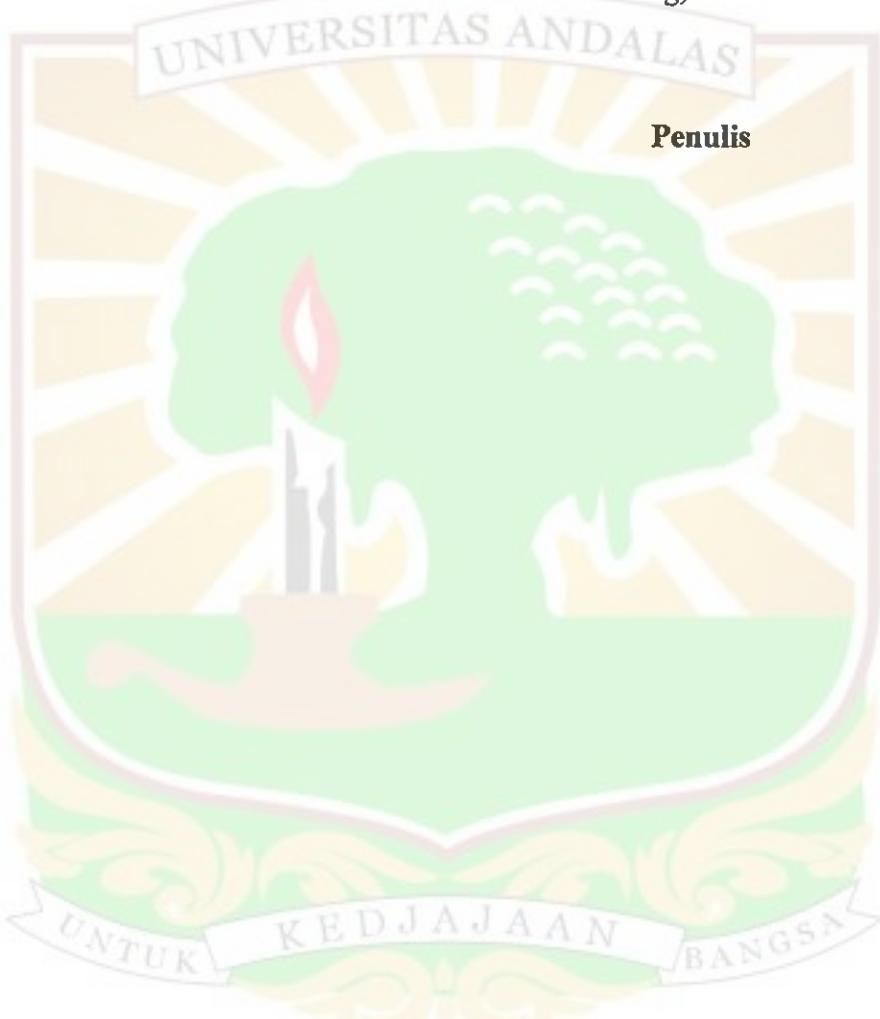
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “**Metoda Aktivasi Zeolit Alam dan Aplikasinya Sebagai Media Amobilisasi Enzim α -Amilase**”. Skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Universitas Andalas Padang. Dalam menulis skripsi ini, dari awal hingga akhir, penulis telah banyak menerima bantuan moril maupun materil dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Upita Septiani sebagai pembimbing I dan Ibu Dr. Yetria Rilda sebagai pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini,
2. Ibu Olly Norita Tetra, M.Si selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan selama meyelesaikan studi SI di jurusan Kimia,
3. Orang tua yang telah memberikan dukungan dalam segala hal beserta sanak famili yang turut memberikan dukungan moril pada penulis,
4. Bapak Dr. Adlis Santoni selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Andalas,
5. Bapak Dr. Zulhadjri selaku Kepala Laboratorium Kimia Material,
6. Ibu Prof. Dr. Sumaryati Syukur selaku Kepala Laboratorium Bioteknologi,
7. Ibu Nofrida, S.Sos selaku Analis Laboratorium Kimia Material,
8. Ibu Nurjasnimar selaku Analis Laboratorium Kimia Material yang lama,
9. Ibu Fitrinayanti, Amd selaku Analis Laboratorium Bioteknologi,
10. Teman-teman angkatan Kimia angkatan 2007 yang telah banyak membantu dalam perkuliahan selama ini.

Dengan segala kekurangan yang masih ada, penulis berharap skripsi ini bermanfaat hendaknya. Saran dan kritik akan sangat berarti bagi perbaikan skripsi ini.

Padang, Mei 2012



DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
ABSTRACT.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Batasan Masalah Penelitian.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zeolit	4
2.1.1 Sifat-sifat Zeolit.....	5
2.1.2 Klasifikasi Zeolit.....	6
2.1.3 Pemurnian dan Aktivasi Zeolit.....	8
2.2 Enzim	11
2.2.1 Enzim Amilase	12
2.3 Amobilisasi Enzim	13
2.3.1 Metoda Amobilisasi Enzim	14
2.4 Karakterisasi SEM-EDX (Scanning Electron Microscopy- Electron Dispersive X-ray Spectroscopy).....	16

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan	19

3.2.1 Alat yang digunakan	19
3.2.2 Bahan yang digunakan	19
3.3 Pembuatan Reagen	19
3.3.1 Pembuatan Reagen Nelson.....	19
3.3.2 Pembuatan Reagen Fosfomolibdat.....	20
3.3.3 Pembuatan Buffer Sitrat 0,1 N	20
3.3.4 Pembuatan Larutan Substrat Amilum	20
3.3.5 Pembuatan Larutan Standar maltosa	20
3.3.6 Pembuatan Larutan Maltosa 1000 ppm.....	20
3.4 Prosedur Penelitian.....	21
3.4.1 Macam-macam Aktivasi Zeolit Alam	21
3.4.1.1 Perlakuan dengan panas.....	21
3.4.1.2 Perlakuan dengan NaOH dan NH ₄ OH.....	21
3.4.1.3 Perlakuan dengan HCl dan NH ₄ OH.....	21
3.4.1.4 Perlakuan dengan H ₂ SO ₄ dan NH ₄ OH.....	21
3.4.2 Media berpori MCM-41.....	22
3.4.3 Amobilisasi Enzim α-Amilase	22
3.4.4 Penentuan Aktivitas Enzim α-Amilase Sebelum dan Sesudah Amobilisasi pada Kondisi Optimum	22
3.4.5 Penentuan Aktivitas Enzim α-Amilase Amobilisasi Setelah Pemakaian Berulang.....	22
3.4.6 Karakterisasi Zeolit sebagai Pengamobilisasi Enzim α-Amilase.....	23

IV. HASIL DAN DISKUSI

4.1 Identifikasi Zeolit Alam	24
4.2 Metoda Aktivasi Zeolit Alam untuk media amobilisasi enzim α-amylase	24
4.3 Aktivitas Katalitik Enzim yang diamobil dengan zeolit baik yang diaktivasi maupun yang tidak	28
4.4 Karakterisasi enzim yang diamobilisasi	30

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1	Kesimpulan.....	33
5.2	Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA		34
LAMPIRAN		36



DAFTAR TABEL

Tabel 1 Komposisi komponen penyusun zeolit alam dan zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N berdasarkan hasil EDX	28
Tabel 2 Komposisi komponen penyusun zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N dan zeolit yang mengamobilisasi enzim α -amilase berdasarkan hasil EDX.....	32
Tabel 3 Panjang gelombang maksimum larutan standar maltosa	44
Tabel 4 Nilai absorban larutan standar maltosa variasi konsentrasi	45
Tabel 5 Data kondisi optimum perlakuan terhadap enzim α -amilase.....	46
Tabel 6 Data Absorban dan Kadar Maltosa dari hasil katalitik enzim α -amilase	47
Tabel 7 Nilai aktivitas katalitik enzim α -Amilase.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Tetrahedral alumina dan silika pada struktur zeolit.....	4
Gambar 2	Struktur stereotip klinoptilolit.....	5
Gambar 3	Dealuminasi zeolit dengan asam.....	10
Gambar 4	Metoda amobilisasi <i>carrier binding</i>	14
Gambar 5	Metoda amobilisasi ikat silang	15
Gambar 6	Metoda amobilisasi penjebakan tipe kisi	15
Gambar 7	Metoda amobilisasi penjebakan tipe mikrokapsul.....	16
Gambar 8	Diagram <i>scanning electron microscopy</i>	16
Gambar 9	Berkas elektron yang dideteksi SEM.....	17
Gambar 10	Foto SEM zeolit alam dengan perbesaran 10.000 kali (a) tanpa aktivasi (b) aktivasi dengan pemanasan suhu 400°C (c) aktivasi dengan HCl 6 N	26
Gambar 11	Pola EDX dari zeolit alam gunung Kidul, Yogyakarta.....	27
Gambar 12	Pola EDX dari zeolit yang diaktivasi dengan HCl.....	27
Gambar 13	Aktivitas enzim terhadap substrat amilum pada berbagai zeolit...	29
Gambar 14	Foto SEM enzim yang diamobilisasi.....	31
Gambar 15	Pola EDX dari enzim yang diamobilisasi dengan zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6N.....	31
Gambar 16	Hasil Analisis XRD Dari Zeolit Alam	36
Gambar 17	Bahan dasar yang digunakan	38
Gambar 18	Proses aktivasi zeolit.....	43
Gambar 19	Kurva panjang gelombang maksimum larutan standar maltosa....	44
Gambar 20	Kurva persamaan regresi larutan standar maltose.....	45
Gambar 21	Kadar maltosa dari setiap aktivitas katalitik enzim terhadap substrat amilum.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Analisis XRD dari Zeolit Alam.....	36
Lampiran 2. Hasil Analisis Zeolit Alam dengan AAS-Flame, Spektro UV-VIS dan Grafimetri	37
Lampiran 3. Bahan Baku yang Digunakan	38
Lampiran 4. Skema Kerja Penelitian.....	39
Lampiran 5. Skema Pembuatan Silika Mesopori (MCM-41)	42
Lampiran 6. Proses Aktivasi Zeolit Alam	43
Lampiran 7. Data Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum untuk Pengukuran Konsentrasi Maltosa secara Spektrofotometri	44
Lampiran 8. Data Pembuatan Persamaan Regresi Standar Maltosa	45
Lampiran 9. Data Kondisi Optimum Perlakuan terhadap Enzim α -amilase....	46
Lampiran 9. Data Absorban dan Kadar Maltosa Dari Hasil Katalitik Enzim α -amilase	47
Lampiran 10. Nilai Aktivitas Katalitik Enzim α -Amilase	49
Lampiran 11. Contoh Perhitungan Aktivitas Enzim	50

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki sumber zeolit alam yang berlimpah. Tetapi hingga saat ini eksplorasi dan penggunaannya masih sangat terbatas. Zeolit terbentuk dari abu vulkanik yang telah mengendap jutaan tahun silam dan dihasilkan dari proses hidrotermal pada batuan beku basa. Struktur zeolit berupa kristal berongga yang terbentuk oleh jaringan silika alumina tetrahedral tiga dimensi dan mempunyai struktur yang relatif teratur dengan rongga di dalamnya terisi oleh logam alkali atau alkali tanah sebagai penyeimbang muatannya. Rongga tersebut merupakan suatu sistem saluran yang didalamnya terisi oleh molekul air dan ukurannya bermacam-macam yang berkisar 2 – 8 Angstrom (\AA), tergantung dari jenis zeolit. Dengan struktur berongga ini zeolit dimanfaatkan sebagai penyaring molekuler, penukar ion, penyerap bahan dan katalisator. Zeolit memiliki struktur pori aktif yang banyak sehingga memiliki luas permukaan spesifik yang tinggi, menyebabkan sumber daya alam tersebut sangat berpotensi dikembangkan menjadi produk-produk yang luas aplikasinya antara lain sebagai katalis atau media pendukung katalis.^(1,2,3)

Zeolit di alam biasanya masih bercampur dengan pengotor dari jenis mineral lain seperti montmorilonit, apatit, kuarsa maupun jenis oksida seperti oksida besi, alumina maupun silika. Zeolit alam yang masih bercampur dengan pengotor pada umumnya mempunyai rasio Si/Al yang rendah, mengakibatkan daya serap, daya tukar kation maupun daya katalis dari zeolit tersebut belum maksimal. Untuk meningkatkan kemampuannya, zeolit alam harus diaktifkan terlebih dahulu agar jumlah pori-pori yang terbuka lebih banyak sehingga luas permukaan pori-pori bertambah.^(2,4)

Proses aktivasi dapat dilakukan secara fisika dan kimia. Aktivasi secara fisika berupa pemanasan zeolit dengan tujuan untuk menguapkannya uap air yang terperangkap dalam pori-pori kristal zeolit sehingga luas permukaan pori-pori bertambah. Aktivasi secara kimia yaitu dengan perlakuan dengan asam mineral

maupun basa dengan tujuan untuk membersihkan permukaan pori, membuang senyawa pengotor dan mengatur kembali letak atom yang dipertukarkan.^(2,3)

Penggunaan enzim sebagai biokatalis telah memegang peranan yang sangat penting pada industri kimia dan farmasi.⁽⁵⁾ Enzim merupakan protein yang berfungsi sebagai biokatalis dalam sel hidup. Kelebihan katalis enzim dibandingkan dengan katalis biasa adalah dapat meningkatkan produk beribu kali lebih tinggi karena tidak ada reaksi samping, bekerja pada pH yang relatif netral dengan suhu yang relatif rendah, dan bersifat spesifik dan selektif terhadap substrat tertentu.⁽⁶⁾ Salah satu jenis enzim yang saat ini sering digunakan ialah enzim amilase.⁽⁷⁾ Enzim amilase dapat digunakan untuk mengkonversi bahan-bahan berpati menjadi monomer-monomer yang lebih sederhana dalam bentuk glukosa, dekstrosa, fruktosa, atau maltosa. Penggunaan enzim amilase ini sangat luas, baik dalam industri pangan, farmasi, dan tekstil, namun penggunaan enzim secara langsung sebagai katalis hanya dapat digunakan untuk satu kali reaksi.^(5,6) Salah satu cara untuk mengatasi kelemahan ini adalah dengan melakukan teknik amobilisasi pada enzim yang akan digunakan.⁽⁶⁾ Amobilisasi merupakan suatu cara untuk mengikat enzim tanpa merubah sifat kimia dari enzim tersebut. Amobilisasi enzim bertujuan untuk meningkatkan stabilitas dan efektivitas enzim sehingga amilase dapat digunakan kembali.^(5,8)

Dari beberapa penelitian, zeolit alam telah diperlakukan untuk meningkatkan ukuran rongganya dengan berbagai metoda aktivasi menggunakan asam, basa maupun panas.^(2,9,10) Dari berbagai macam metoda aktivasi tersebut, dipilih beberapa kondisi yang menunjukkan hasil yang paling optimal. Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya. L. Agrina (2011) telah menggunakan zeolit yang diaktivasi dengan HCl 3 M sebagai media pendukung amobilisasi enzim α -amilase. Pada penelitian ini akan dilakukan beberapa metoda untuk pengaktifan zeolit dan dilihat metoda mana yang lebih bagus. Kemudian, zeolit yang telah teraktivasi digunakan untuk mengamobilisasi enzim α -amilase dan dilihat perbandingan aktivitas enzim yang terjebak dalam rongga zeolit.

1.2 Batasan Masalah Penelitian

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini dibatasi sebagai berikut:

1. Mempelajari jenis metoda aktivasi zeolit alam secara fisika dan kimia untuk amobilisasi enzim α -amilase.
2. Mengamati aktivitas enzim α -amilase yang teramobil pada zeolit yang teraktivasi.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Membandingkan berbagai metoda aktivasi zeolit dan menentukan aktivasi zeolit yang paling baik untuk mengamobilisasi enzim α -amilase.
2. Melihat sejauh mana efisiensi enzim pada pemakaian berulang untuk berbagai jenis metoda aktivasi.

1.4 Manfaat Penelitian

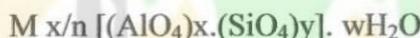
Penelitian ini dapat dimanfaatkan dalam pengembangan ilmu pengetahuan tentang teknik aktivasi zeolit, memanfaatkan keberadaan zeolit yang cukup melimpah di Indonesia dan pemanfaatannya sebagai matriks alternatif yang bisa digunakan dalam mengamobilisasi enzim.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zeolit

Nama zeolit berasal dari kata “zein” yang berarti mendidih dan “lithos” yang artinya batuan, disebut demikian karena mineral ini mempunyai sifat mendidih atau mengembang apabila dipanaskan. Hal ini menggambarkan perilaku mineral ini yang dengan cepat melepaskan air bila dipanaskan sehingga kelihatan seolah-olah mendidih.⁽²⁾

Zeolit adalah mineral yang terdiri dari kristal alumina silikat terhidrasi yang mengandung kation alkali atau alkali tanah (dapat berupa logam, seperti natrium, kalium, magnesium, dan kalsium) dalam kerangka tiga dimensi. Ion-ion logam tersebut dapat diganti oleh kation lain tanpa merusak struktur zeolit dan dapat menyerap air secara reversibel. Struktur zeolit berupa kristal polimer anorganik dengan kerangka tetrahedral $[AlO_4]^{5-}$ dan $[SiO_4]^{4-}$ yang dapat dilihat pada gambar 1. Rumus struktur zeolit tersebut dapat dituliskan sebagai berikut:



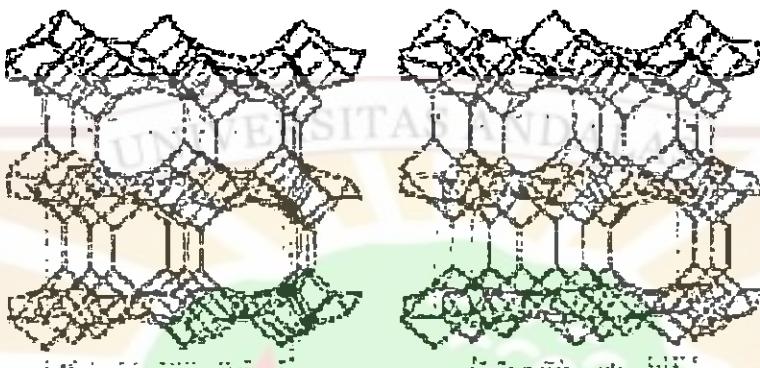
Dengan n adalah valensi dari kation M, w adalah jumlah molekul air per unit sel, x dan y adalah total jumlah tetrahedral per unit sel.



Gambar 1. Tetrahedral alumina dan silika pada struktur zeolit⁽¹⁸⁾

Zeolit mempunyai bermacam-macam struktur. Secara garis besar struktur zeolit dibentuk oleh empat unit bangun utama, yaitu berupa unit bangun primer, unit bangun sekunder, unit bangun simetri polihedral dan unit struktur zeolit. Unit bangun primer pembentuk struktur zeolit adalah tetrahedral $[AlO_4]^{5-}$ dan $[SiO_4]^{4-}$, setiap satu kation pusat berikatan dengan empat atom oksigen, dalam hal ini yang menjadi kation adalah Si^{4+} dan Al^{3+} . Tetrahedral $[AlO_4]^{5-}$ dan $[SiO_4]^{4-}$ kemudian bergabung membentuk bangun berbentuk cincin tunggal atau cincin ganda yang disebut sebagai unit bangun sekunder. Selanjutnya unit bangun sekunder

bergabung membentuk unit bangun polihedral. Setiap polihedral dapat mengandung lebih dari 24 tetrahedral. Unit struktur zeolit dibentuk dari gabungan banyak unit bangun sekunder dan unit bangun polihedral.⁽¹¹⁾



Gambar 2. Struktur stereotip klinoptilolit⁽¹⁸⁾

2.1.1 Sifat-sifat Zeolit

Zeolit mempunyai struktur berongga dan biasanya rongga ini diisi oleh air dan kation yang bisa dipertukarkan dan memiliki ukuran pori yang tertentu. Oleh sebab itu, zeolit dapat dimanfaatkan sebagai penyaring molekul, penukar ion, penyerap bahan dan katalisator.⁽³⁾

Sifat zeolit meliputi:

a. Dehidrasi

Sifat dehidrasi dari zeolit akan berpengaruh terhadap sifat adsorbsinya. Zeolit dapat melepaskan molekul air dari dalam rongga permukaan yang menyebabkan medan listrik meluas ke dalam rongga utama dan akan efektif terinteraksi dengan molekul yang akan diadsorbsi.

b. Adsorbsi

Dalam keadaan normal ruang hampa dalam kristal zeolit terisi oleh molekul air bebas yang berada disekitar kation. Bila kristal zeolit dipanaskan pada suhu 300°C – 400°C maka air tersebut akan keluar sehingga zeolit dapat berfungsi sebagai penyerap gas atau cairan. Beberapa jenis mineral zeolit dapat berfungsi sebagai penyerap gas atau cairan. Zeolit juga mampu memisahkan molekul zat berdasarkan ukuran dan kepolarnya. Meskipun ada dua molekul atau lebih

yang dapat melintas, hanya sebuah saja yang dapat lolos karena adanya pengaruh kutub antara molekul zeolit dengan zat tersebut. Molekul yang tidak jenuh atau mempunyai kutub akan lebih mudah lolos daripada yang tidak berikutut atau yang jenuh. Selektifitas adsorbsi zeolit terhadap ukuran molekul tertentu dapat disesuaikan dengan jalan penukaran kation; dekationisasi; dealuminasi secara hidrotermal; dan pengubahan perbandingan kadar Si dan Al.

c. Penukar ion

Ion-ion pada rongga atau kerangka elektrolit berguna untuk menjaga keneutralan zeolit. Ion-ion ini dapat bergerak bebas sehingga pertukaran ion yang terjadi tergantung dari ukuran, muatan dan jenis zeolitnya. Sifat sebagai penukar ion dari zeolit antara lain tergantung dari sifat kation, suhu dan jenis anion. Penukaran kation dapat menyebabkan perubahan beberapa zeolit seperti stabilitas terhadap panas, sifat adsorbsi dan aktifitas katalitis.

d. Katalis

Ciri paling khusus dari zeolit yang secara praktis akan menentukan sifat khusus mineral ini adalah adanya ruang kosong yang akan membentuk saluran di dalam strukturnya. Bila zeolit digunakan pada proses penyerapan atau katalitis maka akan terjadi difusi molekul ke dalam ruang bebas di antara kristal. Dengan demikian dimensi serta lokasi saluran sangat penting. Reaksi kimia juga terjadi dipermukaan saluran tersebut.

e. Penyaring/pemisah

Zeolit dapat memisahkan molekul gas atau zat lain dari suatu campuran tertentu karena mempunyai ruang hampa yang cukup besar dengan garis tengah yang bermacam-macam (berkisar antara $2 - 8 \text{ }^{\circ}\text{A}$, tergantung dari jenis zeolit). Volume dan ukuran garis tengah ruang hampa dalam kisi-kisi kristal ini menjadi dasar kemampuan zeolit untuk bertindak sebagai penyaring molekul. Molekul yang berukuran lebih kecil dapat melintas sedangkan yang berukuran yang lebih besar dari ruang hampa akan tertahan atau ditolak.

2.1.2 Klasifikasi zeolit

Berdasarkan proses pembentukannya, zeolit digolongkan menjadi dua kelompok, yaitu zeolit alam dan zeolit sintetis.⁽³⁾

a. Zeolit Alam

Zeolit alam terbentuk karena adanya proses perubahan alam (zeolitisasi) dari batuan vulkanik tuf. Di alam banyak dijumpai zeolit dalam lubang-lubang batuan lava, dan dalam batuan sedimen terutama sedimen piroklastik berbutir halus.

Zeolit alam dibedakan menjadi 2 kelompok, yaitu:

- 1) Zeolit yang terdapat di antara celah-celah batuan atau di antara lapisan batuan
Zeolit jenis ini biasanya terdiri dari beberapa jenis mineral zeolit bersama-sama dengan mineral lain seperti kalsit, kuarsa, renit, klorit, flourit, mineral sulfida, dan lain-lain.

- 2) Zeolit yang berupa batuan**

Hanya sedikit jenis zeolit yang berbentuk batuan di antaranya adalah klinoptilotit, analsim, laumontit, mordenit, filipsit, erionit, kabasit, dan heulandit.

Menurut proses terbentuknya, batuan zeolit ini dapat dibedakan menjadi 7 kelompok, yaitu:

- a) Mineral zeolit yang terbentuk dari endapan gunung berapi di dalam danau asin yang tertutup.
- b) Mineral zeolit yang terbentuk di dalam danau air tawar atau di dalam lingkungan air tanah terbuka.
- c) Mineral zeolit yang terbentuk di lingkungan laut.
- d) Mineral zeolit yang terbentuk karena proses metamorphose berderajat rendah, karena pengaruh timbunan.
- e) Mineral zeolit yang terbentuk oleh aktivitas hidrotermal atau air panas.
- f) Mineral zeolit yang terbentuk dari endapan gunung berapi di dalam tanah yang bersifat alkali.
- g) Mineral zeolit yang terbentuk dari batuan atau mineral lain yang tidak menunjukkan bukti adanya hubungan langsung dengan kegiatan vulkanis.

b. Zeolit Sintetis

Sifat zeolit sangat tergantung dari jumlah komponen Al dan Si dari zeolit tersebut. Oleh sebab itu, maka zeolit sintetis dikelompokkan sesuai dengan perbandingan kadar komponen Al dan Si dalam zeolit.

1) Zeolit kadar Si rendah (kaya Al)

Volume pori-pori zeolit jenis ini dapat mencapai $0,5 \text{ cm}^3/\text{cm}^3$ volume zeolit. Kadar maksimum Al dalam zeolit dicapai bila perbandingan Si/Al mendekati 1 dan keadaan ini menyebabkan daya penukaran ion dari zeolit maksimum. Contoh zeolit Si rendah yaitu zeolit A dan X.

2) Zeolit Si sedang

Dari beberapa penelitian diketahui bahwa kerangka tetrahedral Al dari zeolit tidak stabil terhadap asam atau panas. Selain itu diketahui pula bahwa zeolit mordenit yang mempunyai perbandingan Si/Al = 5 adalah sangat stabil. Maka diusahakan untuk membuat zeolit dengan kadar Si yang lebih tinggi dari 1 yang kemudian diperoleh zeolit Y dengan perbandingan kadar Si/Al antara 1-3. Contoh zeolit Si sedang yaitu zeolit Omega (sintetis), sedangkan zeolit alam yang termasuk jenis ini adalah mordenit, erionit, dan klinoptilolit.

3) Zeolit Si tinggi

Zeolit ini mempunyai perbandingan kadar Si/Al antara 10 - 100 bahkan lebih dan mempunyai sifat permukaan yang kadang-kadang tidak dapat diperkirakan sebelumnya. Sifatnya sangat hidrofilik dan akan menyerap molekul yang tidak polar dan baik digunakan sebagai katalisator asam untuk hidrokarbon. Contoh zeolit Si tinggi yaitu zeolit ZSM-5, ZSM-11, ZSM-21, dan ZSM-24 (sintetis).

4) Zeolit Si

Kalau zeolit Si tinggi masih mengandung Al meskipun hanya sedikit, tetapi zeolit Si ini tidak mengandung Al sama sekali. Sifat zeolit jenis ini adalah sangat hidrofilik-hidrofobik sehingga dapat mengeluarkan atau memisahkan suatu molekul organik dari suatu campuran air. Contoh zeolit Si yaitu silikosit.

2.1.3 Pemurnian dan Aktivasi Zeolit

Eksplorasi dan penggunaan potensi zeolit alam di Indonesia masih sangat terbatas. Untuk mengembangkannya, diperlukan teknologi proses yang mendukung terciptanya diversifikasi produk yang memanfaatkan zeolit alam sebagai bahan bakunya. Pada umumnya zeolit alam masih mengandung pengotor-pengotor organik dan anorganik yang menutupi porinya, sehingga untuk meningkatkan kemampuan daya serap zeolit alam harus dilakukan aktivasi terlebih dahulu agar pori-pori yang terbuka lebih banyak sehingga luas permukaan pori-pori bertambah.

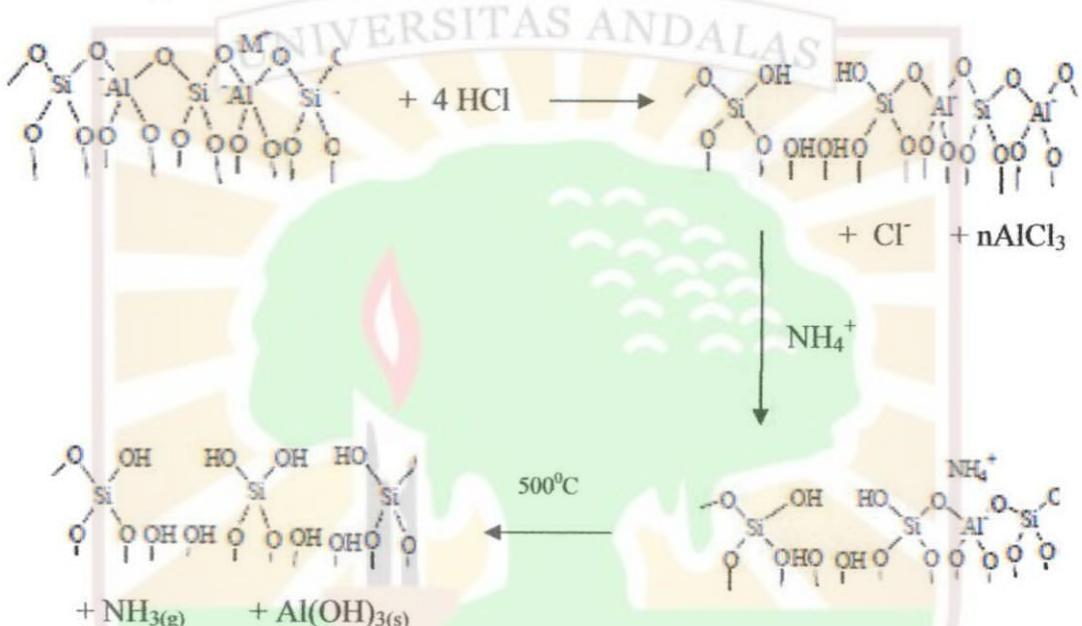
Metode sederhana yang digunakan untuk memisahkan kotoran-kotoran berupa batu, pasir, kerikil, akar pohon, logam dan lainnya adalah dengan cara mendispersikan ke dalam air, kemudian dipisahkan dengan cara filtrasi. Setelah diperoleh filtrat berupa koloid dalam air, selanjutnya zeolit yang lebih murni dipisahkan terhadap pelarut air dengan cara sedimentasi dan dekantasi. Pelarutan zeolit dapat ditingkatkan dengan cara menaikkan pH larutan yang digunakan.

Untuk memisahkan air yang masih tersisa pada zeolit dan dekomposisi bahan-bahan organik, dilakukan proses kalsinasi. Berdasarkan analisis TG/TGA dapat diketahui bahwa bahan-bahan organik mulai terdekomposisi pada temperatur 250°C . Bahan-bahan organik tersebut akan terdekomposisi menjadi gas-gas O_2 , CO_2 dan H_2O kemudian menguap, meninggalkan zeolit.

Proses aktivasi zeolit dapat dilakukan dengan dua cara yaitu secara fisika dan kimia. Aktivasi secara fisika berupa pemanasan zeolit dengan tujuan untuk menguapkan air yang terperangkap dalam pori-pori kristal zeolit sehingga luas permukaan pori-pori bertambah. Pemanasan dilakukan dalam oven biasa pada suhu $300 - 400^{\circ}\text{C}$ (untuk skala laboratorium) atau menggunakan tungku putar dengan pemanasan secara penghampaan selama 3 jam atau penghampaan selama 5 – 6 jam (skala besar).

Aktivasi secara kimia dilakukan dengan larutan asam H_2SO_4 atau basa NaOH dengan tujuan untuk membersihkan permukaan pori, membuang senyawa pengotor dan mengatur kembali letak atom yang dipertukarkan. Aktivasi asam menyebabkan terjadinya dekationisasi yang menyebabkan bertambahnya luas

permukaan zeolit karena berkurangnya pengotor yang menutupi pori-pori zeolit. Perlakuan asam telah berhasil melepaskan alumunium dari kerangka zeolit dan mampu meningkatkan keasaman zeolit. Peningkatan keasaman zeolit disebutkan mampu memperbesar kemampuan penyerapan zeolit. Hal itu terjadi karena banyaknya pori-pori zeolit yang terbuka dan permukaan padatannya menjadi bersih dan luas.^(1,3)



Gambar 3. Dealuminasi zeolit dengan asam⁽¹²⁾

Berbagai macam metoda untuk mengaktifasi zeolit telah dilakukan baik secara fisika maupun secara kimia dengan berbagai aplikasi. R. Dian Kusuma dan Fendy Anthonius L (2010) dengan penelitiannya optimasi aktivasi zeolit alam untuk dehumidifikasi telah memvariasikan beberapa suhu dan berbagai konsentrasi NaOH dan didapatkan daya adsorpsi uap air terbesar pada zeolit yang dipanaskan pada temperatur 400°C dan konsentrasi optimal larutan NaOH dengan normalitas 0,75 N.

Ahmadi, Kgs (2009) juga meneliti tentang pemurnian minyak ikan hasil samping penepungan ikan lemuru (*Sardinell longiceps*) menggunakan zeolit alam teraktivasi memberikan hasil aktivasi zeolit alam dengan normalitas HCl 6 N dengan persentase pemberian 20 % secara umum dapat memperbaiki kualitas

minyak ikan hasil samping penepungan ikan lemuru. Fatimah, I (2000) meneliti tentang penggunaan Na-Zeolit Alam teraktivasi sebagai penukar ion Cr³⁺ dalam larutan dengan proses aktivasi zeolit menggunakan HCl 6 M, H₂SO₄ dan NaOH 2 M. Hasil yang diperoleh yaitu aktivasi dan modifikasi zeolit alam menjadi Na-zeolit alam teraktivasi dapat meningkatkan kapasitas penukaran ion Cr³⁺ pada zeolit alam dengan hasil kapasitas penukaran kation terbesar dicapai oleh Na-zeolit alam teraktivasi dengan cara pengasaman menggunakan H₂SO₄. Khoirina Dwi, M, dkk (2003) dengan penelitian mereka tentang efektivitas katalis Cr/zeolit alam pada perengkahan tir batubara menjadi fraksi bensin, menggunakan zeolit alam yang diaktivasi dengan HCl 6 N dan NH₄Cl 0,1 M. Dari hasilnya membuktikan zeolit aktivasi dan modifikasi meningkatkan aktivitas pada perengkahan tir batubara menjadi bensin. Maka, pada penelitian ini akan dilakukan beberapa metoda untuk aktivasi zeolit alam dan diaplikasikan sebagai media pendukung amobilisasi enzim α-amilase.

2.2 Enzim

Enzim merupakan unit fungsional dari metabolisme sel. Bekerja dengan urut-urutan yang teratur, enzim mengkatalisis ratusan reaksi bertahap yang menguraikan molekul nutrien, reaksi yang menyimpan dan mengubah energi kimiawi, dan yang membuat makromolekul sel dari prekursor sederhana.⁽¹³⁾

Semua enzim murni yang telah diamati sampai saat ini adalah protein; dan aktivitas katalitiknya bergantung kepada integritas strukturnya sebagai protein. Enzim memiliki berat molekul yang berkisar dari kira-kira 12.000 sampai lebih dari 1 juta. Enzim dapat bergabung dengan suatu substrat spesifik untuk mengkatalisasi reaksi biokimia dari substrat tersebut. Dalam reaksi tersebut enzim mengubah senyawa yang disebut substrat menjadi bentuk suatu senyawa baru yang disebut produk. Enzim memiliki substrat spesifik dan reaksi kimia yang spesifik untuk dikatalisnya. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh suhu, pH dari lingkungan tempat enzim bekerja, konsentrasi substrat, aktivator dan inhibitor enzim.

Suhu berpengaruh besar terhadap aktivitas enzim. Semua enzim bekerja dalam rentang suhu tertentu pada tiap jenis organisme. Peningkatan suhu eksternal secara umum akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia enzim, tetapi kenaikan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim yaitu kerusakan struktur protein enzim, terutama kerusakan pada ikatan ion dan ikatan hidrogennya. Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan kecepatan reaksi yang dikatalis oleh enzim tersebut.

Selain suhu, aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH lingkungan tempat enzim tersebut bekerja. Banyak enzim yang sensitif terhadap perubahan pH dan setiap enzim memiliki pH optimum untuk aktivitasnya. Perubahan pH dapat menyebabkan berhentinya aktivitas enzim akibat proses denaturasi pada struktur tiga dimensi enzim.⁽¹⁴⁾

2.2.1 Enzim amilase

Amilase adalah kelompok enzim yang memiliki kemampuan untuk memutuskan ikatan glikosida yang terdapat pada molekul amilum. Hasil hidrolisis atau pemecahan molekul amilum ini adalah molekul-molekul yang lebih kecil seperti maltosa, dekstrin dan terutama molekul glukosa sebagai unit terkecil. Beberapa kelompok enzim amilase tersebut adalah:

a. Alpha amilase (α -amilase)

Disebut juga dengan 1,4- α -D-glukan glukanohidrolase atau glukogenase. Enzim ini bekerja memutus ikatan α -1,4 glikosida pada amilum secara acak terutama pada rantai yang panjang sehingga menghasilkan maltotriosa dan maltosa dari polimer amilosa pada amilum, dan menghasilkan glukosa dan sedikit dekstrin dari polimer amilopektin penyusun amilum. Karena sifatnya yang dapat memutus ikatan glikosida secara acak, enzim ini bekerja lebih cepat dibanding amilase lainnya terutama β -amilase. Pada kelompok hewan, α -amilase merupakan enzim pencerna amilum yang utama. Enzim α -amilase merupakan kelompok metaloenzim yang tidak dapat bekerja sama sekali bila ion kalsium tidak ada.

b. Beta amilase (β -amilase)

Disebut juga 1,4- α -D-glukan maltohidrolase ataupun sakarogen amilase. Enzim ini dijumpai pada kelompok tumbuhan, bakteri dan fungi. Enzim ini bekerja menghidrolisis amilum dari bagian ujung non reduksi dan menghidrolisis ikatan α -1,4 glikosida pada tahap kedua hidrolisis amilum sehingga terbentuk molekul maltosa yang disusun oleh dua unit glukosa pada saat yang sama setelah α -amilase bekerja. Selama proses pematangan buah, β -amilase bekerja memecah amilum menjadi gula sehingga buah yang matang terasa manis. Jaringan hewan tidak menghasilkan enzim β -amilase, kecuali bila ada mikroorganisma yang bersimbiosis di saluran pencernaannya.⁽¹⁴⁾

Enzim amilase secara konstitusi merupakan kelompok enzim yang sangat dibutuhkan dalam bidang industri, dengan pangsa pasar mencapai hampir 25% dari pasaran enzim di dunia. Penggunaan enzim amilase dalam industri sangat luas mulai dari industri pembuatan roti, sirup, pemanis, campuran oligosakarida, dekstrin, industri tekstil, pembuatan etanol, pengujian limbah cair yang mengandung amilum, industri detergen, industri obat dan suplemen enzim.⁽¹⁵⁾

2.3 Amobilisasi Enzim

Amobilisasi enzim adalah enzim yang secara fisik dibatasi geraknya atau ditempatkan pada suatu ruang untuk mempertahankan katalitiknya dan dapat digunakan secara berulang-ulang. Enzim amobilisasi adalah enzim yang terikat atau tertutup oleh medium yang tidak terlarut atau molekul enzim yang telah disilangkan dengan yang lain tanpa kehilangan aktivitas katalitiknya. Teknik amobilisasi enzim adalah teknik yang digunakan agar enzim tidak bergerak, baik melalui pengikatan pada padatan pendukung maupun penjebakan pada matriks.⁽¹⁶⁾

Penggunaan enzim terimobilisasi akan memberikan beberapa keuntungan:

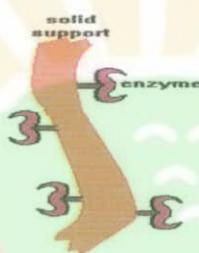
- 1) enzim dapat digunakan secara berulang;
- 2) proses dapat dihentikan secara cepat dengan mengeluarkan enzim dari larutan substrat;
- 3) kestabilan enzim dapat diperbaiki;

- 4) larutan hasil proses tidak terkontaminasi oleh enzim;
- 5) dapat digunakan untuk tujuan analisis yang melibatkan enzim.

2.3.1 Metoda Amobilisasi Enzim

a. Metoda *carrier binding*

Metoda ini didasarkan atas pengikatan enzim langsung pada zat pembawa yang tidak larut dalam air.



Gambar 4. Metoda amobilisasi *carrier binding*⁽¹⁷⁾

Metoda ini dapat dibedakan menjadi tiga yaitu :

1) Metoda adsorpsi fisik

Berdasarkan pada adsorpsi fisika dari protein enzim pada permukaan pembawa yang tidak larut dalam air. Metoda ini memiliki keburukan dimana enzim yang diserap dapat bocor dari pembawa selama pemanfaatan karena gaya ikat antara protein enzim dan pembawa lemah.

2) Metoda pengikatan ionik

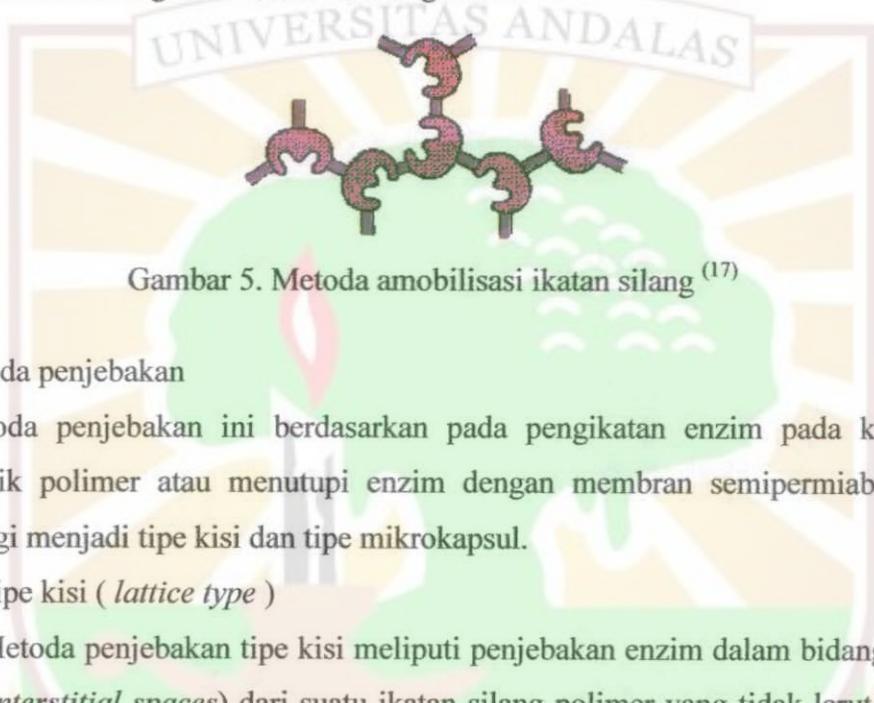
Berdasarkan pada pengikatan ionik dari protein enzim pada pembawa yang tidak larut dalam air yang mengandung residu penukar ion. Kebocoran enzim dari pembawa dapat terjadi dalam larutan substrat dengan kekuatan ionik yang tinggi atau pada variasi pH.

3) Metoda pengikatan kovalen

Berdasarkan pada pengikatan enzim dan pembawa yang tidak larut dalam air dengan ikatan kovalen. Dalam metoda ini diperlukan kondisi reaksi yang sulit dan biasanya tidak dalam keadaan suhu kamar. Dan dalam beberapa keadaan, ikatan kovalen mengubah bentuk konformasi dan pusat aktif enzim yang mengakibatkan kehilangan aktivitas atau perubahan spesifitas aktivitas.

b. Metoda ikatan silang

Metoda ikatan silang berdasarkan pembentukan ikatan kimia, seperti dalam metode ikatan kovalen, namun pembawa yang tidak larut dalam air tidak digunakan dalam metoda ini. Amobilisasi enzim dilakukan dengan pembentukan ikatan silang intermolekular diantara molekul enzim dengan penambahan reagen bi- atau multifungsional.



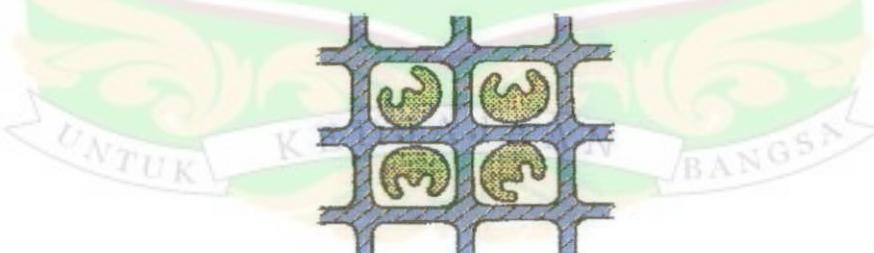
Gambar 5. Metoda amobilisasi ikatan silang⁽¹⁷⁾

c. Metoda penjebakan

Metoda penjebakan ini berdasarkan pada pengikatan enzim pada kisi-kisi matrik polimer atau menutupi enzim dengan membran semipermeabel dan dibagi menjadi tipe kisi dan tipe mikrokapsul.

1) Tipe kisi (*lattice type*)

Metoda penjebakan tipe kisi meliputi penjebakan enzim dalam bidang batas (*interstitial spaces*) dari suatu ikatan silang polimer yang tidak larut dalam air. Sebagai contoh diantaranya gel matrik.



Gambar 6. Metoda amobilisasi penjebakan tipe kisi⁽¹⁷⁾

2) Tipe mikrokapsul

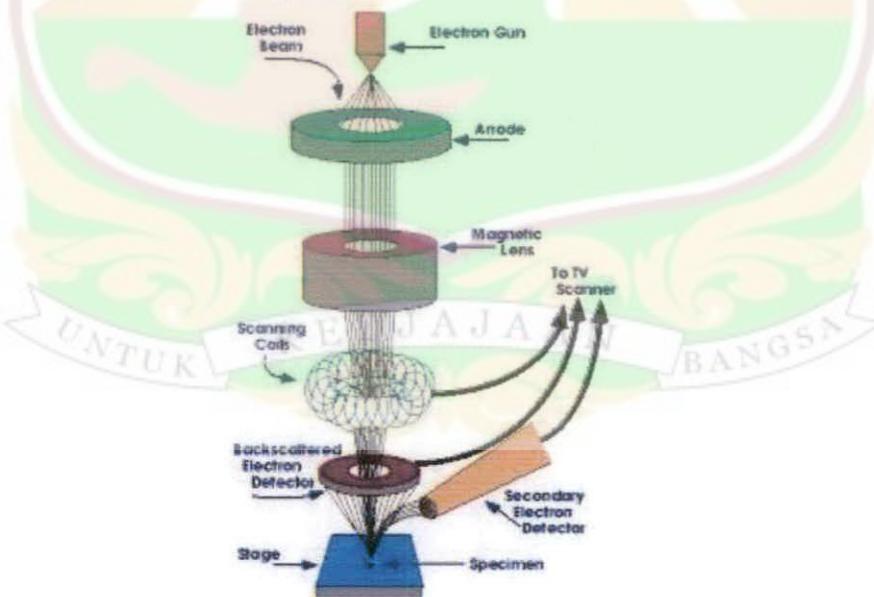
Tipe penjebakan mikrokapsul meliputi pelingkupan enzim dengan membran polimer semipermeabel. Enzim mikrokapsul secara umum mempunyai diameter 1-100 μm .⁽¹⁷⁾



Gambar 7. Metoda amobilisasi penjebakan tipe mikrokapsul⁽¹⁷⁾

2.4 Karakterisasi SEM-EDX (*Scanning Electron Microscopy-Electron Dispersive X-ray Spectroscopy*)

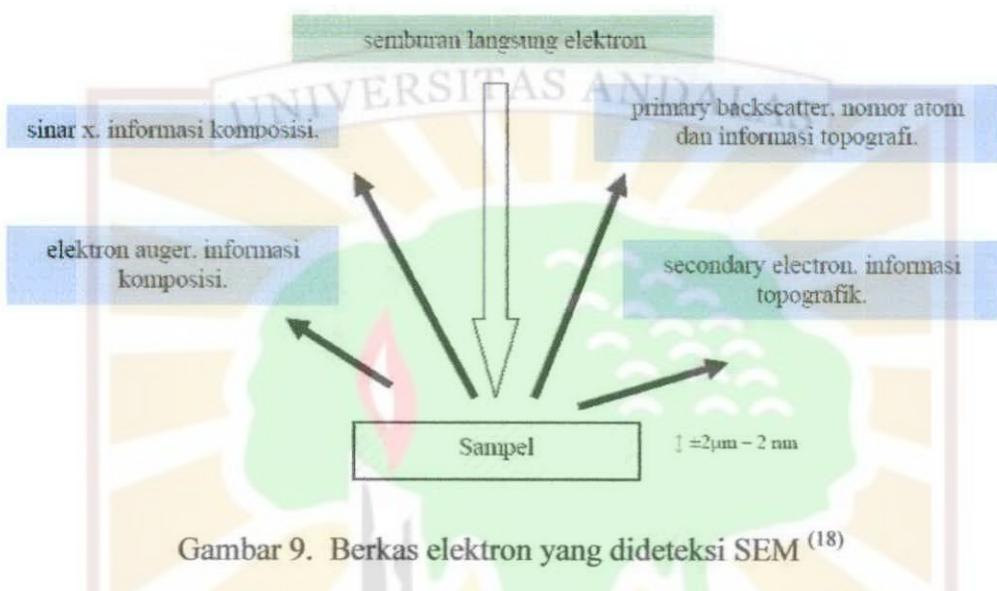
SEM merupakan pencitraan material dengan menggunakan prinsip mikroskopi. SEM menggunakan elektron sebagai sumber pencitraan dan medan elektromagnetik sebagai lensanya.



Gambar 8. Diagram *scanning electron microscopy*⁽¹⁸⁾

Elektron diemisikan dari katoda (*electron gun*) melalui efek fotolistrik dan dipercepat menuju anoda. Filamen yang digunakan biasanya adalah tungsten atau

Lanthanum hexaboride (LaB_6). *Scanning coil* akan mendefleksikan berkas elektron menjadi sekumpulan *array* (berkas yang lebih kecil), disebut *scanning beam* dan lensa objektyif (magnetik) akan memfokuskannya pada permukaan sampel.



Gambar 9. Berkas elektron yang dideteksi SEM⁽¹⁸⁾

Elektron kehilangan energi pada saat tumbukan dengan atom material, akibat *scattering* dan absorpsi pada daerah interaksi dengan kedalaman 100 nm sampai 2 μm . Ini membuat material akan meradiasikan emisi meliputi sinar-X, *electron Auger*, *back-scattered* dan *secondary electron*. Pada SEM, signal yang diolah merupakan hasil deteksi dari *secondary electron* yang merupakan elektron yang berpindah dari permukaan sampel.

SEM dipakai untuk mengetahui struktur mikro suatu material meliputi tekstur, morfologi, komposisi dan informasi kristalografi permukaan partikel. Morfologi yang diamati oleh SEM berupa bentuk, ukuran dan susunan partikel. EDX (*Energy Dispersive X-ray*) merupakan karakterisasi material menggunakan sinar X yang diemisikan ketika material mengalami tumbukan dengan elektron. Sinar X diemisikan dari transisi elektron dari lapisan kulit atom, karena itu tingkat energinya tergantung dari tingkatan energi kulit atom. Setiap unsur didalam tabel periodik memiliki susunan elektronik yang berbeda, sehingga akan memancarkan sinar X yang berbeda pula. Dengan mendeteksi tingkat energi yang dipancarkan

dari sinar X dan intensitasnya, maka dapat diketahui atom-atom penyusun material dan persentase massanya.⁽¹⁸⁾



III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Kimia Material dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang pada bulan Agustus sampai Desember 2011. Karakterisasi SEM-EDX dilakukan di laboratorium Geologi Kuarter ITB Bandung.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan diantaranya adalah beberapa peralatan gelas, magnetic stirrer (Agimatic REV-E), sentrifuge, pH meter (Metro-HOME), incubator (Gallenkamp), neraca listrik (KERN-ew), kertas pH universal, dan desikator. Sedangkan instrument yang digunakan adalah SEM-EDX (JSM-6360LA) dan spektrofotometer UV/VIS (Spektronik 20D).

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 Litbang Pascapanen, amilum, maltosa, asam sitrat, natrium sitrat (Wako Pure Chemical Industries), natrium karbonat, natrium tartarat, natrium bikarbonat, natrium sulfat, natrium tungstat, asam molibdat, tembaga sulfat penta hidrat, natrium hidroksida, asam fosfat, asam klorida, asam sulfat, ammonium hidroksida (Merck) dan Silika Mesopori (MCM-41).

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 pentahidrat 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. Didinginkan lalu ditambahkan 25 mL asam fosfat 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 aquades. Dari larutan ini dibuat larutan buffer dengan pH 5,6 dan di cek dengan pH meter.

3.3.4 Pembuatan Larutan Substrat Amilum 2 %

Untuk membuat larutan substrat amilum, disiapkan sebanyak 1 gram amilum kemudian dilarutkan dalam 50 mL aquades, panaskan sampai terbentuk gelatin. Setelah dingin, ditambahkan aquades sampai volume 100 mL.

3.3.5 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.

3.3.6 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. Didinginkan dalam gelas piala yang berisi air dingin sampai suhu kamar. Selanjutnya tambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat

dan dikocok hingga sempurna, lalu ditambahkan 7 mL aquades dan didiamkan selama 30 menit untuk menyempurnakan reaksi. Lakukan pengukuran absorban pada panjang gelombang maksimum.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Macam – macam Aktivasi Zeolit Alam

3.4.1.1 Perlakuan dengan panas

Sebanyak 10 gram zeolit dipanaskan pada suhu 400°C selama 4 jam.

3.4.1.2 Perlakuan dengan NaOH dan NH₄OH

Zeolit alam sebanyak 10 gram di aduk dalam 100 mL NaOH 2 N selama 6 jam pada suhu kamar. Campuran selanjutnya disaring dan dicuci dengan aquades hingga filtrat menunjukkan pH sama dengan pH aquades. Kemudian dilakukan proses ammoniasi dengan merendam zeolit yang dinetralkan ke dalam NH₄OH 2 M dengan pengadukan selama 4 jam pada suhu kamar. Setelah diperoleh NH₄-zeolit dilakukan deammoniasi untuk memperoleh H-Zeolit. Untuk itu, dilakukan kalsinasi pada suhu 500°C selama 4 jam.

3.4.1.3 Perlakuan dengan HCl dan NH₄OH

Sebanyak 10 gram zeolit alam direfluks dengan 100 mL HCl 6 N pada suhu 60°C selama 1 jam. Campuran selanjutnya disaring dan dicuci dengan aquades hingga filtrat menunjukkan pH sama dengan pH aquades. Kemudian zeolit direndam dalam NH₄OH 2 M dengan pengadukan selama 4 jam pada suhu kamar. Setelah diperoleh NH₄-zeolit dilakukan deammoniasi untuk memperoleh H-Zeolit dengan melakukan kalsinasi pada suhu 500°C selama 4 jam.

3.4.1.4 Perlakuan dengan menggunakan H₂SO₄ dan NH₄OH

Zeolit alam 10 gram direfluks dengan 100 mL H₂SO₄ 0,5 N dengan suhu 60°C selama 4 jam. Campuran selanjutnya disaring dan dicuci dengan aquades hingga filtrat menunjukkan pH sama dengan pH aquades. Kemudian dilakukan proses amoniasi dengan merendam zeolit yang dinetralkan ke dalam NH₄OH 2 M dengan

pengadukan selama 4 jam pada suhu kamar. Setelah diperoleh NH₄-zeolit dilakukan deammoniasi untuk memperoleh H-Zeolit dengan mengkalsinasi pada suhu 500°C selama 4 jam.

3.4.2 Media berpori MCM-41

Sebagai pembanding dalam amobilisasi enzim α -amilase.

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 didiamkan 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 Aktivitas 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 35°C dan waktu 35 menit. Selanjutnya enzim dicelupkan dalam air mendidih selama 5 menit untuk menginaktifkannya. Untuk enzim amobil, ditambahkan 1 mL substrat amilum 2 %, kemudian diinkubasi pada suhu 50°C dan waktu 45 menit. Setelah itu, campuran disentrifuse selama 5 menit dan filtratnya ditambahkan dengan 1 mL Reagen Nelson dan dipanaskan selama 20 menit, dan didinginkan hingga suhu 26°C. Setelah itu ditambahkan 1 mL Reagen Fosfomolibdat dan dikocok hingga sempurna. Lalu ditambahkan 7 mL aquades dan didiamkan selama 30 menit. Absorban larutan di ukur pada panjang gelombang maksimum.

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

Enzim amobil pada pemakaian pertama dibersihkan dari sisa produk. Kemudian ditambahkan dengan 1 mL substrat amilum 2 % pH 5,6 dan diinkubasi pada suhu

50°C dan waktu 45°C. Selanjutnya campuran disentrifuse dan filtratnya ditambahkan dengan 1 mL reagen Nelson dan dipanaskan selama 20 menit, dan didinginkan hingga suhu 26°C. Setelah itu ditambahkan 1 mL reagen fosfomolibdat dan dikocok hingga sempurna. Lalu ditambahkan 7 mL aquades dan diamkan selama 30 menit. Absorban larutan di ukur pada panjang gelombang maksimum. Pada enzim yang telah diamobil penambahan substrat amilum 2 % diulangi untuk mengetahui kemampuan kontinuitas enzim dalam menguraikan substrat.

3.4.6 Karakterisasi Zeolit Sebagai Pengamobilisasi Enzim α -Amilase

Zeolit alam, zeolit yang diaktivasi dan zeolit yang mengamobilisasi enzim dikarakterisasi dengan *Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Rays Spectroscopy* (SEM-EDX) untuk mengamati morfologi dan kandungan komponennya.

BAB IV. HASIL DAN DISKUSI

4.1 Identifikasi 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. Untuk penentuan jenis mineral penyusun zeolit dan oksida-oksida yang terkandung di dalamnya dikarakterisasi dengan difraksi sinar-X, AAS-Flame, Spektrofotometer UV-VIS dan Gravimetri yang telah dilakukan oleh P.T Trijaya Aneka Usaha. Hasil analisis ini dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2. Dari spektra XRD yang didapatkan, nilai 2θ -nya dikoreksikan dengan data JCPDS (*Joint Committe on Powder Diffraction Standars*) dan diketahui jenis mineral di dalam sampel alam tersebut adalah mineral mordenit, klinoptilotit dan kuarsa. Sedangkan oksida-oksida yang terkandung didalam zeolit alam ini yaitu TiO_2 , Fe_2O_3 , Na_2O , K_2O , MgO , CaO , dan MnO_2 .

Dalam penelitian ini dilakukan identifikasi zeolit alam tersebut dengan SEM-EDX dan hasilnya dapat dilihat pada gambar 10 dan 11. Dari gambar 10 (a) dapat dilihat morfologi permukaan zeolit alam tersebut masih kasar, rapat dan pori-porinya kelihatan tertutup. Dari hasil analisis EDX yang komposisi kimianya dapat dilihat pada tabel 1, zeolit alam mengandung silika (SiO_2) 75,71 % (wt) dan alumina (Al_2O_3) 14,57 % (wt). Silika dan alumina merupakan kerangka utama dari struktur zeolit. Dari perbandingan ini didapatkan perbandingan rasio Si/Al sebesar 5,19. Rasio Si/Al 5,19 merupakan jenis dari zeolit Si sedang. Hasil ini juga sesuai dengan rasio Si/Al dari klinoptilotit dan modernit dari jenis zeolit Si sedang dengan rasio dalam kisaran 1-10.

4.2 Metoda Aktivasi Zeolit Alam untuk Media Amobilisasi Enzim α -Amylase

Zeolit alam diaktivasi dengan metoda fisika dan metoda kimia. Metoda fisika yaitu dengan pemanasan pada suhu 400°C. Suhu ini dipilih sebagai proses aktivasi karena berdasarkan penelitian yang telah dilakukan R. Dian Kusuma dan Fendy Anthonius L (2010) yang melakukan variasi suhu pemanasan pada aktivasi

zeolit alam dan didapatkan kemampuan menyerap uap air lebih besar ketika zeolit dipanaskan pada suhu 400°C selama 4 jam. Metoda kimia dengan larutan HCl 6 N yang merupakan kondisi optimum untuk dealuminasi zeolit alam Wonosari yang telah dilakukan oleh Ermawati pada tahun 2003, larutan H_2SO_4 0,5 N dan larutan NaOH 2 N yang diperoleh dari berbagai sumber literatur.

Dari hasil uji aktivitas katalitik enzim α -amilase terhadap substrat amilum, didapatkan nilai aktivitas enzim terbesar pada enzim yang diamobilisasi pada zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N. Untuk melihat pengaruh metoda aktivasi zeolit terhadap aktivitas enzim α -amilase maka dilakukan karakterisasi SEM-EDX hanya untuk zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N dan pemanasan.

a. Aktivasi zeolit alam dengan metoda fisika (pemanasan suhu 400°C)

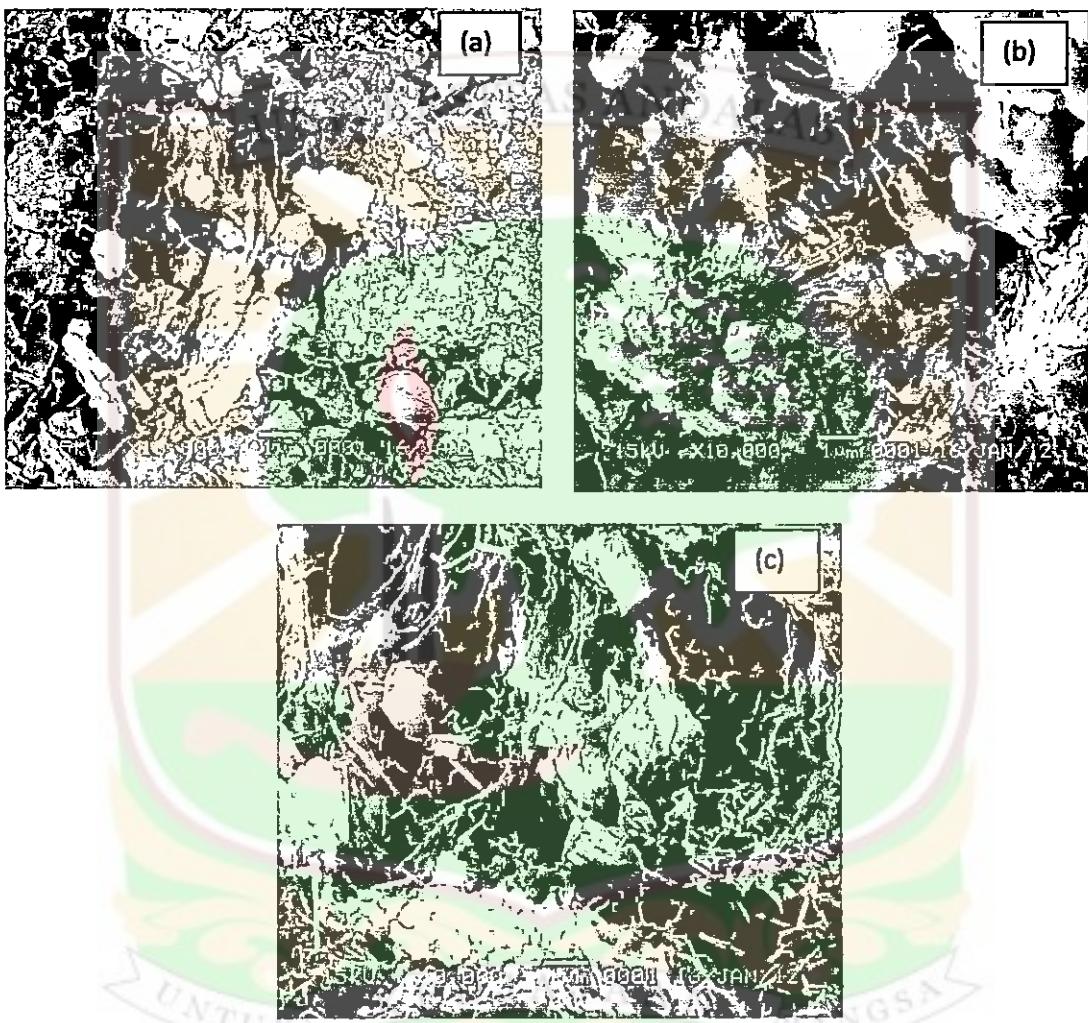
Proses ini bertujuan untuk meningkatkan sifat-sifat khusus zeolit dengan cara menghilangkan unsur-unsur pengotor dan menguapkan air yang terperangkap dalam pori kristal zeolit. Selain itu, proses ini juga bertujuan untuk meregangkan ruang antar pori sehingga memperbesar ukuran pori. Bentuk morfologi permukaan zeolit alam yang diaktivasi dengan metoda ini dapat dilihat pada foto SEM gambar 10 (b). Dari hasil foto SEM, zeolit yang diaktivasi dengan pemanasan memiliki rongga-rongga kelihatan lebih terbuka dan permukaan yang lebih halus jika dibandingkan dengan zeolit alam yang belum mendapat perlakuan.

b. Aktivasi zeolit alam secara kimia dengan larutan HCl 6 N

Perlakuan untuk aktivasi zeolit dengan metoda kimia menggunakan larutan asam HCl 6 N dan H_2SO_4 0,5 N. Sedangkan untuk larutan basa menggunakan NaOH 2 N. Kemudian masing-masing perlakuan ini dilanjutkan dengan menggunakan NH_4OH 2 M untuk membentuk NH_4 -zeolit yang kemudian dikalsinasi pada suhu 500°C . Dari reaksi pada gambar 3 dapat dilihat kalsinasi menyebabkan terlepasnya ammonia dalam bentuk gas dan terbentuknya padatan aluminium hidroksida sehingga pori-pori zeolit semakin terbuka.¹²

Perlakuan asam dan basa terhadap zeolit bertujuan untuk meningkatkan rasio Si/Al yang terkandung didalamnya karena terjadinya proses dealuminasi. Dengan meningkatnya rasio Si/Al, maka meningkat pula tingkat keasaman zeolit.

Dealuminasi terjadi terutama pada proses perendaman dengan larutan asam dan basa, sehingga Al dalam kerangka terekstrak. Dengan keluarnya Al dalam kerangka, terjadilah peningkatan rasio Si/Al.^(11,19) Proses pelepasan Al dalam kerangka menjadi Al di luar kerangka dapat dilihat pada gambar 3.

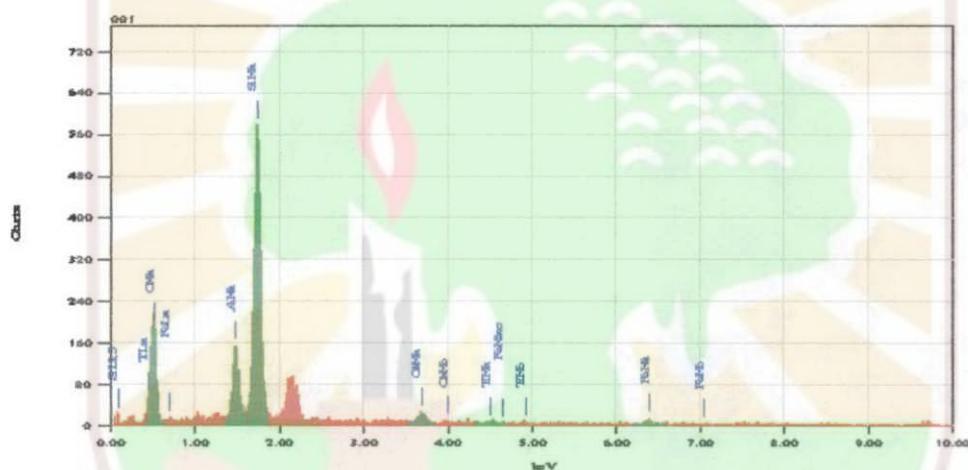


Gambar 10. Foto SEM zeolit alam dengan perbesaran 10.000 kali (a) tanpa aktivasi (b) aktivasi dengan pemanasan suhu 400°C (c) aktivasi dengan HCl 6 N

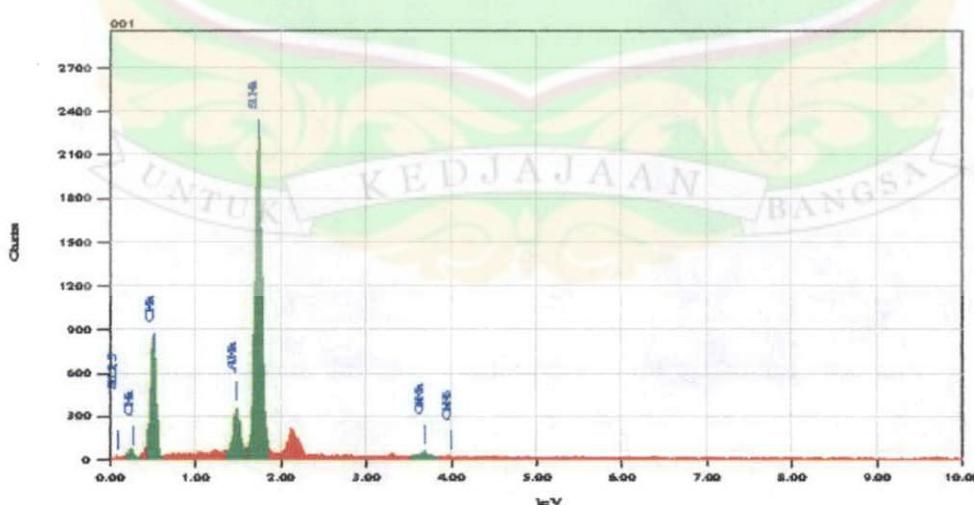
Dari gambar 10 (c) dapat dilihat zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N memiliki rongga dan ruang terbesar. Perlakuan dengan HCl 6 N menyebabkan pori-pori zeolit menjadi lebih terbuka yang disebabkan karena melarutnya senyawa-senyawa pengotor yang menutupi pori-pori zeolit.

Dari tabel 1 dapat dilihat komposisi kimia zeolit yang telah diaktivasi dengan HCl 6 N tersebut. Zeolit yang telah diaktivasi dengan metoda ini memiliki kandungan silika 81,50 % (wt) dan alumina 9,00 % (wt), sehingga perbandingan rasio Si/Al sebesar 9,05. Hal ini menunjukkan terjadinya peningkatan rasio Si/Al setelah diaktivasi. Rasio Si/Al 9,05 ini mendekati jenis zeolit Si tinggi yang mempunyai kadar perbandingan Si/Al antara 10-100.

Perbedaan komponen kimia penyusun zeolit alam dan zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N, dapat dilihat pola EDX pada gambar 11 dan 12 dan komponennya pada tabel 1.



Gambar 11. Pola EDX dari zeolit alam gunung Kidul, Yogyakarta



Gambar 12. Pola EDX dari zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N

Tabel 1. Kompisi komponen penyusun zeolit alam dan zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N berdasarkan hasil EDX

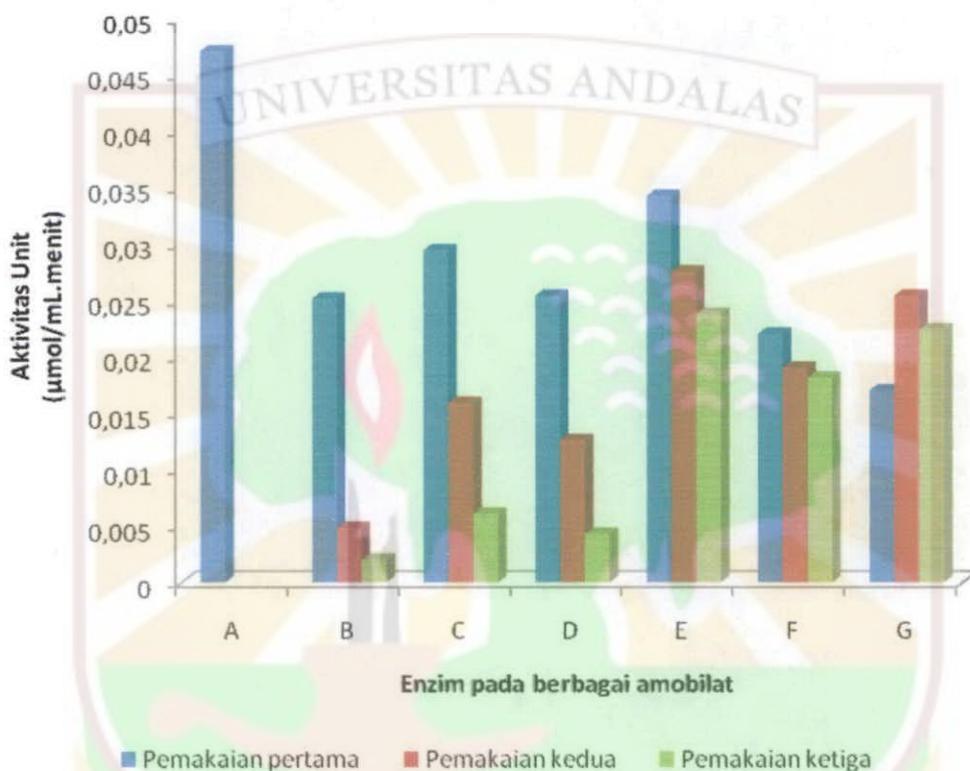
Unsur	Zeolit Alam Wt (%)	Zeolit aktif Wt (%)	Senyawa	Zeolit Alam Wt (%)	Zeolit aktif Wt (%)
Al	7,71	4,76	Al ₂ O ₃	14,57	9,00
Si	35,39	38,10	SiO ₂	75,71	81,50
O	49,91	48,18	-	-	-
Ca	2,74	1,36	CaO	3,83	1,90
Ti	1,10	-	TiO ₂	1,84	-
Fe	3,15	-	FeO	4,06	-
C	-	7,60	C	-	7,60

Dari hasil EDX pada tabel 1, zeolit alam mengandung CaO sebesar 3,83 %, sedangkan pada zeolit yang telah diaktivasi dengan HCl 6 N menurun menjadi 1,90 %. Untuk senyawa TiO₂ dan FeO pada zeolit alam berturut-turut 1,84 % dan 4,06 %, sedangkan pada zeolit yang diaktivasi tidak mengandung senyawa ini. Ini membuktikan aktivasi zeolit alam dengan HCl 6 N telah membersihkan zeolit dari oksida-oksida pengotor, seperti TiO₂ dan FeO serta berkurangnya persentase CaO. Silika dan alumina bergeser persentasenya dengan bertambahnya persentase silika dan berkurangnya alumina. Hal ini membuktikan perlakuan asam telah mengeluarkan sebagian aluminium dari kerangka zeolit dan menghilangkan oksida pengotor.

4.3 Aktivitas Katalitik Enzim yang Diamobil dengan Zeolit Baik yang Diaktivasi maupun yang tidak

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 yang

digunakan sebagai pengamobil adalah zeolit alam, zeolit alam yang diaktivasi dan sebagai pembanding aktivitas katalitiknya digunakan silika mesopori (MCM-41). Silika mesopori (MCM-41) memiliki karakteristik pori berbentuk heksagonal yang seragam dan memiliki diameter pori 15-100 \AA .⁽²⁰⁾



Gambar 13. Aktivitas enzim terhadap substrat amilum (A) Aktivitas enzim tanpa amobilisasi (B) Aktivitas enzim yang diamobilisasi pada zeolit tanpa aktivasi (C) Aktivitas enzim yang diamobilisasi pada zeolit yang diaktifasi dengan pemanasan pada suhu 400°C (D) Aktivitas enzim yang diamobilisasi pada zeolit yang diaktifasi dengan NaOH 2 N (E) Aktivitas enzim yang diamobilisasi pada zeolit aktivasi dengan HCl 6 N (F) Aktivitas enzim yang diamobilisasi pada zeolit yang aktivasi dengan H_2SO_4 0,5 N (G) Aktivitas enzim yang diamobilisasi pada silika mesopori (MCM-41)

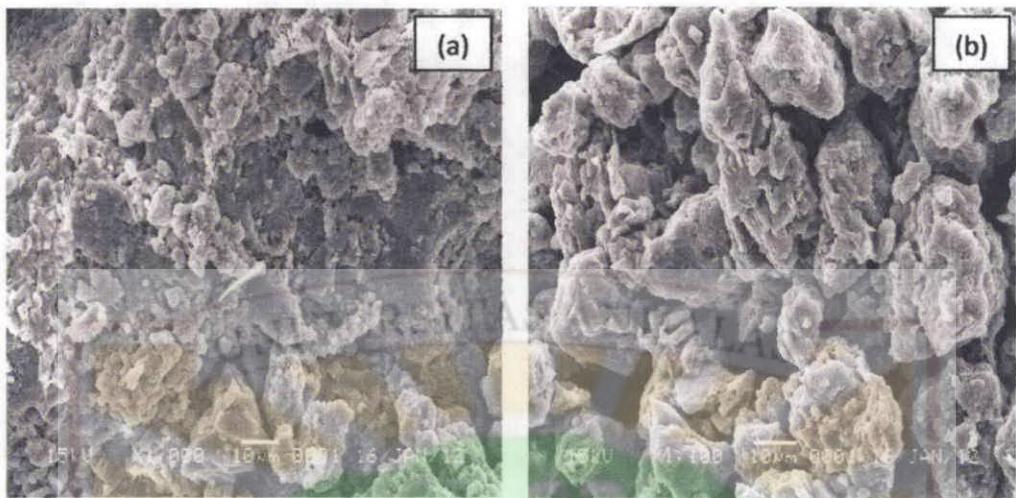
Pada gambar 13 dapat dilihat bahwa enzim yang diamobilisasi dengan berbagai zeolit yang diaktifasi maupun yang tidak memiliki nilai aktivitas katalitik lebih kecil jika dibandingkan dengan enzim tanpa amobil, hal ini disebabkan enzim yang teramobil memiliki halangan ruang dalam proses

katalitiknya. Sedangkan diantara enzim amobil, enzim yang diamobilisasi dengan zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N memiliki aktivitas katalitik yang paling besar. Pada pemakaian keduapun, nilainya tetap lebih besar. Hal ini mungkin disebabkan rongga zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N paling sesuai dengan ukuran enzim sehingga kedudukan enzim yang teramobil semakin kuat dalam rongga zeolit.

Dapat juga dilihat kemampuan aktivitas enzim pada pemakaian berulang yang diamobilisasi pada zeolit tanpa aktivasi pada pemakaian kedua, nilai aktivitas katalitiknya jauh merosot tajam. Perbedaan nilai aktivitas katalitik yang cukup stabil antara pengulangan pemakaian amobilat zeolit yang diaktivasi menunjukkan jumlah enzim yang terperangkap bertahan didalam kerangka zeolit dan enzim bekerja fleksibel pada sisi aktifnya. Sedangkan nilai aktivitas enzim yang merosot tajam, berkemungkinan karena enzim terlepas ketika pemakaian yang pertama atau tertutupnya sisi aktif enzim oleh produk pada kerangka zeolit. Dan jika dibandingkan dengan Silika Mesopori (MCM-41) yang merupakan material yang memiliki ukuran pori antara 15 – 100 °A, nilai aktivitas enzim masih lebih besar ketika diamobilisasi pada zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N.

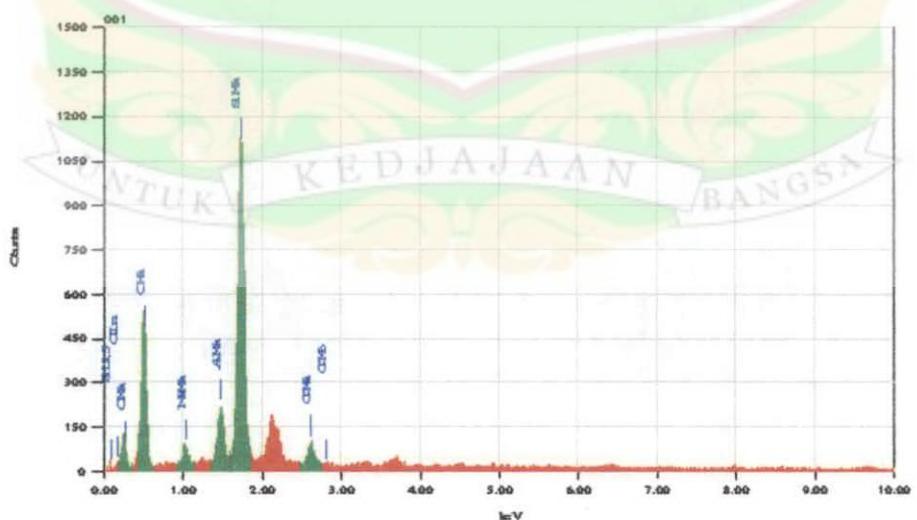
4.4 Karakterisasi Enzim yang Diamobilisasi

Enzim amobil yaitu enzim yang secara fisik dibatasi geraknya atau ditempatkan pada suatu ruang dengan tetap dipertahankan sifat katalitiknya dan dapat digunakan secara berulang-ulang. Teknik ini digunakan agar enzim tidak bergerak, baik melalui pengikatan pada padatan pendukung maupun penjebakan pada matriks. Dengan menggunakan zeolit sebagai amobilat, enzim diamobilisasi dengan teknik penjebakan enzim dalam rongga-rongga zeolit. Sehingga semakin sesuai rongga zeolit dengan ukuran enzim, semakin kuatlah kedudukan enzim dalam rongga zeolit, sehingga tidak mudah lepas dan sifat katalitiknya juga bisa dipertahankan.⁽¹⁶⁾ Pada penelitian ini enzim diamobilisasi dengan metoda penjebakan tipe kisi melalui adsorbsi enzim oleh zeolit.



Gambar 14. Foto SEM enzim diamobilisasi pada (a) zeolit yang diaktivasi dengan pemanasan suhu 400°C (b) zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N (perbesaran 1000 kali)

Dari foto SEM pada gambar 14, bisa dilihat perbedaan dari morfologi permukaan enzim yang diamobilisasi pada zeolit dengan aktivasi berbeda. Enzim lebih banyak terjebak pada permukaan zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N, dibandingkan pada zeolit yang diaktivasi dengan pemanasan suhu 400°C . Hal ini sesuai dengan hasil aktivitas katalitik enzim yang paling besar terjadi pada enzim yang diamobilisasi pada zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N.



Gambar 15. Pola EDX dari enzim yang diamobilisasi dengan zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N

Tabel 2. Komposisi komponen penyusun zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N dan zeolit yang mengamobilisasi enzim α -amilase berdasarkan hasil EDX

Unsur	Zeolit aktif Wt (%)	Zeolit aktif + enzim Wt (%)	Senyawa	Zeolit aktif Wt (%)	Zeolit aktif + enzim Wt (%)
Al	4,76	4,60	Al ₂ O ₃	9,00	8,70
Si	38,10	29,71	SiO ₂	81,50	63,55
C	7,60	21,54	C	7,60	21,54
O	48,18	38,66	-	-	-
Ca	1,36	-	CaO	1,90	-
Cl	-	2,621	Cl	-	3,41
Na	-	2,07	Na ₂ O	-	2,79

Berdasarkan hasil EDX tabel 2 dapat dilihat pada zeolit yang mengamobilisasi enzim α -amilase adanya peningkatan unsur karbon dari 7,60 % menjadi 21,54 %. Unsur karbon merupakan penyusun dari asam-asam amino protein telah mengisi rongga-rongga zeolit. Kemunculan Na dan Cl dalam zeolit yang mengamobilisasi enzim berasal dari larutan enzim α -amilase yang digunakan, dimana elektrolit ini sebagai penstabil enzim dalam proses pengekstrakannya. Hal ini membuktikan bahwa enzim α -amilase telah berada di permukaan zeolit alam yang telah diaktivasi.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang telah dilakukan dapat disimpulkan beberapa hal, yaitu :

1. Zeolit alam dapat digunakan sebagai media untuk amobilisasi enzim α -amilase.
2. Hasil uji aktivitas katalitik enzim α -amilase terhadap substrat amilum, didapatkan nilai aktivitas terbesar pada enzim yang diamobilisasi pada zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N dengan aktivitas unit pada pemakaian pertama sebesar 0,034236 unit/mL.
3. Enzim yang diamobilisasi pada zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N dan H₂SO₄ 0,5 N mampu mempertahankan aktivitas katalitik dengan penurunan aktivitas yang berkisar antara 13 – 30 % dengan dua kali pengulangan.

5.2 Saran

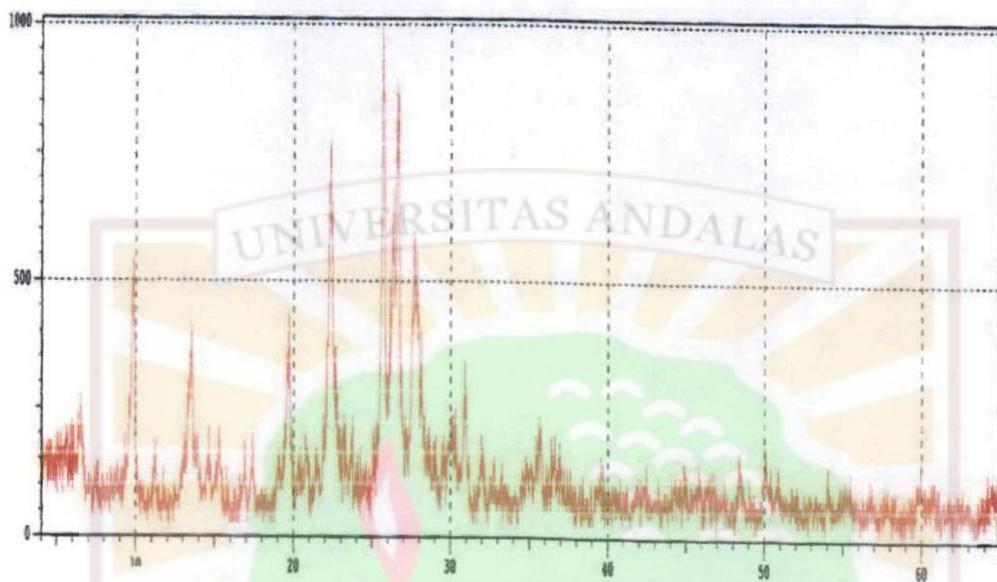
Dalam proses menetralkan zeolit dari larutan asam maupun basa, zeolit bisa direndam dengan aquades satu malam untuk memudahkan dalam menetralkan. Untuk penelitian selanjutnya juga bisa menambahkan data karakterisasi FT-IR dan penentuan ukuran pori dari setiap jenis aktivasi zeolit.

DAFTAR PUSTAKA

1. S. Samuel Pati, Hens Saputra, Ade Sholeh H, Mochamad Rosjidi dan Anwar Mustafa. 2004. *Prospek Aplikasi Produk Berbasis Zeolit untuk Slow Release Substance (SRS) dan Membran*. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. Jakarta,
2. R. Dian Kusuma dan Fendy Anthonius L. 2010. *Optimasi Aktivasi Zeolit Alam Untuk Dehumidifikasi*. Universitas Diponegoro. Semarang,
3. S. Mursi dan Minta Rachmawati. 1994. Zeolit: Tinjauan Literatur. Jakarta: Pusat Dokumentasi dan Informasi Ilmiah.
4. F. Dewi. 2009. *Peningkatan Kualitas Zeolit Alam Cikancra,Tasikmalaya, Dengan Metoda Asam Mineral: Sebuah Pengujian Karakter Fisiko-Kimia, Melalui Analisis Tukar Kation, Atomic Absorption Spectrometer (AAS), SEM dan XRD*. Puslit Geoteknologi LIPI. Bandung,
5. S. Siswa, Achmadin Luthfi Machsum dan Renny S Mokodongan. 2011. *Kitin sebagai Penopang untuk Amobilisasi Lipase pada Proses Trans-esterifikasi Triglicerida*. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. Jakarta,
6. A. Johni. 2006. *Penentuan Kondisi Optimum Fermentasi Aspergillus Oryzae Untuk Isolasi Enzim Amilase Pada Medium Pati Biji Nangka (Arthocarpus Heterophilus Lmk)*. Universitas Riau. Pekanbaru,
7. Richana. N, Gagan Maulana Yusuf, Pull Lestari dan Djoko Said Damardjati. 1999. Perilaku Kultivasi Isolat Bakteri Termofil Penghasil α -Amilase Cultivation of Thermophilic Bacteria Isolate of α -Amylase Production. *Mikrobiologi Indonesia IV* (2): 35-39
8. L. Agrina. 2011. *Pemanfaatan Zeolit Alam Yang Telah Diaktivasi Sebagai Media Pendukung Amobilisasi Enzim α -Amilase*. Universitas Andalas. Padang,
9. F. A'tina. 2007. *Pemanfaatan Zeolit Aktif Untuk Menurunkan Bod Dan Cod Limbah Tahu*. Universitas Negeri Semarang. Semarang,
10. F. Iis. 2000. *Penggunaan Na-Zeolit Alam Teraktivasi sebagai Penukar Ion Cr³⁺ dalam Larutan*. Universitas Islam Indonesia. Jakarta,
11. W. Lusiana. 2007. *Reaksi Metanolisis Minyak Biji Jarak Pagar Menjadi Metil Ester Sebagai Bahan Bakar Pengganti Minyak Diesel Dengan Menggunakan Katalis KOH*. Universitas Negeri Semarang. Semarang,

12. Mutngimaturrohmah, Gunawan dan Khabibi. 2005. *Aplikasi Zeolit Alam Terdealuminasi dan Termodifikasi HDTMA sebagai Adsorben Fenol*. Universitas Diponegoro, Semarang,
13. Lehninger, A.L. 1997. Dasar-dasar Biokimia. Jakarta: Erlangga
14. S. Dessy Christina. 2008. *Isolasi Bakteri Dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar Dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara*. Universitas Sumatera Utara. Medan,
15. S. Nurhalijah. 2008. *Isolasi Bakteri Dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar Dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara*. Universitas Sumatera Utara. Medan,
16. Tri-Panji, Khaswar Syamsu, Suharyanto dan Imam Fathurachman. 2001. Amobilisasi Desaturase Asal Absidia Corymbifera Menggunakan Butiran Tulang Sapi dan Zeolit. *J. Tekn. Ind. Pert. Vol. II* (3): 101-107
17. Chibata, I. 1978. Immobilized Enzymes: Research and Development. Halsted Press. Kadansha. Tokyo.
18. R. Dwi Karsa Agung, Gitandra Wiradini dan Nugroho Pratomo Aryanto. 2007. *Pembuatan Adsorben dari Zeolit Alam dengan Karakteristik Adsorption Properties untuk Memurnikan Etanol*. ITB, Bandung,
19. Slamet, Meta Ellyana dan Setijo Bismo. 2008. Modifikasi Zeolit Alam Lampung Dengan Fotokatalis TiO₂ Melalui Metode Sol Gel dan Aplikasinya Untuk Penyisihan Fenol. *Jurnal Teknologi*, XXII (1): 59-68
20. Ibadurrahman. 2008. *Pengaruh Konsentrasi Hidrogen Klorida (HCl) dan waktu perlakuan hidrotermal terhadap Kristalitas Material Mesopori Silika SBA-15*. Universitas Indonesia, Jakarta,
21. Ermawati, Y. 2003. *Pengaruh Konsentrasi HCl dan NH₄NO₃ Terhadap Dealuminasi Zeolit Alam Wonosari*. Universitas Diponegoro. Semarang,
22. Ahmadi, Kgs. 2009. *Pemurnian Minyak Ikan Hasil Samping Penepungan Ikan Lemuru (Sardinella longiceps) menggunakan Zeolit Alam Teraktivasi*. Universitas Tribhuwana Tunggadewi. Malang.

Lampiran 1. Hasil Analisis XRD Dari Zeolit Alam



Gambar 16. Hasil Analisis XRD Dari Zeolit Alam

Lampiran 2. Hasil Analisis Zeolit Alam dengan AAS-Flame, Spektro UV-VIS dan Grafimetri



UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU

DP5.100ULPPT
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 Ngilpar – Sambipitu Km. 2, Kedungkeris, Ngilpar, Gunung Kidul, Yogyakarta
Nomor sampel	: 162-02-001-4587
Nama sampel	: Zeolit
Jumlah sampel	: 1
Parameter uji	: MnO ₂ , Fe ₂ O ₃ , CaO, MgO, Cr ₂ O ₃ , K ₂ O, Na ₂ O, SiO ₂ , TiO ₂ , 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

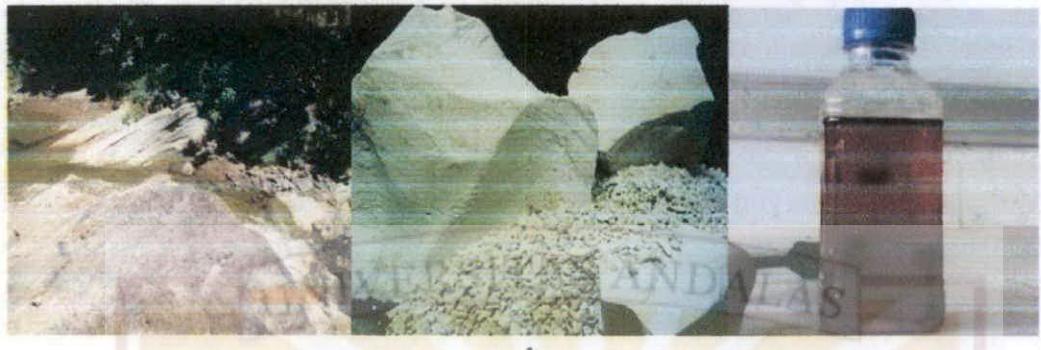
Yogyakarta, 12 Oktober 2009
Manajer Teknik,

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

Lampiran 3. Bahan baku yang digunakan



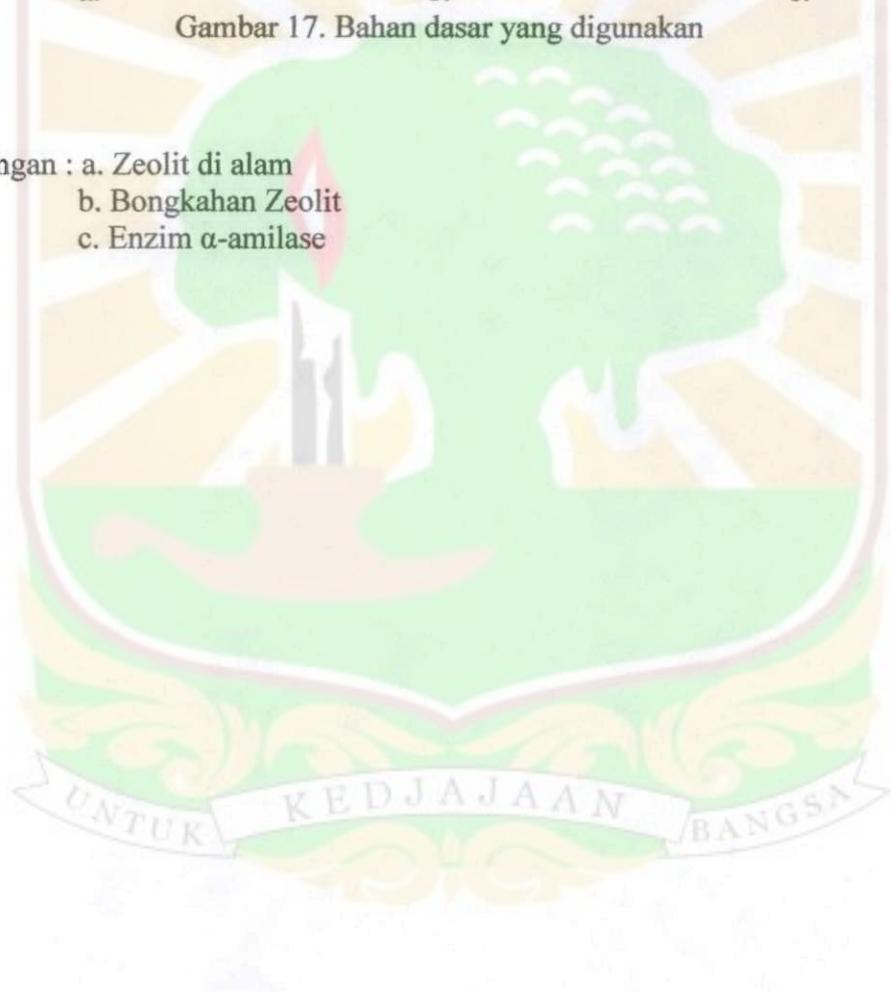
a.

b.

c.

Gambar 17. Bahan dasar yang digunakan

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



Lampiran 4. Skema Kerja Penelitian

1. Aktivasi Zeolit

a. Perlakuan dengan panas

Zeolit alam 10 gram

Dipanaskan pada suhu 400°C selama 4 jam

Zeolit teraktivasi

b. Perlakuan dengan NaOH dan NH₄OH

Zeolit alam 10 gram

Di dalam 100 mL NaOH 2M
Diaduk selama 6 jam pada suhu kamar
Disaring dan dicuci sampai netral dengan aquades

Zeolit bebas logam pengotor

Di aduk dalam NH₄OH 2 M selama 4 jam
Disaring dan dicuci sampai netral dengan aquades
Dikalsinasi pada suhu 500°C selama 4 jam

Zeolit teraktivasi

c. Perlakuan dengan HCl dan NH₄OH

Zeolit alam 10 gram

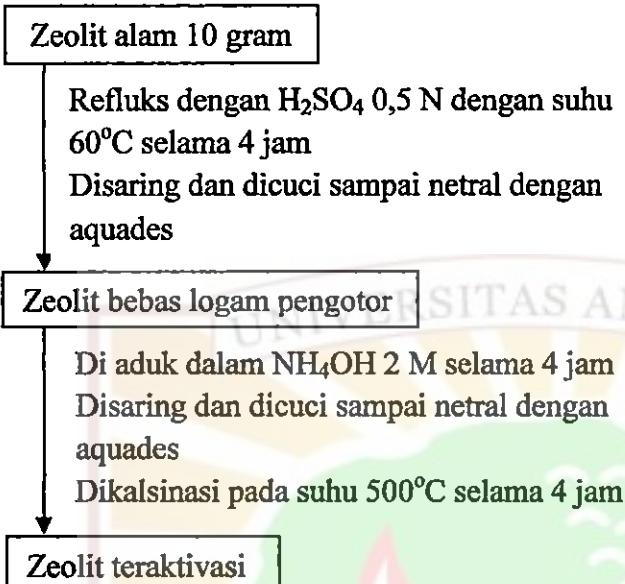
Refluks dalam HCl 6 N selama 2 jam
Disaring dan dicuci sampai netral dengan aquades

Zeolit bebas logam pengotor

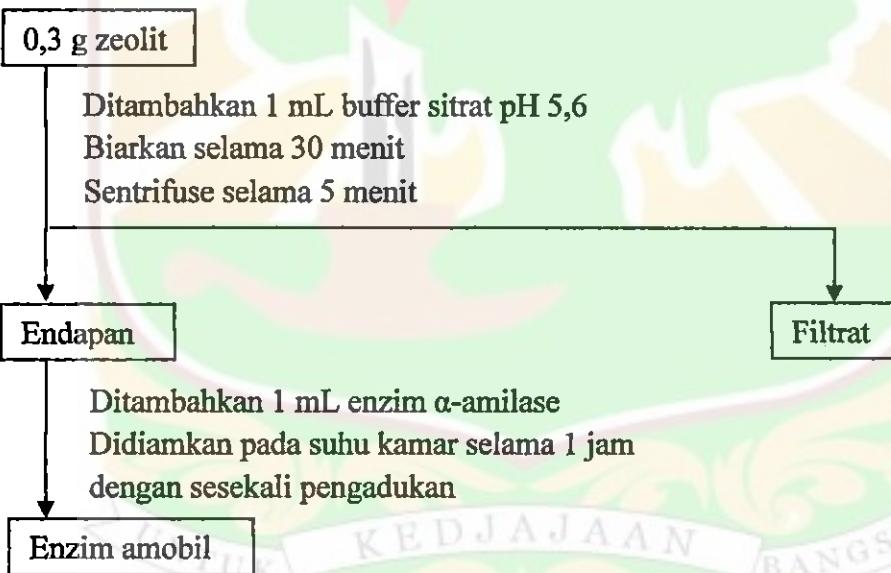
Di aduk dalam NH₄OH 2 M selama 4 jam
Disaring dan dicuci sampai netral dengan aquades
Dikalsinasi pada suhu 500°C selama 4 jam

Zeolit teraktivasi

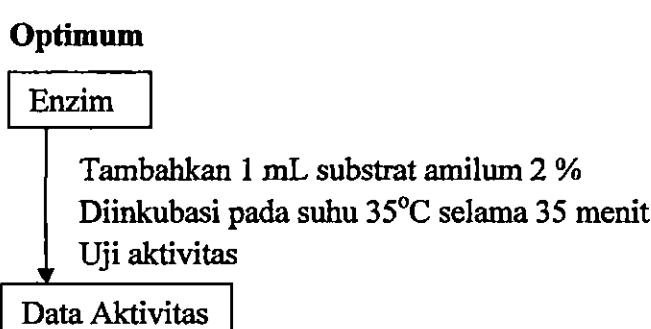
d. Perlakuan dengan H_2SO_4 dan NH_4OH



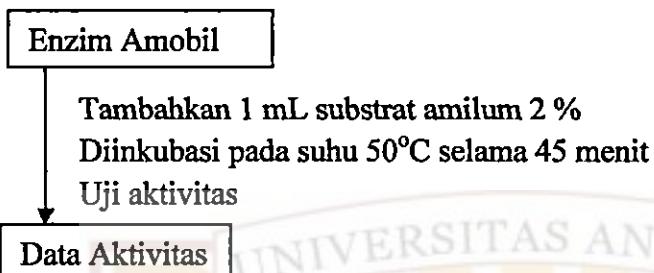
2. Amobilisasi Enzim α -amilase



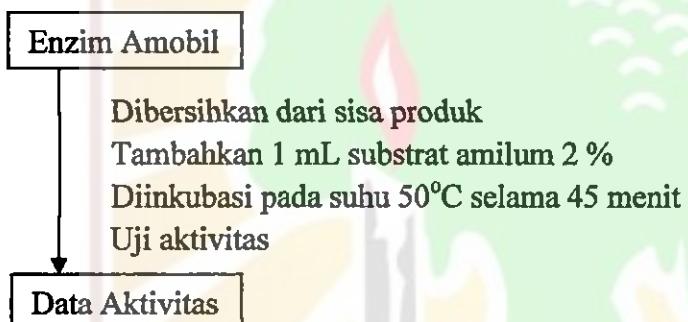
3. Penentuan Aktivitas Enzim α -Amilase Sebelum Amobilisasi Pada Kondisi Optimum



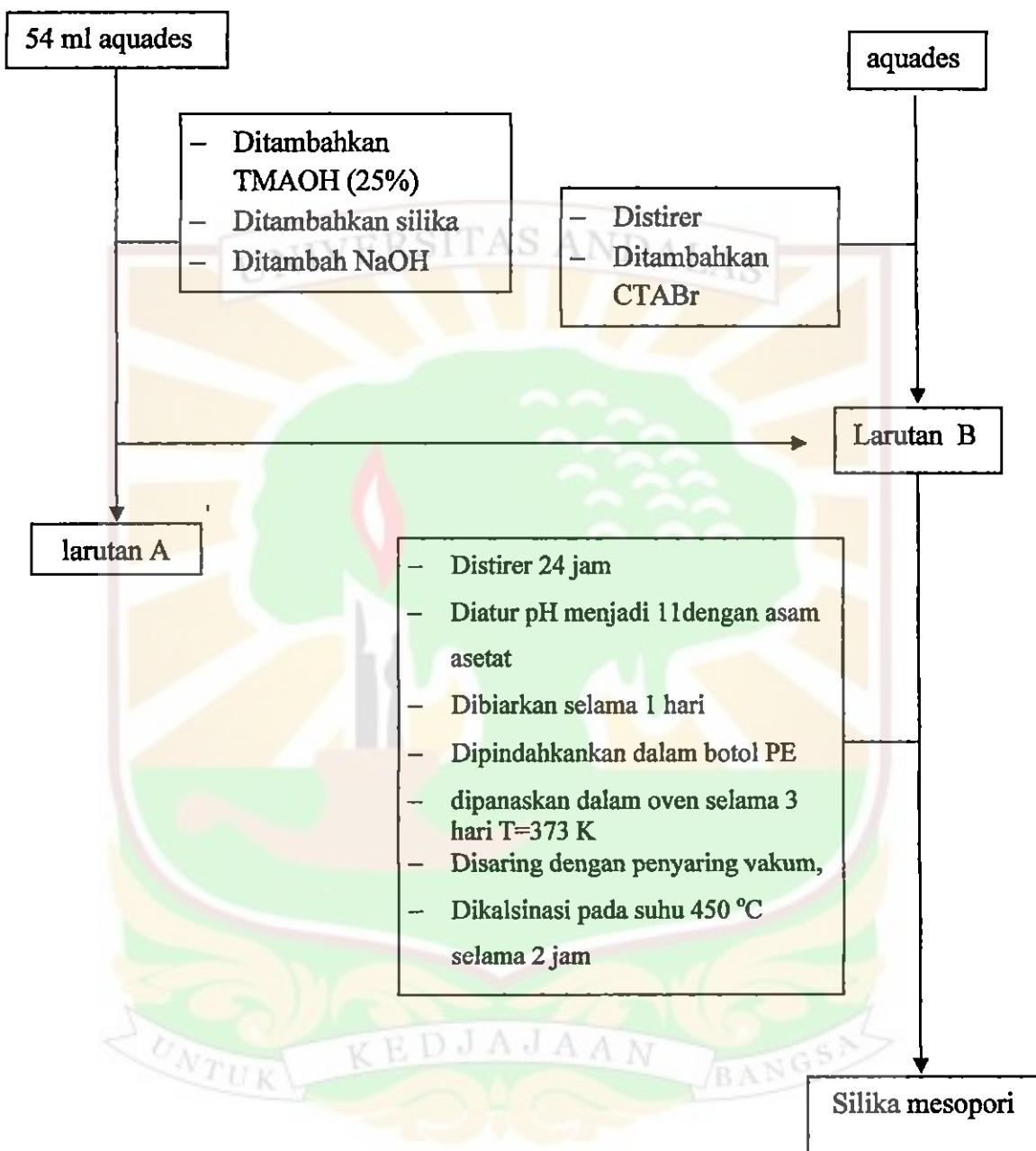
4. Penentuan Aktivitas Enzim α -Amilase Setelah Amobilisasi Pada Kondisi Optimum



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



Lampiran 5. Skema Pembuatan Silika Mesopori (MCM-41)



Lampiran 6. Proses Aktivasi Zeolit Alam



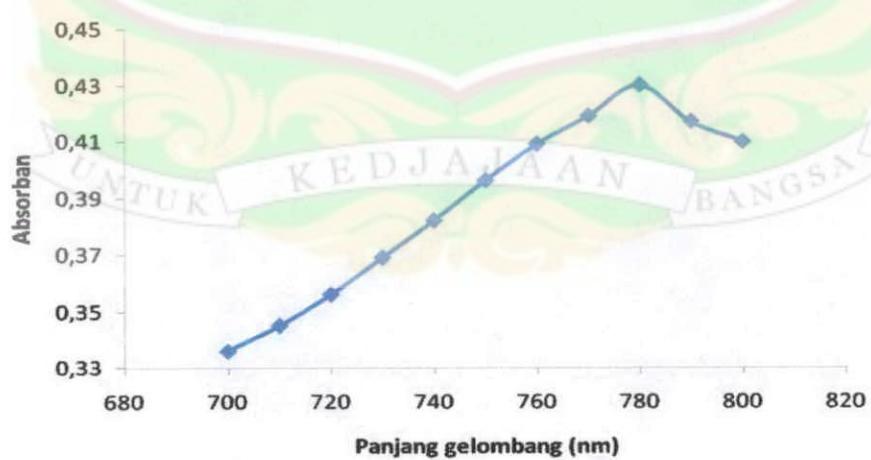
Gambar 18. Proses aktivasi zeolit

- Keterangan:
- a. Zeolit diaktifasi dengan NaOH 2 M
 - b. Zeolit direfluks dengan HCl 6 N
 - c. Zeolit direfluks dengan H_2SO_4 0,5 N
 - d. Pencucian zeolit yang diaktifasi dengan HCl 6 N dengan aquades

Lampiran 7. Data Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum untuk Pengukuran Konsentrasi Maltosa secara Spektrofotometri

Tabel 3. Panjang gelombang maksimum larutan standar maltosa

Panjang gelombang (nm)	Absorban (A)
700	0,336
710	0,345
720	0,356
730	0,369
740	0,382
750	0,396
760	0,409
770	0,419
780	0,430
790	0,417
800	0,41



Gambar 19. Kurva panjang gelombang maksimum larutan standar maltosa

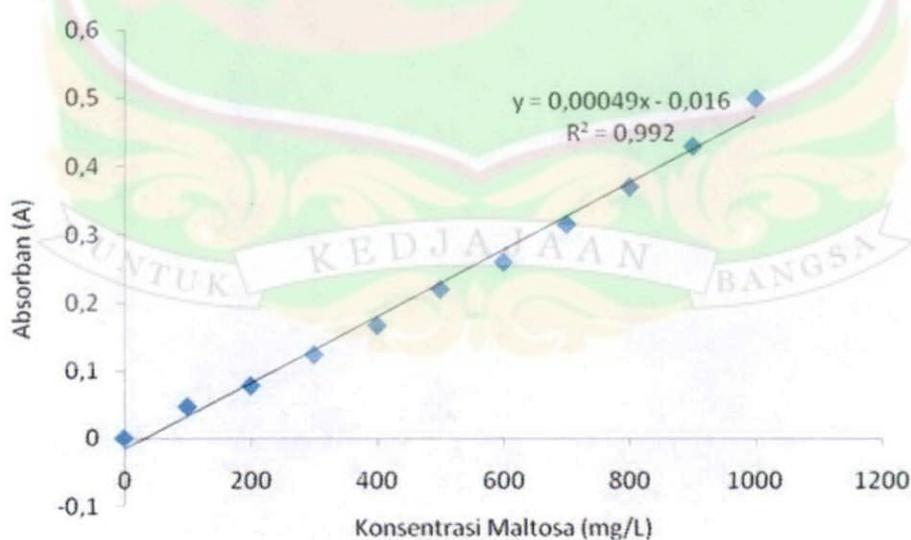
Lampiran 8. Data Pembuatan Persamaan Regresi Standar Maltosa

Tabel 4. Nilai absorban larutan standar maltosa variasi konsentrasi

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorban (A)
0	0,000
100	0,047
200	0,078
300	0,124
400	0,167
500	0,220
600	0,260
700	0,315
800	0,370
900	0,430
1000	0,500

Persamaan regresi yang diperoleh: $y = -0,0164 + 0,00049x$

Kurva persamaan regresi tersebut dapat digambarkan:



Gambar 20. Kurva persamaan regresi larutan standar maltosa

Lampiran 9. Data kondisi optimum perlakuan terhadap enzim α -amylase

Tabel 5. Data kondisi optimum perlakuan terhadap enzim α -amylase

Bentuk Perlakuan		Kondisi Optimum
pH		5,6
Suhu	a. Enzim tanpa amobil	35°C
	b. Enzim amobil	50°C
Waktu	a. Enzim tanpa amobil	35 menit
	b. Enzim amobil	45 menit



Lampiran 10. Data Absorban dan Kadar Maltosa Dari Hasil Katalitik Enzim α -amilase

Tabel 6. Data absorban dan kadar maltosa dari hasil katalitik enzim α -amilase

Jenis	A ₁	A ₂	A ₃	C ₁ (μ g/mL)	C ₂ (μ g/mL)	C ₃ (μ g/mL)
Enzim	0,390	-	-	829,3878	-	-
Enzim + Amobilat I	0,264	0,102	0,080	572,2449	241,6327	196,7347
Enzim + Amobilat II	0,298	0,190	0,112	641,6327	421,2245	262,0408
Enzim + Amobilat III	0,266	0,164	0,098	576,3265	368,1633	233,4694
Enzim + Amobilat IV	0,336	0,283	0,253	719,1837	611,0204	549,7959
Enzim + Amobilat V	0,239	0,215	0,208	521,2245	472,2449	457,9592
Enzim + Amobilat VI	0,199	0,266	0,242	439,5918	576,3265	527,3469

Keterangan:

Amobilat I = Zeolit tanpa aktivasi

Amobilat II = Zeolit yang diaktivasi dengan pemanasan dengan suhu 400°C

Amobilat III = Zeolit yang diaktivasi dengan NaOH 2 M

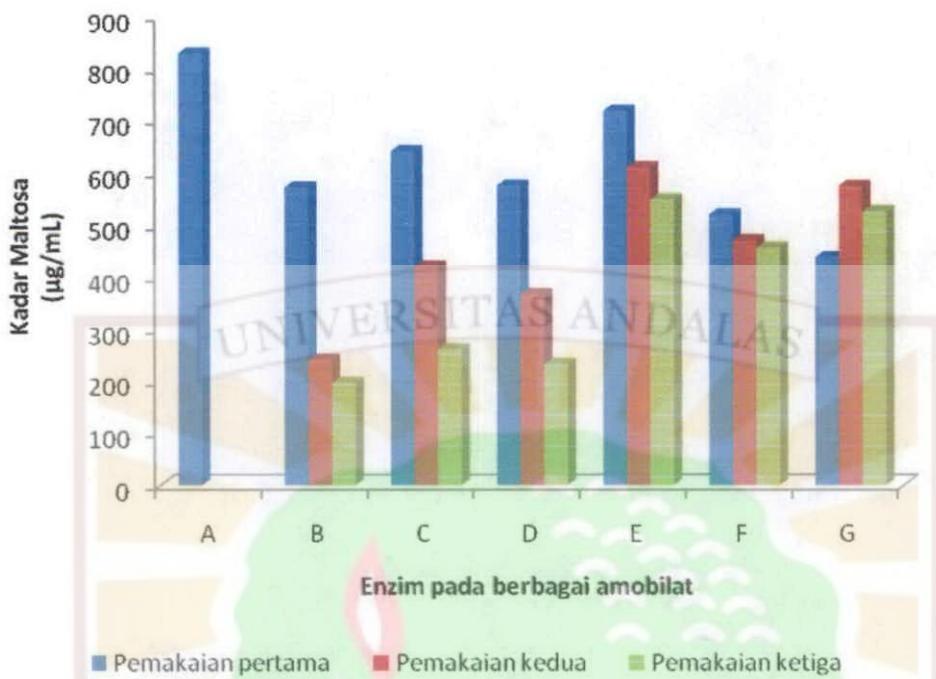
Amobilat IV = Zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N

Amobilat V = Zeolit yang diaktivasi dengan H₂SO₄ 0,5 N

Amobilat VI = Silika mesopori (MCM-41)

A = Absorban

C = Kadar maltosa



Gambar 21. Kadar maltosa dari setiap aktivitas katalitik enzim yang diamobilisasi pada berbagai amobilat terhadap substrat amilum (A) kadar maltosa dari aktivitas enzim tanpa amobilisasi (B) kadar maltosa dari aktivitas enzim pada zeolit tanpa aktivasi (C) kadar maltosa dari aktivitas enzim pada zeolit yang diaktivasi dengan suhu 400°C (D) kadar maltosa dari aktivitas enzim pada zeolit yang diaktivasi dengan NaOH 2 N (E) kadar maltosa dari aktivitas enzim pada zeolit aktivasi dengan HCl 6 N (F) kadar maltosa dari aktivitas enzim pada zeolit yang aktivasi dengan H_2SO_4 0,5 N (G) kadar maltosa dari aktivitas enzim pada silika mesopori (MCM-41)

Lampiran 11. Nilai Aktivitas Katalitik Enzim α -Amilase

Tabel 7. Nilai aktivitas katalitik enzim α -Amilase

Jenis	AE ₁ (μ mol/mL.menit)	AE ₂ (μ mol/mL.menit)	AE ₃ (μ mol/mL.menit)
Enzim	0,047093	-	-
Enzim + Amobilat I	0,025174	0,004783	0,002014
Enzim + Amobilat II	0,029453	0,015859	0,006042
Enzim + Amobilat III	0,025425	0,012587	0,00428
Enzim + Amobilat IV	0,034236	0,027565	0,023789
Enzim + Amobilat V	0,022027	0,019006	0,018125
Enzim + Amobilat VI	0,016992	0,025425	0,022405

Keterangan :

AE = Aktivitas Enzim

Amobilat I = Zeolit tanpa aktivasi

Amobilat II = Zeolit yang diaktivasi dengan pemanasan dengan suhu 400°C

Amobilat III = Zeolit yang diaktivasi dengan NaOH 2 M

Amobilat IV = Zeolit yang diaktivasi dengan HCl 6 N

Amobilat V = Zeolit yang diaktivasi dengan H₂SO₄ 0,5 N

Amobilat VI = Silika mesopori (MCM-41)

Lampiran 12. Contoh perhitungan aktivitas enzim

Pada enzim amobil pH 5,6 besar nilai absorban yang didapatkan adalah 0,390.

Penentuan Kadar Maltosa :

$$y = -0,0164 + 0,00049 x$$

y = absorban

x = kadar maltosa

$$0,390 = -0,0164 + 0,00049 x$$

$$x = (-0,0164 - 0,039) / -0,00049$$

$$= 829,3878 \mu\text{g/mL}$$

Penentuan Aktivitas Enzim

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

Dimana :

AE	= Aktivitas Enzim	($\mu\text{mol}/\text{mL}\cdot\text{menit}$)
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	= Waktu Inkubasi	(menit)

$$AE = \frac{(829,3878 - 235,51)\mu\text{g/L}}{360,31 \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{mol}} \times 35 \text{ menit}}$$
$$= 0,047093 \mu\text{mol}/\text{mL}\cdot\text{menit}$$

Catt. X_o diperoleh dari data absorban tanpa enzim dengan perlakuan yang sama dengan sampel.