

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Enzim**

Enzim merupakan biokatalisator yang mampu meningkatkan laju reaksi di dalam sel-sel hidup. Enzim dapat mempercepat reaksi antara  $10^8$ - $10^{11}$  kali lebih cepat karena dapat menurunkan energi aktivasi dari suatu reaksi kimia yang membuat pembentukan produk berjalan lebih cepat dibandingkan dengan reaksi biasa tanpa katalis [16]. Enzim sebagai biokatalis menurunkan energi aktivasi pada keadaan transisi dimana saat enzim tersebut berinteraksi dengan substrat yang menempel pada sisi aktifnya, membentuk kompleks enzim-substrat (ES) sesaat sebelum produk terbentuk. Enzim hanya mempercepat reaksi dengan keadaan yang sama tanpa mengubah kesetimbangan suatu reaksi [17]

Enzim dibagi menjadi 2 tipe berdasarkan tempat dimana enzim tersebut digunakan, yaitu enzim intraseluler yang aktivitasnya berada di dalam sel dan eksoenzim yang aktivitasnya berada di luar sel. Endoenzim berperan untuk menguraikan nutrisi yang kemudian dipakai untuk menghasilkan energi yang dibutuhkan oleh sel. Sedangkan fungsi eksoenzim adalah melangsungkan terjadinya transformasi pada nutrisi tertentu yang selanjutnya akan masuk ke dalam sel [18].

Kemampuan katalisis enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan, antara lain suhu, pH, lama inkubasi dan konsentrasi substrat [19]. Kestabilan dari enzim juga dipengaruhi oleh lama penyimpanan dan senyawa yang dapat menyebabkan suatu enzim inaktif seperti protease, yang mampu menghidrolisis protein dengan cara memutus ikatan peptida dan menyebabkan denaturasi protein [20]. Xilanase yang dihasilkan dari *T. viride* stabil pada suhu  $<55^{\circ}\text{C}$ , dan memiliki suhu optimum  $50^{\circ}\text{C}$  [21]

#### **2.2 Xilan**

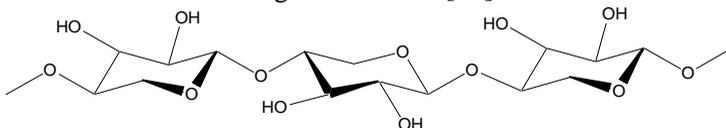
Xilan adalah salah satu hemiselulosa yang paling melimpah di alam. Dalam beberapa jenis tumbuhan, kandungan xilan cukup besar. Kandungan xilan dalam ampas tebu sebesar 30 %, pada kulit pohon sebesar 30 %, kayu pohon berdaun sebanyak 20-25 % dan pada kayu konifera sebesar 7-21% [22]

Xilan adalah salah satu komponen mayor hemiselulosa yang terikat dengan pektin, lignin, selulosa dan polisakarida lainnya yang

bersinergi membentuk dinding sel pada tumbuhan. Polimer xilan tersusun atas monomer D-xilopiranososa yang berikatan glikosidik  $\beta$ -1,4 dengan monomer sebanyak 150-200 unit monomer. Xilan memiliki residu yang terikat pada tulang punggung strukturnya, yakni arabinosil, 4-O-metil-D-asam glukoronat dan O-asetil. Enzim-enzim xilanolitik dapat melakukan hidrolisis xilan menjadi monomernya [23] Xilan merupakan substrat untuk enzim xilanase yang banyak ditemukan pada limbah pertanian seperti pada bagas tebu, kulit jagung, jerami padi, dedak gandum [24]

Xilan berikatan kovalen dan non kovalen dengan selulosa, lignin dan polimer lainnya di dalam dinding sel tumbuhan [25] Kestabilan xilan mencapai suhu 180°C [26]. Rantai xilan bercabang serta strukturnya bukan kristal, sehingga mudah berinteraksi dengan pelarut dibandingkan dengan polimer lain seperti selulosa [27]

Berikut ini adalah struktur bangun dari xilan [28]:



**Gambar 2.1:** Struktur Molekul Xilan

### 2.3 Klobot Jagung

Jagung merupakan bahan pangan utama setelah padi dan gandum yang sangat berguna bagi manusia dan hewan. Hampir semua bagian jagung dapat dimanfaatkan, antara lain hijauan dan tongkolnya (digunakan sebagai pakan ternak), bulir bijinya (dapat diekstrak minyak dari dalamnya dan sebagai bahan tepung jagung atau tepung maizena) [29].

Klobot jagung merupakan hasil samping atau limbah organik dari pengelupasan jagung. Komposisi kimiayang terkandung di dalamnya adalah ditunjukkan pada tabel F.1 [30]

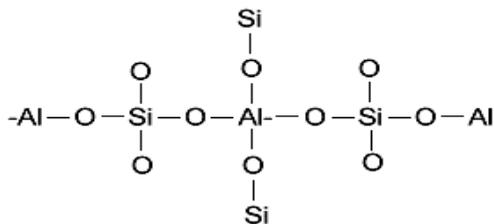
**Tabel 2.1:** Komposisi kimia klobot jagung

Komponen	Kandungan (%)
Serat kasar	38
Selulosa	6,41
Hemiselulosa	32
Abu	4,47
Protein kasar	6,41
Lignin	6,3

Dapat dilihat pada tabel diatas, kandungan hemiselulosa pada klobot jagung tergolong tinggi, yakni mencapai 32 % dan kandungan lignin hanya 6,3 %. Hal ini membuktikan klobot jagung berpotensi sebagai sumber xilan dalam perannya sebagai induser pada proses produksi enzim xilanase. Penambahan induser pada media pertumbuhan enzim adalah untuk menginduksi enzim dari mikroorganisme sehingga dapat mengekskresikan enzim yang dibutuhkan [30]

## 2.4 Zeolit

Zeolit merupakan sekelompok mineral yang terdiri dari oksida rangkap  $Al_2O_3$ ,  $Fe_2O_3$ ,  $MgO$ ,  $SiO_2$ , dan  $CaO$ . Zeolit banyak ditemukan di batuan sedimen kristal aluminium dan silikat. Zeolit memiliki kapasitas tukar kation (KTK) yang lebih tinggi dibandingkan dengan mineral bentonit. Nilai KTK total dari zeolit antara (1,5 – 2,0) meq/g dan KTK total dari mineral bentonit antara (0,4 – 1,2) meq/g [31]. Zeolit berguna dalam banyak hal antara lain sebagai *ion-exchanger*, adsorben dan juga sebagai katalis. Zeolit tersusun atas mineral kristal alumina silika tetrahidrat berpori yang memiliki struktur 3 dimensi, terbentuk oleh  $[SiO_4]^{4-}$  dan  $[AlO_4]^{5-}$  yang dihubungkan atom-atom oksigen. Sehingga terbentuk struktur 3 dimensi yang didalamnya terdapat rongga atau ruang yang diisi ion-ion logam. Berikut ini adalah struktur dari zeolit [10]



**Gambar 2.2:** Struktur Zeolit

Zeolit alam adalah zeolit yang ditambang langsung dari alam. Dengan demikian harganya jauh lebih murah daripada zeolit sintetis. Zeolit alam merupakan mineral yang jumlahnya banyak tetapi distribusinya tidak merata, seperti klinoptilolit, mordenit, phillipsit, chabazit dan laumontit. Namun zeolit alam memiliki beberapa kelemahan, di antaranya mengandung banyak pengotor seperti Na, K, Ca, Mg dan Fe serta kristalinitasnya kurang baik. Keberadaan

pengotor-pengotor tersebut dapat mengurangi aktivitas dari zeolit Untuk memperbaiki karakter zeolit alam sehingga dapat digunakan sebagai katalis, adsorben, atau aplikasi lainnya, biasanya dilakukan aktivasi dan modifikasi terlebih dahulu. Selain untuk menghilangkan pengotor-pengotor yang terdapat pada zeolit alam, proses aktivasi zeolit juga ditujukan untuk memodifikasi sifat-sifat dari zeolit, seperti luas permukaan dan keasaman. Luas permukaan dan keasaman yang meningkat akan menyebabkan aktivitas katalitik dari zeolit meningkat. Salah satu kelebihan dari zeolit adalah memiliki luas permukaan dan keasaman yang mudah dimodifikasi [32].

Berberapa sifat zeolit yang membuatnya menjadi mineral yang istimewa adalah stabil terhadap panas, mampu digunakan sebagai penukar ion mengingat nilai KTK totalnya yang besar, permukaannya selektif, porositasnya tinggi dan dapat dimodifikasi sehingga banyak digunakan dalam industri sebagai adsorben dalam pengolahan limbah, katalis dan *ion-exchanger* [32]. Luas permukaan zeolit yang besar dikarenakan karena struktur zeolit yang sebagian besar tersusun atas pori dan kanal. Semakin banyak jumlah pori, maka semakin luas permukaan total yang dimiliki zeolit. Luas permukaan yang besar dapat dimanfaatkan dengan baik sebagai adsorben ataupun sebagai katalis heterogen [34].

## **2.5 *Trichoderma Viride***

*Trichoderma Viride* adalah kapang tanah yang banyak ditemukan di kulit pohon, aktif dalam proses amonifikasi dan dekomposisi selulosa dan hemiselulosa [35]. Bakteri ini dapat tumbuh optimal pada suhu 32-35 °C dan derajat keasaman sekitar 4 [36]. *Trichoderma viride* dapat menghasilkan enzim endo-1,4- $\beta$ -xilanase yang dapat mendegradasi polimer polisakarida kompleks, seperti xilan [37].

Selain dapat menghasilkan enzim selulolitik, *Trichoderma viride* dapat menghasilkan enzim xiloglukanolitik yang mana keompok enzim ini dapat membantu enzim selulolitik untuk memecah selulosa menjadi monomernya [27]. *Trichoderma viride* mudah berkembang biak dan tidak menimbulkan residu kimia berbahaya [22]. Xilanase yang dihasilkan dari kapang ini stabil pada suhu <55 °C dan memiliki suhu optimum 50 °C. Xilanase yang dihasilkan dari kapang ini stabil pada pH 3,5-8,0 dan pH optimum pada 4,5-5,0 [37] . Taksonomi *Trichoderma viride* adalah sebagai berikut [38]:

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subdivision	: Pezizomycotina
Class	: Sordariomycetes
Subclass	: Hypocreomycetidae
Order	: Hypocreales
Family	: Hypocreaceae
Genus	: <i>Trichoderma</i>
Spesies	: <i>Trichoderma viride</i>

## 2.6 Enzim Xilanase

Xilanase merupakan enzim hidrolisis spesifik yang digunakan secara luas dalam berbagai aspek industri, terutama dalam biokonversi bahan hemiselulosa. Enzim xilanase tergolong dalam enzim ekstraseluler yang mampu menghidrolisis xilan menjadi xilosa (gula pereduksi). Xilanase dapat diklasifikasikan berdasarkan substrat yang dihidrolisis yaitu  $\beta$ -xilosidase, endoxilanase, dan eksoxilanase.  $\beta$ -xilosidase merupakan xilanase yang dapat menghidrolisis xilooligosakarida rantai pendek menjadi xilosa. Pada bagian dalam rantai xilan, endoxilanase dapat memutus ikatan  $\beta$  1-4 secara teratur sedangkan eksoxilanase dapat memutus rantai polimer xilosa pada ujung reaksi menghasilkan xilosa (produk utama) dan sejumlah oligosakarida rantai pendek [1]. Xilanase adalah protein kecil dengan berat molekul sekitar 15.000-30.000 Dalton. Xilanase hasil isolasi, aktif pada suhu 55 °C dan pH 9. Xilanase dapat diproduksi dari bakteri atau kapang, salah satunya adalah kapang *Trichoderma viride* yang akan dipakai pada penelitian ini. Mikroorganisme lain penghasil enzim xilanase memiliki suhu tumbuh dan suhu optimum yang berbeda (Tabel F.2) [39]

**Tabel 2.2.** Mikroorganisme Penghasil Xilanase [39]

Mikroorganisme	Suhu tumbuh (°C)	Suhu optimum (°C)	pH	Berat molekul (kDa)
<b>Jamur</b>				
<i>Aspergillus sp.</i>	24-30	45-60	4,5-6	22,0-46,5
<i>Aureobasidium sp.</i>	28	45-54	4,5-4,8	20-25,0
<i>Bipolaris sorokinana</i>	28	70	5,5	30,0
<i>Cryptococcus flavus</i>	20	55	4,5	25,0
<i>Fusarium oxysporium</i>	26	50	5,0	80,0
<i>Gleophyllum trabeum</i>	22	80	4,0	39,0
<i>Humicola grisea</i>	40	70	5,5	25,5
<i>Myrothecium verrucaria</i>	30	45	5,5	15,9
<i>Neurospora crassa</i>	28	50	4,8	33,0
<i>Penicillium sp.</i>	25	40	6,0	35,0
<i>Trichoderma sp.</i>	25-30	50-60	3,5-6,5	1,8-32

## 2.7 Isolasi dan Pemurnian Enzim

Proses isolasi enzim merupakan proses pengambilan enzim dari sel secara mekanik, dan kimiawi dengan cara penghancuran dinding sel [40]. Ada beberapa macam teknik isolasi enzim, antara lain metode sentrifugasi, presipitasi, koagulasi, ekstraksi, kromatografi dan filtrasi. Dari beberapa metode yang ada, metode sentrifugasi adalah yang paling banyak dipakai dalam isolasi enzim. Sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan enzim dari sisa sel yang telah hancur sehingga ekstrak kasar enzim didapatkan. Sentrifugasi dilakukan pada suhu rendah serta campuran yang berisi enzim ditambahkan larutan *buffer* yang berguna untuk menjaga agar pH enzim stabil. Setelah sentrifugasi selesai, enzim hasil isolasi berada pada fasa cair

(supernatan) [41]. Ekstrak kasar xilanase disentrifugasi dengan kecepatan putar 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Pada metode sentrifugasi pemilihan kecepatan putar dan gaya berat harus diperhatikan, karena berpengaruh terhadap hasil pemisahan supernatan dari selnya [42].

Pemurnian enzim merupakan proses pemisahan ekstrak kasar yang diperoleh dari hasil isolasi enzim dari pengotor untuk mendapatkan enzim yang kemurniannya lebih tinggi [28]. Proses pemurnian enzim diantaranya pemisahan cairan enzim dari sel dengan sentrifugasi dingin sehingga diperoleh ekstrak kasar enzim, pengendapan dengan garam amonium sulfat dengan berbagai tingkat kejenuhan, kromatografi kolom penukar ion, dan kromatografi kolom penyaringan molekul [43].

### **2.7.1 Metode Fraksinasi**

Metode yang paling banyak digunakan adalah metode fraksinasi atau pengendapan dengan garam ammonium sulfat, karena prosedurnya yang cukup sederhana untuk dilakukan [44]. *Salting out* dengan menggunakan garam dilakukan dengan tujuan memisahkan protein atau enzim dengan zat terlarut lainnya yang ada di dalam campuran. Garam ammonium sulfat sering digunakan dalam proses pemurnian enzim karena sifatnya yang mudah larut dan tidak menyebabkan enzim terdenaturasi [45]. Penambahan garam ammonium sulfat ke dalam larutan enzim dengan pengadukan dan dalam suhu rendah. Endapan enzim yang terbentuk dari hasil fraksinasi dipisahkan dengan sentrifugasi dingin dan supernatan yang berisi enzim akan dimurnikan lebih lanjut. Sisa-sisa garam dalam supernatan dipisahkan pada dialisis [46]. Dialisis merupakan proses lanjutan dari metode fraksinasi berdasarkan ukuran molekul menggunakan membran semipermeabel. Membran semipermeabel yang digunakan adalah membran selofan. Di dalamnya terjadi pemisahan protein dan zat terlarut lainnya, protein atau enzim yang molekulnya berukuran besar akan tertahan di dalam membran selofan, sedangkan zat terlarut lainnya yang molekulnya lebih kecil akan bergerak melewati pori-pori membran [28]. Penggantian fasa air dilakukan beberapa kali guna menurunkan konsentrasi garam hingga konsentrasinya kecil [18].

### 2.7.2 Kromatografi Filtrasi Gel

Kromatografi filtrasi gel sephadex G- 100 merupakan metode pemisahan protein didasarkan atas perbedaan ukuran molekul [28]. Perbedaan matriks pada filtrasi gel terletak pada porositas dan komposisi kimia penyusunnya (tingkat hidrofobisitas dan muatannya). Pemilihan matriks filtrasi gel berdasarkan pada ukuran molekul protein yang akan dimurnikan dan juga ukuran molekul kontaminan protein. Filtrasi gel secara ideal cocok untuk memisahkan protein yang diinginkan dari protein lain yang ukurannya lebih besar atau lebih kecil. Kekurangan dari kromatografi filtrasi gel adalah tidak dapat memisahkan protein dengan ukuran molekul yang sama. Oleh karena itu, metode ini tidak pernah digunakan sebagai metode pemurnian awal pada proses pemurnian bertahap dari suatu campuran kompleks protein. Filtrasi gel mampu menghilangkan kontaminan yang molekulnya berukuran kecil, seperti garam dan deterjen tak berikatan dari protein yang dimurnikan pada preparasi analisis struktural atau fungsional [47].

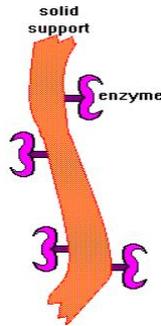
### 2.8 Amobilisasi

Amobilisasi merupakan proses pengendalian atau pemeliharaan dan pertumbuhan pada enzim, organel atau sel. Enzim yang teramobil dengan matriks tertentu menghasilkan bentuk yang tidak larut dalam air. Enzim yang diamobil seringkali digunakan dalam ranah industri karena sifatnya yang dapat dipakai berulang-ulang sebagai biokatalis sehingga menghemat biaya produksi dan mempercepat suatu reaksi [48]. Reaksi enzimatik memanfaatkan enzim teramobilisasi terbukti menjadi teknik yang efisien dalam perannya sebagai biokatalis pada berbagai industri. Teknik amobilisasi secara fisik menggunakan matriks atau media yang berpori, mempunyai beberapa keunggulan dibanding dengan teknik amobilisasi konvensional yang mana teknik ini tidak dapat mereduksi efek inhibisi. Keunggulannya antara lain, aktivitas enzim tetap tinggi, perubahan konformasi enzim tidak terjadi, media dapat diregenerasi dan sesuai untuk kasus yang melibatkan substrat dan produk dengan berat molekul yang hampir sama [49].

Secara umum, teknik amobilisasi dibagi menjadi 3 jenis, yaitu teknik pengikatan pada media penyangga (*carrier binding*), teknik penjeratan atau penjebakan (*entrapping*) dan pengikatan silang (*crosslinking*) [50]:

1. Teknik Pengikatan pada Media Penyangga (*carrier binding*)

Pada teknik ini, enzim diikat pada matriks yang tidak terlarut dengan air. Pori-pori pada matriks yang sebelumnya sudah diaktivasi sehingga meningkat porositasnya adalah sebagai tempat enzim terikat.



**Gambar 2.3** Enzim terikat pada pori-pori matriks

Terdapat tiga jenis teknik pengikatan pada matriks (*carrier binding*) yaitu :

a. Adsorpsi Fisik

Pada teknik ini, enzim diadsorpsi pada permukaan matriks. Teknik ini mudah untuk dilakukan, selain matriksnya yang mudah diperoleh dan dipreparasi juga dapat diregenerasi. Teknik ini juga memiliki kelemahan, antara lain kekuatan ikatan lemah dan enzim dapat diserang oleh enzim golongan protease.

b. Ikatan Ionik

Pada teknik ini, enzim dan matriks berikatan ionik. Ikatan enzim-matriks tidak larut dalam air dan mengandung residu penukar ion, sehingga terjadi interaksi antara matriks dan gugus amina yang bermuatan positif dengan gugus karboksil pada enzim yang bermuatan negatif.

c. Ikatan Kovalen

Pada teknik ini, enzim dan matriks berikatan secara kovalen. Ikatan enzim-matriks ini bersifat tidak larut dalam air. Ikatan ini tergolong ikatan yang kuat, namun enzim dapat mengalami perubahan konformasi yang berakibat pada hilangnya aktivitas enzim.

2. Teknik Penjeratan (*entrapping*)

Teknik *entrapping* ini adalah metode penjebakan enzim secara langsung ke dalam matriks polimer atau dibungkus dalam membran semipermeabel sehingga enzim terjebak, tidak bebas dan

tetap menjalankan fungsi katalitiknya sebatas hanya pada kisi-kisi dalam polimer matriks tersebut. Pada teknik ini, enzim dijerat secara fisik, sehingga penurunan aktivitasnya lebih kecil daripada penjeratan secara kimiawi. Sarana penempatan enzim dapat berbentuk gel, berbentuk serabut kapiler atau mikrokapsul. Metode penjeratan ada dua tipe yaitu tipe kisi dan tipe mikrokapsul.

### 3. Teknik Pengikatan Silang (*crosslinking*)

Teknik pengikatan silang adalah pembentukan ikatan melintang intermolekuler antara molekul enzim menggunakan pereaksi glutaraldehid. Pada teknik ini terjadi ikatan kimia, tetapi tidak menggunakan matriks yang tidak larut dalam air.

## 2.9 Kestabilan Enzim

Kestabilan enzim adalah kemampuan dari suatu enzim dalam mempertahankan konformasinya, sehingga aktivitasnya tidak turun dalam kondisi tertentu [39]. Konformasi enzim adalah susunan ruang dari gugus substituen molekul organik yang mempunyai kapabilitas dalam berpindah posisi dalam suatu ruang tanpa terjadi pemutusan ikatan. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya kebebasan berputar di sekeliling ikatan tunggal karbon [28]. Kestabilan suatu enzim dapat dilihat dari grafik aktivitas sisa. Enzim dapat dikatakan stabil apabila dapat mempertahankan aktivitas sisa sampai 50% dan tidak terjadi penurunan secara signifikan selama lama penyimpanan [51]. Faktor yang mempengaruhi kestabilan aktivitas enzim salah satunya adalah suhu. Pengaruh suhu terhadap kestabilan aktivitas xilanase dengan menentukan aktivitas enzim sisa setelah enzim disimpan pada variasi suhu selama waktu tertentu [1]. Enzim bekerja mempercepat reaksi. Seiring meningkatnya suhu, kecepatan reaksi akan semakin meningkat. Pada suhu optimum, reaksi terjadi sangat cepat dan produk terbentuk semakin banyak [52]. Setelah melewati fasa stasioner, terjadi penurunan yang drastis pada aktivitasnya. Penurunan aktivitas pada suhu yang tinggi karena telah terjadi perubahan konformasi struktur enzim akibat terdenaturasi. Pada umumnya enzim inaktif pada suhu 55-60°C [53]. Ada beberapa faktor penyebab enzim terdenaturasi, antara lain suhu dan pH. Kenaikan suhu menyebabkan meningkatnya tingkat hidrolisis, sehingga struktur tiga dimensi enzim mengalami kerusakan dan daya katalitiknya rendah. Peningkatan penggunaan nilai pH yang lebih tinggi dari pH optimumnya menyebabkan penurunan tingkat

hidrolisis yang diperoleh. Hal itu dikarenakan enzim mengalami denaturasi sisi aktif enzim karena ion  $H^+$  berikatan dengan  $NH_4$ . [54]

## 2.10 Instrumentasi FT-IR dan SEM

### 2.10.1 Instrumentasi FTIR

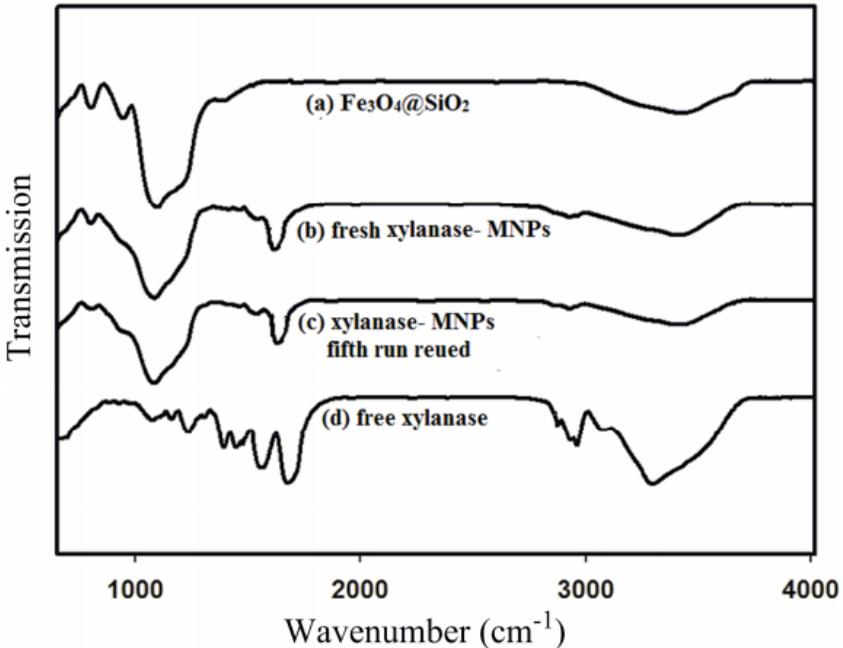
Spektrofotometri FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) merupakan metode analisis yang digunakan untuk menentukan gugus fungsi senyawa organik menggunakan radiasi *infrared*. Ketika suatu senyawa menyerap radiasi inframerah, molekul tersebut akan mengalami gerakan rotasi dan vibrasi. Setiap jenis ikatan yang berbeda akan menghasilkan vibrasi yang berbeda karena menyerap radiasi inframerah pada panjang gelombang yang berbeda. Setiap senyawa mempunyai serapan spesifik pada panjang gelombang tertentu yang menggambarkan adanya gugus fungsi spesifik dari senyawa tersebut [55]. **Tabel 2.3** menunjukkan daerah serapan inframerah beberapa gugus fungsi yang umum [56].

**Tabel 2.3** Daerah serapan inframerah gugus fungsi

Gugus Fungsi	Senyawa	Daerah Serapan ( $cm^{-1}$ )	Intensitas
-C=O	Keton	1700-1725	S
-O-H	Alkohol	3100-3640	S
-C-O	Alkohol	1000-1260	S
-CH $sp^2$	Alkena	3000-3100	M
-CH $sp^3$	Alkana	2865-2975	s-m
-C-Br	Alkil Bromida	500-680	M
-C=C-	Aromatik	1680 dan 1475	m-w

Keterangan: s (kuat), m (medium) w (lemah)

Kehadiran gugus fungsional permukaan dan ikatan xilanase pada MNPs (*Modified Nano Particles*) terdeteksi oleh spektroskopi FTIR. Spektra FTIR dari xilanase, MNPs ( $Fe_3O_4.SiO_2$ ) dan xilanase teramobil pada MNPs (kompleks xilanase-MNPs) ditunjukkan pada **Gambar 2.4** [2].



**Gambar 2.4:** Spektrum dari Xilanase, Xilanase-MNPs dan MNPs

Pita penyerapan berada pada panjang gelombang 803 cm<sup>-1</sup> dan 1085 cm<sup>-1</sup> yang dikaitkan dengan peregangan simetris dari Si-OH dan Si-O-Si, hal ini mengindikasikan adanya lapisan silica pada MNPs. Kemudian, spektra dari xilanase dan kompleks xilanase-MNPs menunjukkan karakteristik pita pada 2920 cm<sup>-1</sup> (-CH sp<sup>3</sup>) dan 1530-1660 cm<sup>-1</sup> yang dikaitkan dengan absorbansi dari kelompok amino dari xilanase [2]

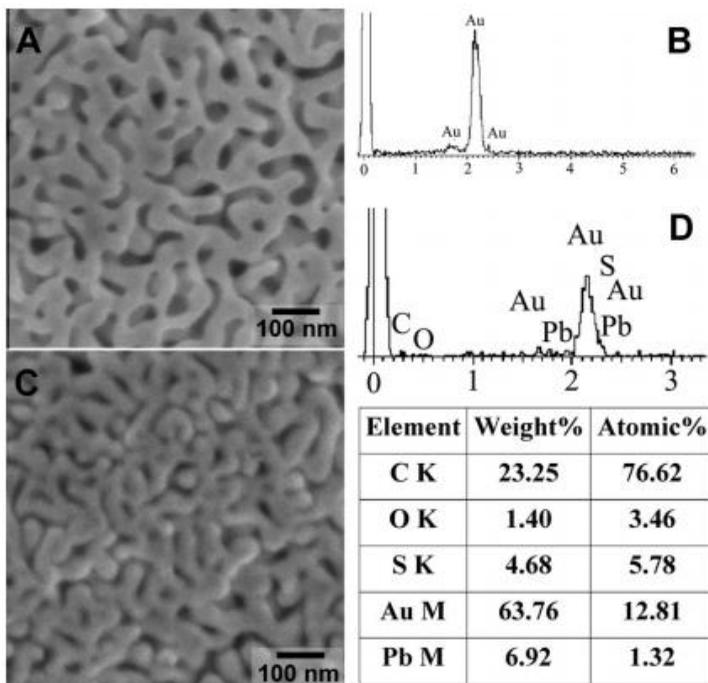
### 2.10.2 Instrumentasi SEM

Instrumentasi SEM digunakan untuk mengamati morfologi dari suatu bahan atau material. Prinsipnya adalah sifat gelombang dari elektron yaitu difraksi pada sudut yang sangat kecil. Jika sampel yang diuji tidak bersifat konduktif, maka sampel harus dilapisi (*coating*) terlebih dahulu dengan lapisan emas. Prinsip kerja dari SEM hampir mirip dengan mikroskop optik, perbedaannya terletak pada perangkatnya. Pertama, berkas elektron disejajarkan dan difokuskan oleh magnet yang didesain khusus berfungsi sebagai lensa. Energi elektron biasanya 100 keV, yang menghasilkan panjang gelombang kira-kira 0,04 nm. Spesimen sasaran dikondisikan dengan sangat tipis

agar berkas yang dihantarkan tidak diperlambat atau dihamburkan terlalu banyak. Bayangan akhir diproyeksikan ke dalam layar pendar atau film. Berbagai distorsi yang terjadi akibat masalah pemfokusan dengan lensa magnetik membatasi resolusi hingga sepersepuluh nanometer [57].

Morfologi dari NPG (*Nano Porous Gold*) ditunjukkan pada **Gambar 2.5A**, dapat dilihat bahwa matriks NPG masih dalam keadaan berpori, yang ukuran porinya sekitar 30 nm. Jika dilihat dari analisis EDS pada **Gambar 2.5B**, komposisi yang muncul hanya Au (emas). Morfologi xilanase-NPG dapat dilihat pada **Gambar 2.5C** bahwa, sebagian besar pori pada matriks NPG terisi dengan xilanase. Jika dilihat dari analisis EDS pada **Gambar 2.5D**, terdeteksi unsur yang dominan, antara lain, C, O, S dan Pb. Berdasarkan analisa diatas, sehingga memberikan bukti primer bahwa amobilisasi enzim pada matriks NPG (*Nano Porous Gold*) berhasil [58]

Berikut adalah **Gambar 2.5** penampang morfologi permukaan dan beserta analisa EDS dari NPG dan xilanase-NPG [58]



**Gambar 2.5** Morfologi dan analisa EDS dari NPG dan xilanase-NPG

## 2.11 Hipotesis

- a. Variasi suhu dan waktu penyimpanan berpengaruh terhadap kestabilan aktivitas xilanase dari *Trichoderma viride* yang diamobilisasi dengan menggunakan matriks zeolit.
- b. Enzim xilanase dari *Trichoderma viride* yang diamobilisasi dengan menggunakan matriks zeolit dapat digunakan berulang kali.
- c. Terdapat gugus-gugus fungsi penyusun enzim pada spektrum IR dari kompleks enzim-matriks dan terdapat enzim yang menempel pada matriks zeolit ketika diidentifikasi dengan instrumentasi SEM