

**Pengaruh Aktivasi Zeolit Menggunakan HCl, Karakterisasi
dan Penggunaannya dalam Amobilisasi Ekstrak Kasar
Xilanase Hasil Isolasi dari *Trichoderma viride***

SKRIPSI

oleh:
WIDIA EDY KUNCORO
135090207111001



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

**Pengaruh Aktivasi Zeolit Menggunakan HCl, Karakterisasi
dan Penggunaannya dalam Amobilisasi Ekstrak Kasar
Xilanase Hasil Isolasi dari *Trichoderma viride***

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Oleh:
WIDIA EDY KUNCORO
135090207111001



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Pengaruh Aktivasi Zeolit Menggunakan HCl, Karakterisasi dan Penggunaannya dalam Amobilisasi Ekstrak Kasar Xilanase
Hasil Isolasi dari *Trichoderma viride*

oleh:

Widia Edy Kuncoro
135090207111001

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal02 AUG 2017

dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si., M.Kes
NIP. 19720326 200212 2 001

Pembimbing II

Dra. Sri Wardhani, M.Si
NIP. 19680226 199203 2 001



Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 19731020 200212 1 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Widia Edy Kuncoro

NIM : 135090207111001

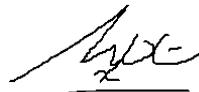
Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul : Pengaruh Aktivasi Zeolit Menggunakan HCl, Karakterisasi dan Penggunaannya dalam Amobilisasi Ekstrak Kasar Xilanase Hasil Isolasi dari *Trichoderma viride*

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Malang, Agustus 2017
Yang menyatakan,



(Widia Edy Kuncoro)
NIM. 135090207111001

Pengaruh Aktivasi Zeolit Menggunakan HCl, Karakterisasi dan Penggunaannya dalam Amobilisasi Ekstrak Kasar Xilanase Hasil Isolasi dari *Trichoderma viride*

ABSTRAK

Xilanase merupakan enzim hidrolase yang bersifat ekstraseluler. Pada penelitian ini xilanase diperoleh dari *Trichoderma viride* dengan klobot jagung sebagai *inducer*. Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pengasaman menggunakan HCl terhadap aktivitas dan penggunaan ulang enzim xilanase. Amobilisasi yang dilakukan adalah adsorbsi fisik pada zeolit teraktivasi dan non-aktivasi. Enzim yang digunakan merupakan ekstrak kasar xilanase dengan pelarut buffer asetat 0,2 M pH 5. Aktivasi zeolit dilakukan dengan HCl 0,4 M. Karakterisasi zeolit menggunakan XRD dan XRF Aktivitas *xylanase* diukur berdasarkan pembentukan produk xilosa secara spektrofotometri. Karakterisasi XRF zeolit dilakukan pada zeolit nonaktivasi diperoleh rasio Si/Al sebesar 6,48 dan pada zeolit teraktivasi diperoleh rasio Si/Al 7,21. Karakterisasi dengan XRD menunjukkan zeolit yang diperoleh terkadung mordenit 51,7% dan kuarsa sebagai pengotor sebesar 48,3%. Karakterisasi dilakukan pada zeolit teraktivasi, zeolit teraktivasi tersisipi enzim, zeolit non-aktivasi, dan zeolit non-aktivasi tersisipi enzim diperoleh pergeseran yang semakin besar seiring bertambahnya 20. Hasil amobilisasi enzim xilanase dengan matriks zeolit teraktivasi dan nonaktivasi dibandingkan. Enzim xilanase zeolit teraktivasi $0,465 \pm 0,001 \text{ } \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}.\text{menit}^{-1}$ dan enzim xilanase zeolit nonaktivasi $0,427 \pm 0,004 \text{ } \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}.\text{menit}^{-1}$, diuji menggunakan statistik menggunakan IBM SPSS 23 dan diperoleh sig.<0,05 yang menunjukkan perbedaan nyata. Pemakaian ulang menunjukkan aktivitas lebih tinggi pada amobilisasi dengan matriks zeolit teraktivasi.

Kata kunci: xilanase, amobilisasi, adsorbsi, karakterisasi, matriks.

Effect of Zeolite Activation with HCl, Characterization and Utilization on The Immobilization of Crude Xylanase Isolated from *Trichoderma viride*

ABSTRACT

Xylanase is an extracellular hydrolase enzyme. In this study xylanase was obtained from *Trichoderma viride* as induce by cornhusk. This research was conducted to see the effect of acidification using HCl to activity and efficiency of reuse of xylanase enzyme. Immobilization performed was physical adsorption on activated and non-activated zeolite. The enzyme used is a crude xylanase dissolve by 0.2 M acetate buffer pH 5. Activation of zeolite done with HCl 0.4 M. The characterization of zeolite using XRD and XRF. Xylanase activity was measured by spectrophotometry xylose product formation. XRF characterization of zeolites carried on nonaktivayion obtained zeolite Si/Al ratio 6.48 and the activated zeolite obtained Si / Al ratio 7.21. Characterization with XRD showed zeolite obtained with 51.7% mordenite and quartz as impurity of 48.3%. Characterization performed on the activated zeolite, activated zeolite inserted by enzymes, non-activation zeolites and zeolite non-activation inserted enzyme obtained obtained an increasingly large shift as θ increased. The immobilized xylanase enzyme results with an activated and non-activated zeolite matrix compared. Zeolite activated xylanase enzyme $0.465 \pm 0.001 \text{ } \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}.\text{menit}^{-1}$ and nonactivated zeolite xylanase enzyme $0.427 \pm 0.004 \text{ } \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}.\text{menit}^{-1}$, tested by statistic using IBM SPSS 23 and obtained sig. <0.05 which Shows a real difference. Reuse shows higher activity on immobilization with activated zeolite matrix.

Keywords: *xylanase, immobilization, adsorption, characterization, matrix.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas limpahan Rahmat dan Karunia-Nya, sehingga penulisan Skripsi ini dapat diselesaikan. Skripsi dengan judul **“Pengaruh Aktivasi Zeolit Menggunakan HCl, Karakterisasi dan Penggunaannya dalam Amobilisasi Ekstrak Kasar Xilanase Hasil Isolasi dari *Trichoderma viride*”** disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Penulis menyadari dan meyakini bahwa terselesainya Skripsi ini tidak terelepas dari segala bentuk bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua tercinta, Bapak Ilyas dan Ibu Enik Dwiaستuti serta saudara tercinta Feny Oktaviana, yang selalu memberikan semangat, dukungan, dan doa.
2. Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si., M. Kes selaku Dosen Pembimbing I atas waktu serta bimbingan yang telah diberikan.
3. Dra. Sri Wardhani, M.Si selaku Dosen Pembimbing II atas waktu serta bimbingan yang telah diberikan.
4. Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D selaku Dosen Penasehat Akademik sekaligus Ketua Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan.
5. Bapak Maryono selaku staf Laboratorium Biokimia serta segenap staf Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya atas bantuan dan dukungan yang diberikan.
6. Staf Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, baik staf pengajar maupun staf TU atas bantuan, dukungan, bimbingan, dan seluruh pengetahuan yang telah diberikan kepada penulis
7. Janatun Na'imah, S.Si., M.Si., Nur Lailah, S.Si., M.Si., Silvi Fatma H, S.Si. dan Gita Diastirana C, S.Si. atas semua dukungan semangat dan ilmu terkait penelitian ini.
8. Merry Hastyani, Weni Astutik, Wahyu Gesit Saputro, Iffa Novitasari, Syathir Aziz, Ningtyas Megarahayu dan Gempar Aditya Prabowo selaku rekan penelitian.

9. Rekan-rekan Tugas Akhir Biokimia atas bantuan dan kerjasamanya selama melakukan penelitian.
10. Teman-teman Kimia C dan Kimia 2013 yang memberikan dukungan kepada penulis.
11. Seluruh pihak dan instansi terkait atas terselesaikannya penelitian hingga penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Malang, Agustus 2017

Penulis,

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Zeolit	4
2.2 Aktivasi Zeolit Alam	6
2.3 Karakterisasi dengan X-Ray Diffraction	6
2.4 Karakterisasi dengan X-Ray Fluorescence	7
2.5 Enzim	8
2.6 Xilanase	9
2.7 Xilan	9
2.8 <i>Trichoderma viride</i>	10
2.9 Isolasi Enzim	11
2.10 Amobilisasi Enzim	11
2.11 Aktivitas Enzim	13
2.12 Efisiensi Pemakaian Ulang Enzim	14
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	16

3.2 Alat dan Bahan Penelitian	16
3.2.1 Alat	16
3.2.2 Bahan	16
3.3 Tahapan Penelitian	16
3.4 Prosedur Penelitian	17
3.4.1 Aktivasi Zeolit	17
3.4.2 Karakterisasi Zeolit	18
3.4.2.1 X-ray Fluorescence (XRF)	18
3.4.2.2 X-ray Difraction (XRD)	18
3.4.3 Pembuatan <i>Inducer</i> Xilan	18
3.4.4 Pembuatan Media Padat	18
3.4.5 Peremajaan Biakan Murni <i>Trichoderma viride</i>	19
3.4.6 Pembuatan Media Cair	19
3.4.7 Pembuatan Inokulum	19
3.4.8 Produksi dan Isolasi Xilanase	20
3.4.9 Penentuan Aktivitas Xilanase	20
3.4.9.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Gula Pereduksi	20
3.4.9.2 Pembuatan Kurva Standar Gula Pereduksi	20
3.4.9.3 Uji Aktivitas Xilanase	21
3.4.10 Penentuan Kadar Protein Awal	22
3.4.10.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Kurva Baku Larutan Kasein	22
3.4.10.2 Uji Kadar Protein Awal	23
3.4.11 Amobilisasi Xilanase	23
3.4.12 Uji Aktivitas Xilanase Hasil Amobilisasi	23
3.4.13 Uji Kadar Protein Sisa	23
3.4.14 Penentuan Efisiensi Penggunaan Ulang Xilanase Amobil	23
3.4.15 Analisis Data	24
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Karakterisasi Zeolit Alam	25
4.2 Pengaruh Aktivasi Zeolit dengan HCl Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase Amobil	29
4.3 Pengaruh Aktivasi Zeolit dengan HCl Terhadap Pemakaian Ulang Enzim Xilanase Amobil	33

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	43

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1	Struktur Zeolit Alam (a) Klipnoptilolit (b) Mordenit	4
Gambar 2.2	Difraktogram Zeolit Alam Mordenit Malang	7
Gambar 2.3	(a) Model <i>Lock and Key</i> (b) Model <i>Induced Fit</i>	9
Gambar 2.4	Struktur Xilan	10
Gambar 2.5	Skema Klasifikasi Metode Amobilisasi Enzim	12
Gambar 4.1	Difraktogram Zeolit Hasil Analisis	26
Gambar 4.2	Difraktogram Zeolit Alam (a) Non-aktivasi (b) Aktivasi	28
Gambar 4.3	Perbandingan Difraktogram zeolit (a) aktivasi (b) aktivasi tersisipi enzim (c) non-aktivasi (d) non-aktivasi tersisipi enzim	29
Gambar 4.4	Perbandingan Aktivitas Pemakaian Ulang Xilanase Amobil teraktivai dan nonaktivasi	35
Gambar D.1	Difraktogram Zeolit Aktivasi	49
Gambar D.2	Difraktogram Zeolit Aktivasi Tersisipi Enzim	51
Gambar D.3	Difraktogram Zeolit Non-Aktivasi	52
Gambar D.4	Difraktogram Zeolit Non-Aktivasi Tersisipi Enzim	54
Gambar E.1	Kurva Baku Gula Pereduksi	57
Gambar F.1	Kurva Baku Kasein	59
Gambar K.1	Uji t Data Aktivitas Enzim	67
Gambar K.2	Uji t Data Aktivitas Pemakaian Ulang	67

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Zeolit alam yang umum ditemukan	5
Tabel 2.2 Rumus oksida beberapa jenis zeolit sintetik	5
Tabel 3.1 Analisis Data	24
Tabel 4.1 Hasil Analisis XRF Zeolit	25
Tabel 4.2 Perbandingan antara zeolit sampel dan JCPDS	27
Tabel 4.3 Perbandingan 2θ zeolit (a) aktivasi, aktivasi tersisipi enzim, non-aktivasi dan non-aktivasi tersisipi enzim	29
Tabel 4.4 Data Aktivitas Xilanase	31
Tabel 4.5 Data Kadar Protein Xilanase	31
Tabel 4.6 Karakter Fisik dan Kimia Zeolit Alam Ponorogo	32
Tabel 4.7 Data Pemakaian Ulang Enzim Amobil	34
Tabel D.1 Hasil Analisis XRF Zeolit	48
Tabel D.2 Daftar Puncak Difraktogram Zeolit Aktivasi	49
Tabel D.3 Daftar Puncak Difraktogram Zeolit Aktivasi Tersisipi Enzim	51
Tabel D.4 Daftar Puncak Difraktogram Zeolit Non-Aktivasi	52
Tabel D.3 Daftar Puncak Difraktogram Zeolit Non-Aktivasi Tersisipi Enzim	54
Tabel E.1 Absorbansi Larutan Glukosa pada λ (480-550) nm	56
Tabel E.2 Absorbansi Gula Pereduksi pada λ 490 nm	56
Tabel F.1 Absorbansi Larutan Kasein pada λ (460-640) nm	58
Tabel F.2 Absorbansi Kasein pada λ 540 nm	58
Tabel G.1 Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Bebas Xilanase	60
Tabel H.1 Aktivitas Xilanase Amobil Matriks Zeolit Teraktivasi	61
Tabel H.2 Aktivitas Xilanase Amobil Matriks Zeolit non-aktivasi	62
Tabel I.1 Kadar Protein Awal	63
Tabel I.2 Kadar Protein Sisa Enzim Amobil Matriks Zeolit Teraktivasi	64
Tabel I.3 Kadar Protein Sisa Enzim Amobil Matriks Zeolit non-aktivasi	65
Tabel J.1 Pemakaian Ulang Enzim Xilanase Amobil	66

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A Skema kerja	43
Lampiran B Preparasi Larutan	44
B.1 Akuades Steril	44
B.2 Larutan Asam Asetat 0,2 M	44
B.3 Larutan Natrium Asetat 0,2 M	44
B.4 Buffer Asetat pH 5 0,2 M	44
B.5 Larutan Stok Glukosa 1500 µg/mL	44
B.6 Pembuatan Substrat Xilan 1 %	44
B.7 Pembuatan Air Bebas Reduktor	45
B.8 Pembuatan Reagen DNS	45
B.9 Pembuatan Larutan NaOH 0,1 M	45
B.10 Larutan Stok Kasein 1000 µg/mL	45
B.11 Larutan NaOH 10%	45
B.12 Reagen Biuret	45
B.13 Larutan HCl 0,1 M	46
Lampiran C Perhitungan Larutan Kurva Baku	42
C.1 Larutan asam asetat	46
C.2 Larutan natrium asetat 0,2 M	46
C.3 Larutan buffer asetat pH 5	46
C.4 Larutan HCl 0,4 M	47
C.5 Larutan NaOH 0,1 M	47
Lampiran D Karakterisasi Zeolit	43
D.1 <i>X-Ray Fluorescence</i> (XRF)	48
D.2 X-Ray Diffraction (XRD)	49
D.2.1 Zeolit Aktivasi	49
D.2.2 Zeolit Aktivasi Tersisipi Enzim	51
D.2.3 Zeolit Non-aktivasi	52
D.2.4 Zeolit Non-aktivasi Tersisipi Enzim	54
Lampiran E Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Kurva Baku Gula Pereduksi	56
Lampiran F Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Kurva Baku Kasein	58
Lampiran G Aktivitas Enzim Xilanase Bebas	60
Lampiran H Aktivitas Xilanase Amobil	61

H.1 Matriks Zeolit Teraktivasi	61
H.2 Matriks Zeolit Non-aktiviasi	62
Lampiran I Kadar Protein	63
I.1 Kadar Protein Awal	63
I.2 Kadar Protein Sisa	64
I.2.1 Matriks Zeolit Teraktivasi	64
I.2.2 Matriks Zeolit Non-Aktivasi	65
Lampiran J Pemakaian Ulang Enzim Amobil	66
Lampiran K Uji Statistik	67
K.1 Uji t Data Aktivitas Enzim	67
K.2 Uji t Data Pemakaian Ulang	67

DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
XRF	<i>X-ray Fluorescence</i>
XRD	<i>X-ray Difraction</i>
HCl	Asam klorida
ZA	Zeolit teraktivasi
ZNA	Zeolit non-aktivasi
ppm	part per million
A	Absorbansi
μg	Mikrogram
JCPS	Joint Committee on Powder Diffraction Standards
ICSD	Inorganic Crystal Structure Database
θ	Theta