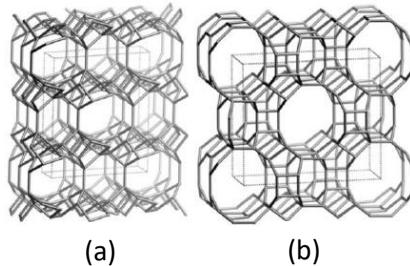


BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zeolit

Zeolit merupakan suatu material yang memiliki rumus kimia secara umum $M_x/n[(AlO_2)_x(SiO_2)_y].mH_2O$. Penggolongan zeolit untuk pertama kali dilakukan oleh mineralogi dari Swedia bernama Axel Cronstedt pada 1756. Zeolit digolongkan dalam kelas aluminosilikat kristal berdasarkan kerangka anion yang kaku dan pori-pori yang berongga. Dengan ukuran rongga antara 200 sampai 2000 pm, zeolit diklasifikasikan sebagai *microporous material*. Zeolit terdiri dari ikatan SiO_4 dan AlO_4 berbentuk tetrahedral dan dihubungkan atom-atom oksigen untuk membentuk kerangka [12].



Gambar 2.1 Struktur Zeolit Alam (a) Klinoptilolit (b) Mordenit [13]

Substitusi $Si(IV)$ oleh $Al(III)$ dalam struktur zeolit menyebabkan perbedaan medan potensial, sehingga masing-masing $[AlO_4]$ tetrahedron harus menyeimbangkan muatan positif. Hal tersebut dapat dilakukan dengan menggantikan kation dari golongan alkali atau alkali tanah dalam kerangkanya oleh kation atau molekul lain tanpa merusak struktur zeolit. Kation atau molekul lain tersebut dapat bergerak bebas sehingga dimungkinkan untuk menjadi matriks dalam amobilisasi enzim [14].

Zeolit dibedakan menjadi zeolit alam dan zeolit sintesis. Zeolit alam ditemukan dalam bentuk mineral dengan komposisi yang berbeda, terutama rasio Si/Al dan komponen minornya. Contoh zeolit alam yang umum ditemukan dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

Zeolit alam terbentuk karena adanya proses kimia dan fisika yang kompleks dari batu-batuan yang mengalami berbagai macam perubahan di alam. Zeolit diperkirakan merupakan produk gunung berapi yang membeku menjadi batuan vulkanik, sedimen, dan metamorfosa dan mengalami pelapukan akibat pengaruh panas dan dingin [15].

Tabel 2.1 Zeolit alam yang umum ditemukan [16]

Zeolit Alam	Komposisi
Analsim	$\text{Na}_{16}(\text{Al}_{16}\text{Si}_{32}\text{O}_{96}) \cdot 16\text{H}_2\text{O}$
Kabasit	$(\text{Na}_2, \text{Ca})_6(\text{Al}_{12}\text{Si}_{24}\text{O}_{72}) \cdot 40\text{H}_2\text{O}$
Klinoptilotit	$(\text{Na}_4\text{K}_4)(\text{Al}_8\text{Si}_{40}\text{O}_{96}) \cdot 24\text{H}_2\text{O}$
Erionit	$(\text{Na}, \text{Ca}_5\text{K})(\text{Al}_9\text{Si}_{27}\text{O}_{72}) \cdot 27\text{H}_2\text{O}$
Ferrierit	$(\text{Na}_2\text{Mg}_2)(\text{Al}_6\text{Si}_{30}\text{O}_{72}) \cdot 18\text{H}_2\text{O}$
Heulandit	$\text{Ca}_4(\text{Al}_8\text{Si}_{28}\text{O}_{72}) \cdot 24\text{H}_2\text{O}$
Laumonit	$\text{Ca}(\text{Al}_8\text{Si}_{16}\text{O}_{48}) \cdot 16\text{H}_2\text{O}$
Mordenit	$\text{Na}_8(\text{Al}_8\text{Si}_{40}\text{O}_{96}) \cdot 24\text{H}_2\text{O}$
Filipsit	$(\text{Na}, \text{K})_{10}(\text{Al}_{10}\text{Si}_{22}\text{O}_{64}) \cdot 20\text{H}_2\text{O}$
Natrolit	$\text{Na}_4(\text{Al}_4\text{Si}_6\text{O}_{20}) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Wairakit	$\text{Ca}(\text{Al}_2\text{Si}_4\text{O}_{12}) \cdot 12\text{H}_2\text{O}$

Tabel 2.2 Rumus oksida beberapa jenis zeolit sintetik [17]

Zeolit	Rumus Oksida
Zeolit A	$\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 4,5\text{H}_2\text{O}$
Zeolit N-A	$(\text{Na}, \text{TMA})_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 4,8\text{SiO}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ TMA – $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$
Zeolit H	$\text{K}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Zeolit L	$(\text{K}_2\text{Na}_2)\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 6\text{SiO}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Zeolit X	$\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2,5\text{SiO}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
Zeolit Y	$\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 4,8\text{SiO}_2 \cdot 8,9\text{H}_2\text{O}$
Zeolit P	$\text{Na}_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2-5\text{SiO}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Zeolit O	$(\text{Na}, \text{TMA})_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 7\text{SiO}_2 \cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$ TMA – $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$
Zeolit Ω	$(\text{Na}, \text{TMA})_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 7\text{SiO}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ TMA – $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$
Zeolit ZK-4	$0,85\text{Na}_2\text{O} \cdot 0,15(\text{TMA})_2\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3,3\text{SiO}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
Zeolit ZK-5	$(\text{R}, \text{Na}_2)\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 4-6\text{SiO}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Sementara zeolit sintetis adalah zeolit yang dibuat secara rekayasa sedemikian rupa, sehingga didapatkan karakter yang lebih baik dari zeolit alam dengan kemurnian yang lebih tinggi dan struktur yang telah diketahui. Zeolit sintetis yang telah ditemukan dalam penelitian ditunjukkan pada **Tabel 2.2** [17].

2.2 Aktivasi Zeolit Alam

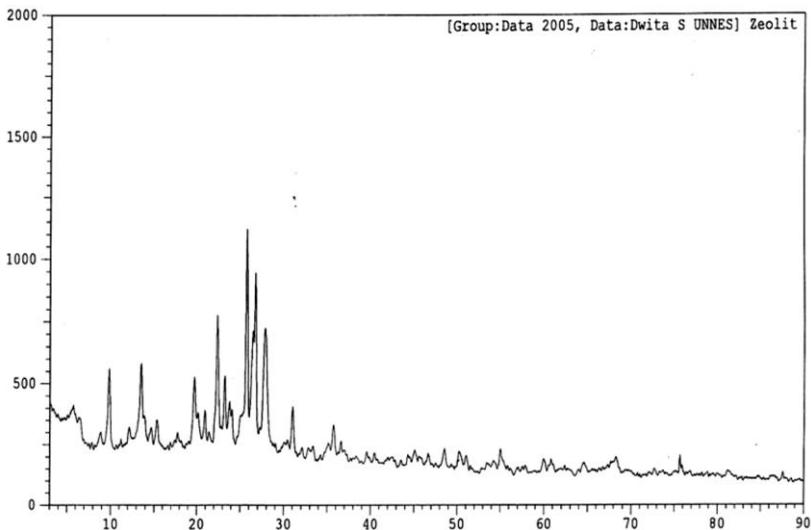
Zeolit alam pada umumnya memiliki ukuran pori yang tidak seragam, aktivitas katalitik rendah dan mengandung cukup banyak pengotor seperti K, Ca, Mg, dan Fe. Oleh sebab itu, perlu dilakukan aktivasi sebelum digunakan. Terdapat dua cara untuk mengaktivasi zeolit yaitu dengan cara kimia dan fisika. Aktivasi dengan cara fisika dilakukan dengan pemanasan sedangkan dengan cara kimia dilakukan dengan pemberian asam atau basa [14]. Proses aktivasi zeolit dengan menggunakan HCl biasa dilakukan pada konsentrasi 0,1 N hingga 1 N. Pengasaman ini menyebabkan zeolit mengalami dealuminasi dan dekationisasi yaitu keluarnya Al dan kation-kation dalam kerangka zeolit. Aktivasi asam menyebabkan terjadinya dekationisasi yang menyebabkan bertambahnya luas permukaan zeolit karena berkurangnya pengotor yang menutupi pori-pori zeolit. Luas permukaan yang bertambah diharapkan meningkatkan kemampuan zeolit dalam proses penjerapan [18].

2.3 Karakterisasi dengan *X-Ray Diffraction*

Teknik *X-Ray Diffraction* (XRD) berperan penting dalam proses analisis padatan kristalin. XRD adalah metode karakterisasi yang digunakan untuk mengetahui ciri utama kristal, seperti parameter kisi dan tipe struktur. Selain itu, XRD juga dimanfaatkan untuk mengetahui rincian lain seperti susunan berbagai jenis atom dalam kristal, kehadiran cacat, orientasi, dan cacat kristal [19]. Data yang diperoleh dari metode karakterisasi XRD adalah sudut hamburan (sudut Bragg) dan intensitas. Berdasarkan teori difraksi, sudut difraksi bergantung kepada lebar celah kisi sehingga mempengaruhi pola difraksi, sedangkan intensitas cahaya difraksi bergantung dari berapa banyak kisi kristal yang memiliki orientasi yang sama [20]. Contoh difraktogram dari zeolit alam ditunjukkan pada **Gambar 2.2**.

Puncak khas yang muncul pada 2θ 20,9064⁰; 26,6800⁰; 6,5700⁰, merupakan puncak untuk kuarsa (Quartz), JCPDS no 5-0490.

Puncak khas pada 2θ $6,4800^{\circ}$; $14,4400^{\circ}$; $19,1720^{\circ}$; $22,3418^{\circ}$; $25,3200^{\circ}$ dan $27,7989^{\circ}$ merupakan puncak untuk mineral mordenit (kristal zeolit), JCPDS no 6-239 [21].



Gambar 2.2 Difraktogram Zeolit Alam Mordenit Malang [21]

2.4 Karakterisasi dengan *X-Ray Fluorescence*

X-Ray Fluoresensi (XRF) merupakan salah satu metode analisis yang sering digunakan untuk analisis unsur dalam suatu material secara kualitatif dan kuantitatif. Prinsip Kerja metode analisis XRF berdasarkan terjadinya tumbukan atom-atom pada permukaan sampel (bahan) oleh sinar-X dari sumber sinar-X [22]. Hasil analisis kualitatif ditunjukkan oleh puncak spektrum yang mewakili jenis unsur sesuai dengan karakteristik energi sinar-X, sedangkan analisis kuantitatif diperoleh dengan cara membandingkan intensitas sampel dengan standar [23].

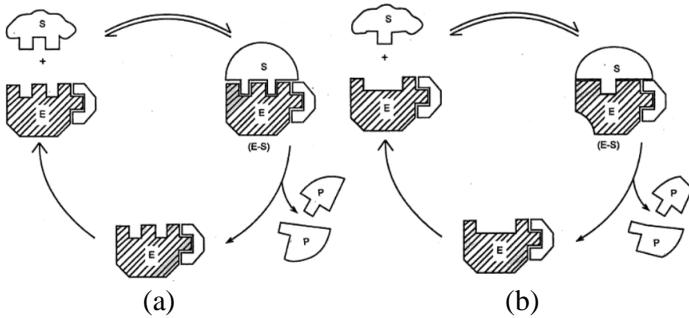
2.5 Enzim

Enzim merupakan suatu kelompok protein yang menjalankan dan mengatur perubahan kimia dalam sistem biologi. Enzim secara katalitik menjalankan berbagai reaksi seperti pemecahan hidrolisis, oksidasi, reduksi, isomerisasi, adisi, transfer radikal dan pemutusan rantai karbon [24]. Suatu enzim bekerja secara khas terhadap suatu substrat tertentu. Enzim berfungsi sebagai katalis dalam proses biokimia yang dapat mempercepat reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat. Enzim bekerja seperti katalis lainnya, yaitu dengan menurunkan energi aktivasi suatu reaksi kimia [25].

Berdasarkan tipe reaksi yang dikatalisis, enzim dapat diklasifikasikan menjadi enam kelas antara lain oksidoreduktase (mengatalisis reaksi oksidasi dan reduksi), transferase (mengatalisis reaksi pemindahan gugus), hidrolase (mengatalisis reaksi pemutusan hidrolitik), liase (mengatalisis reaksi pembentukan rantai ganda dengan eliminasi), isomerase (mengatalisis reaksi perubahan geometrik atau struktural molekul), dan ligase (mengatalisis reaksi penyatuan dua molekul yang berkaitan dengan ATP) [26].

Dalam reaksi enzimatik, gugus-gugus pengikat dan gugus katalitik dari enzim bergabung dengan substrat, sehingga kompleks enzim-senyawa transisi yang terbentuk memiliki energi yang lebih rendah dibandingkan kompleks enzim-substrat atau kompleks enzim-produk. Oleh karena itu, energi aktivasi untuk pembentukan kompleks enzim-senyawa transisi pada reaksi enzimatik jauh lebih rendah dibandingkan energi aktivasi pada reaksi tanpa enzim [27]. Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain temperatur, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, kofaktor dan inhibitor [25]

Terdapat dua model yang diusulkan pada kegiatan enzim dalam mempengaruhi terbentuknya kompleks enzim-substrat, yaitu model *Lock and Key* dan *Induced Fit*. Pada model *Lock and Key*, substrat harus mempunyai bentuk yang sangat tepat dengan sisi aktif enzim. Pada model *Induced Fit*, lokasi sisi aktif beberapa enzim mempunyai konfigurasi yang tidak kaku. Sisi aktif enzim akan menyesuaikan diri dengan bentuk substrat [24]. Reaksi enzim-substrat dan kedua modelnya terlihat pada **Gambar 2.3** (a) dan (b)



Gambar 2.3 (a) Model *Lock and Key* (b) Model *Induced Fit* [24].

2.6 Xilanase

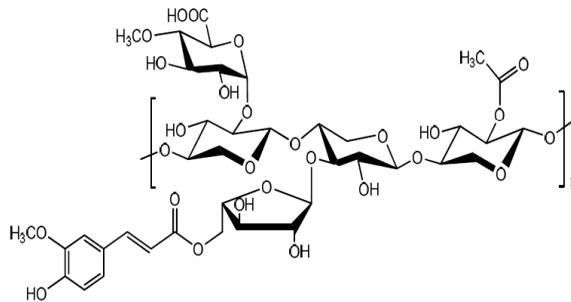
Xilanase atau endo-1,4- β -xilanase adalah enzim yang cukup sering digunakan dalam industri. Target substrat dari xilanase adalah xilan yang biasa ditemukan pada dinding sel [28]. Xilanase mendegradasi xilan dengan memutus ikatan β -1,4-glikosidik secara acak yang menghasilkan xilosa dan xilo-oligosakarida seperti xilobiosa [29]. Xilanase memiliki peranan penting dalam bidang industri seperti bahan pemutih dalam industri kertas, agen klarifikasi pada pembuatan jus, dan pembuatan gula xilosa [4].

Mikroorganisme seperti spesies bakteri dan fungi merupakan sumber xilanase yang paling kaya. Mikroorganisme yang sangat umum digunakan sebagai penghasil xilanase secara ekstraseluler adalah beberapa spesies *Baccillus*, *Trichoderma*, dan *Aspergillus*. Xilanase dari *Trichoderma* diketahui memiliki suhu optimum pada 45°C sampai 65°C dan pH optimum 3,5 sampai 6,5. Titik isoelektrik xilanase sangat tinggi mencapai 9,0. [28, 29].

2.7 Xilan

Xilan adalah komponen utama dari dinding sel tanaman dan merupakan hemiselulosa yang dapat diperbarui. Xilan tersusun dari polimer pentosa yang berikatan β -1,4-glikosidik dengan jumlah monomernya berkisar antara 150-200 unit. Xilan merupakan heteropolisakarida yang tersusun dari beberapa komponen seperti asetil, arabinosil, dan glukoronsil. Oleh sebab itu, untuk membentuk monomernya (xilosa), xilan membutuhkan peran enzim untuk proses degradasi [30]. Pada proses pertumbuhan mikroorganisme membutuhkan sumber karbon, nitrogen, dan komponen mineral

terutama fosfat. Xilan merupakan sumber karbon bagi produksi enzim xilanase [4]. Xilan memiliki struktur yang ditunjukkan **Gambar 2.4**.



Gambar 2.4 Struktur Xilan [31].

2.8 *Trichoderma viride*

Enzim yang dapat menghidrolisis selulosa adalah selulase. Produksi selulase secara komersial biasanya menggunakan kapang atau bakteri. Salah satu kapang yang dapat digunakan untuk menghasilkan xilanase adalah *Trichoderma viride* [32]. *Trichoderma viride* dikenal dalam menghasilkan produk-produk enzim selulolitik seperti enzim selobiohidrolase, endoglukanase dan β -glukosidase [33]. *Trichoderma viride* merupakan salah satu jenis kapang yang paling banyak ditemukan diantara jenisnya dan dapat digunakan dalam proses produksi xilanase. Hal ini disebabkan karena kapang *Trichoderma viride* mempunyai sifat xilanolitik yang mengeluarkan enzim xilanase yang dapat merombak xilan menjadi xilosa [30]. *Trichoderma viride* dapat tumbuh cepat di berbagai substrat, serta mampu berkembang biak pada kondisi pH asam (2,1-2,5) [34]. Suhu optimal pertumbuhan kapang ini adalah 32-35°C dan pH optimal sekitar 4 [35]. *Trichoderma viride* dapat diklasifikasikan seperti berikut :

Kingdom : *Fungi*
Divisi : *Amastigomycota*
Sub Divisi : *Deuteromycotina*
Kelas : *Deuteromycetes*
Ordo : *Moniliales*
Famili : *Moniliaceae*
Genus : *Trichoderma*

Spesies : *Trichoderma viride* [36].

Koloni dari jamur *Trichoderma* berwarna putih, kuning, hijau muda, dan hijau tua. Susunan sel *Trichoderma* berderet membentuk benang halus yang disebut dengan hifa. Hifa pada jamur ini berbentuk pipih, bersekat, dan bercabang-cabang membentuk anyaman yang disebut miselium. *Trichoderma* memiliki miselium atau hifa yang dapat tumbuh dengan cepat dan dapat memproduksi berjuta-juta spora. Sifat inilah yang membuat *Trichoderma* memiliki daya kompetitif yang tinggi [36].

2.9 Isolasi Enzim

Enzim dapat diisolasi dengan dua cara yaitu ekstraseluler dan intraseluler. Enzim ekstraseluler merupakan enzim yang bekerja di luar sel, sedangkan enzim intraseluler merupakan enzim yang bekerja di dalam sel [37]. Metode yang cukup sering dipakai dalam melakukan isolasi enzim adalah sentrifugasi. Sentrifugasi digunakan untuk memisahkan enzim ekstraseluler dari sisa-sisa sel [38]. Pada sentrifugasi, suatu sampel biologis diberi suatu gaya yang besar dengan memutar sampel tersebut pada kecepatan yang sangat tinggi. Hal ini menyebabkan terjadinya sedimentasi partikel, organel sel, atau makromolekul pada yang tergantung pada massa, ukuran dan kecepatan [38]. Sentrifugasi dilakukan pada suhu rendah (dibawah suhu kamar) untuk menjaga kehilangan aktivitas enzim [39].

2.10 Amobilisasi Enzim

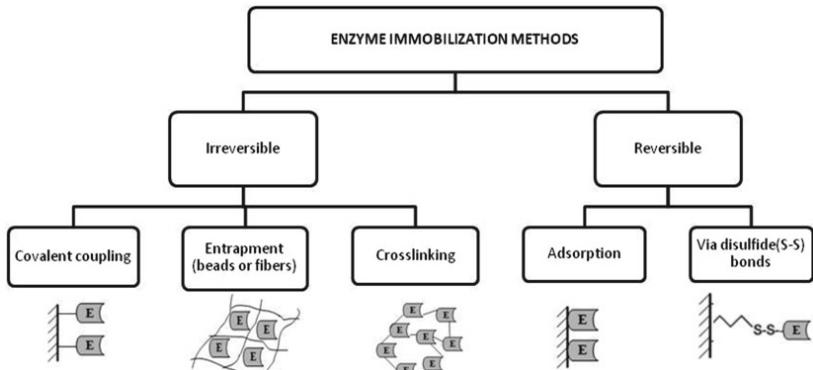
Salah satu cara untuk meningkatkan stabilitas enzim adalah dengan melakukan amobilisasi enzim. Enzim amobil dapat didefinisikan sebagai enzim yang secara fisik ditempatkan pada suatu ruang tertentu sehingga dapat menahan aktivitas katalitiknya. Oleh sebab itu, enzim hasil amobilisasi dapat digunakan secara berulang dan lebih stabil [7].

Salah satu cara untuk mengklasifikasikan berbagai metode amobilisasi enzim adalah dengan membaginya menjadi dua kategori besar yaitu metode irreversibel dan reversibel. Seperti yang diunjukkan pada **Gambar 2.5**

1. Metode Amobilisasi Enzim Irreversibel

a. Metode ikatan kovalen

Metode ikatan kovalen didasarkan pada pengikatan kimia antara kelompok fungsional enzim dan matriks pendukungnya.



Gambar 2.5 Skema Klasifikasi Metode Amobilisasi Enzim [40]

Amobilisasi enzim dengan metode ini paling banyak digunakan. Hal ini disebabkan oleh kelebihan dari metode ini yaitu resiko lepasnya enzim yang cukup kecil dan memiliki potensial energi untuk stabilisasi enzim. Metode ini juga memiliki kekurangan yaitu pemakaian ulang yang rendah dan mudah terjadi penurunan aktivitas [40].

b. Metode Ikatan Silang

Teknik metode ikatan silang atau *cross-linked enzyme aggregates* (CLEAs) merupakan metode amobilisasi yang paling baru. Metode ini sedikit berbeda dengan amobilisasi konvensional. Metode ini didasarkan pada *multipoint attachment* melalui ikatan silang antara molekul enzim. Kelebihannya adalah lebih stabil, tetapi mudah terjadi penurunan aktivitas [40]

c. Metode Penjebakan

Metode penjebakan didasarkan dengan membatasi enzim dalam jaringan polimer yang memungkinkan substrat dan produk untuk lewat, tetapi tetap mempertahankan enzim di dalam jaringan. Metode ini

berbeda dari metode ikatan. Penjebakan biasa dilakukan dengan menggunakan gel dan mikroenkapsulasi. Penggunaan praktisnya metode dibatasi oleh keterbatasan transfer massa melalui membran atau gel [40].

2. Metode Amobilisasi Enzim Reversibel

a. Metode Adsorpsi Fisik

Pada metode adsorpsi fisik, enzim terikat pada matriks melalui ikatan hidrogen, gaya van der Waals, atau interaksi hidrofobik. Melalui metode ini, amobilisasi menghasilkan proses yang reversibel. Metode ini dapat mengubah kondisi yang mempengaruhi kekuatan interaksi (pH, kekuatan ion, temperatur, atau polaritas pelarut). Amobilisasi dengan adsorpsi adalah proses yang ringan dan mudah dilakukan. Biasanya amobilisasi enzim tetap mempertahankan aktivitas katalitiknya. Oleh karena itu, metode ini secara ekonomi menarik, tapi masih memiliki kekurangan seperti kebocoran enzim dari matriks saat berinteraksi karena interaksinya yang relatif lemah [40].

b. Metode Ikatan Disulfida

Metode ikatan disulfida cukup unik. Meski kovalennya stabil, terbentuk ikatan antara matriks dan enzim. Ikatan tersebut bisa rusak dengan reaksi dengan zat yang sesuai seperti dithiothreitol (DTT). Selain itu, sejak reaktivitas kelompok tiol atau sulfida dapat dimodulasi dengan mengubah pH. Metode yang melibatkan ikatan disulfida biasanya memiliki tingkat pembentukan tinggi, asalkan digunakan adsorben tiol reaktif yang sesuai [40].

2.11 Aktivitas Enzim

Satu unit enzim dapat didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk menghasilkan 1 mikromol produk per menit pada kondisi tertentu atau kondisi penelitian yang dilakukan [1]. Terdapat faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim yaitu temperatur, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, kofaktor dan inhibitor.

Temperatur dapat mempengaruhi proses biologi melalui efek kinetika pada laju reaksi dan efek katalitik pada aktivitas atau kestabilan enzim [41]. Laju reaksi akan terus meningkat seiring

dengan meningkatkannya temperatur. Enzim akan mengalami proses inaktivasi seiring temperatur yang bertambah [42].

Struktur ion enzim tergantung pada pH lingkungannya. Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif, atau ion bermuatan ganda. Hal ini akan mempengaruhi efektifitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat. Pengaruh pH yang terlalu tinggi juga dapat mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim [25].

Konsentrasi enzim yang semakin tinggi menyebabkan kecepatan reaksi semakin meningkat hingga pada batas konsentrasi tertentu. Hasil hidrolisis akan konstan dengan naiknya konsentrasi enzim yang disebabkan penambahan enzim sudah tidak efektif lagi [1].

Penambahan konsentrasi substrat akan meningkatkan kecepatan reaksi jika konsentrasi enzim tetap. Kompleks enzim substrat akan terbentuk apabila terdapat kontak antara enzim dengan substrat. Kontak ini terjadi pada sisi aktif enzim. Pada konsentrasi substrat rendah, bagian aktif enzim ini hanya menampung sedikit substrat. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan enzim pada sisi aktif tersebut. Konsentrasi kompleks enzim substrat semakin besar menyebabkan kecepatan reaksi semakin besar. Jika konsentrasi substrat tetap semakin besar, tidak menyebabkan bertambah besarnya konsentrasi kompleks enzim substrat. Hal ini menyebabkan jumlah hasil reaksinya pun tidak bertambah besar [43].

Aktivitas seringkali dipengaruhi oleh zat-zat yang bukan merupakan reaktan. Jika terjadi penurunan aktivitas yang disebabkan suatu senyawa, maka senyawa tersebut dikatakan sebagai inhibitor, dan begitupun sebaliknya, jika terjadi peningkatan aktivitas disebut aktivator. Contoh dari aktivator yaitu koenzim dan kofaktor [44].

2.12 Efisiensi Pemakaian Ulang Enzim

Salah satu tujuan dari efisiensi pemakaian ulang adalah mengetahui apakah enzim teramobilisasi dapat digunakan kembali. Semakin tinggi pemakaian ulang berarti metode imobilisasi yang digunakan tersebut semakin baik. Efisiensi pemakaian ulang dilakukan untuk mengetahui seberapa banyak enzim terimobilisasi dapat digunakan untuk reaksi hidrolisis. Pada uji penggunaan ulang, enzim direaksikan dengan substrat polisakarida membentuk

monosakarida pada kondisi optimalnya. Perlakuan ini diulangi sebanyak 5 kali dan dihitung aktivitas enzim pada setiap pengulangan [45].