



**IMOBILISASI ENDO- $\beta$ -1,4-D-XILANASE  
MENGUNAKAN SILIKA YANG DISINTESIS  
DARI TEOS UNTUK PRODUKSI XILOOLIGOSAKARIDA**

**SKRIPSI**

Oleh

**Shelly Trissa R  
131810301028**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**



**IMOBILISASI ENDO- $\beta$ -1,4-D-XILANASE  
MENGUNAKAN SILIKA YANG DISINTESIS  
DARI TEOS UNTUK PRODUKSI XILOOLIGOSAKARIDA**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1) dan mencapai gelar Sarjana Sains

oleh

**Shelly Trissa R**

**NIM 131810301028**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda tercinta Sulastri dan Ayahanda Sutrisno. Terimakasih banyak untuk semua pengorbanan, doa, bimbingan, nasehat dan kasih sayang yang selalu diberikan tiada hentinya;
2. saudaraku Muhammad Yusril Fauzan yang selalu memberikan doa, nasehat dan dukungannya;
3. Almamater SD Al Baitul Amien Jember, SMPN 4 Jember, SMAN 3 Jember, serta Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jember;
4. keluarga besar TITANIUM angkatan 2013 yang selama ini telah berjuang bersama dari awal masuk, hingga saat ini. Terimakasih telah berbagi suka, duka, pengalaman, dan kenangan yang tidak terlupakan;
5. sahabat B JL kesayangan (Angelia, Laiq, Nanda, Ila, Khotim dan Efa) terimakasih untuk semua momen jatuh bangun dimasa perkuliahan yang selalu dilewati bersama;
6. sahabat DS (Mutiara, Intan, Tanti, Mariska, Alivia, Ilham dan Rosi) terimakasih untuk selalu bersedia menjadi tim hore selama ini;
7. teman-teman CDAST (Nunung, Riza, dan Mbak Linda) selamat atas semua kerja keras kita, terimakasih sudah dengan sabar dan semangat melewati semua proses skripsi;
8. anak lebah yang selama ini menjadi *getaway* dari semua drama. Terimakasih telah memberikan semangat;
9. teman-teman skripsweet yang berjuang bersama mulai dari penulisan bab 1 hingga akhirnya kita bisa menulis persembahan, terimakasih banyak;
10. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

**MOTTO**

“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”  
**(Q.s. Al-Baqarah:286)\***

“Dan Aku telah melimpahkan kasih sayang yang datang dari-Ku; dan supaya kamu diasuh dibawah pengawasan-Ku”  
**(Q.s. At-Thaha:39)\*\***

---

\*) Departemen Agama Proyek Pengabdian Kitab Suci Al-Qur'an. 1975. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Jakarta: PT. Bumi Restu.

\*\*) Kementerian Agama RI. 2007. *Al-Qur'an dan Terjemahnya dilengkapi dengan Kajian Usul Fiqih dan Intisari Ayat*. Bandung: PT. Sygma Examedia Arkanleema.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Shelly Trissa R

NIM : 131810301028

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: “Imobilisasi Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase Menggunakan Silika yang Disintesis dari TEOS untuk Produksi Xilooligosakarida” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sebelumnya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 24 Juni 2018

Yang menyatakan,

Shelly Trissa R

NIM 131810301028

**SKRIPSI**

**IMOBILISASI ENDO- $\beta$ -1,4-D-XILANASE  
MENGUNAKAN SILIKA YANG DISINTESIS  
DARI TEOS UNTUK PRODUKSI XILOOLIGOSAKARIDA**

Oleh

Shelly Trissa R  
NIM 131810301028

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr.A.A Istri Ratnadewi, S.Si, M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Suwardiyanto S.Si., M.Si., Ph.D.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Imobilisasi Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase Menggunakan Silika yang Disintesis dari TEOS untuk Produksi Xilooligosakarida” karya Shelly Trissa R telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Anggota I,

Dr.A.A.Istri Ratnadewi, S.Si, M.Si.  
NIP. 197012251997022001

Suardiyanto, S.Si., M.Si., Ph.D.  
NIP. 197501191998021001

Anggota II,

Anggota III,

drh.Wuryanti Handayani, M.Si  
NIP. 196008221985032002

Tanti Haryati S.Si., M.Si  
NIP. 198010292005012002

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Drs. Sujito, Ph.D.  
NIP. 196102041987111001



## RINGKASAN

**Imobilisasi Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase Menggunakan Silika yang Disintesis dari TEOS untuk Produksi Xilooligosakarida;** Shelly Trissa R, 131810301028; 2018: 62 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Endoxilanase merupakan salah satu enzim xilanase yang mampu menghidrolisis polisakarida seperti xylan. Endoxilanase akan memutus ikatan  $\beta$ -1,4 pada bagian rantai utama xylan secara teratur, sehingga menghasilkan gula yang lebih sederhana seperti xilooligosakarida. Xilooligosakarida merupakan gula yang tersusun dari dua hingga tujuh unit xilosa yang dihubungkan dengan ikatan  $\beta$ -1,4. Xilooligosakarida dimanfaatkan sebagai prebiotik ketika dikonsumsi oleh tubuh manusia (Moura *et al.*, 2006; Vazquez *et al.*, 2000). Pemanfaatan enzim untuk memproduksi xilooligosakarida sangat menguntungkan, namun memiliki beberapa kelemahan. Secara umum, reaksi enzimatik seperti ini akan sulit untuk memperoleh enzim kembali pada akhir reaksi, sehingga penggunaan ulang enzim terbatas (Krajewska, 2004). Tingginya harga suatu enzim akan menjadi kendala jika reaksi enzimatik digunakan dalam skala besar.

Kendala seperti ini dapat diatasi dengan cara melakukan imobilisasi enzim. Imobilisasi merupakan teknik penjebakan enzim dalam suatu matrik polimer atau pengikatan enzim pada matrik pembawa (Tischer *et al.*, 1999). Enzim terimobilisasi memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan enzim murni tanpa imobilisasi, yaitu lebih mudah dipindahkan dari campuran reaksi, dapat digunakan berulang-ulang, dan langsung menghasilkan produk yang bebas enzim (Tischer *et al.*, 1999).

Imobilisasi yang dilakukan menggunakan metode ikatan kovalen. Enzim yang digunakan pada penelitian ini yaitu endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang diproduksi dari isolat *Bacillus sp.* asal mikroorganisme abdomen rayap. Enzim hasil produksi dipurifikasi dan dikarakterisasi untuk melihat aktivitas serta kadar proteinnya. Enzim dengan aktivitas terbesar digunakan untuk proses imobilisasi. Matrik pembawa yang digunakan pada proses imobilisasi yaitu silika. Silika yang



digunakan merupakan hasil sintesis dari prekursor *Tetraethylorthosilicate* (TEOS) dengan metode sol-gel. Sintesis dilakukan dengan memvariasi perbandingan mol katalis  $\text{NH}_3$ :TEOS 0,03 ; 0,06 ; 0,12. Hasil sintesis dikarakterisasi menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) untuk melihat ukuran silika yang dihasilkan. Silika hasil sintesis digunakan untuk mengimobilisasi endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase dengan bantuan glutaraldehida. Penggunaan glutaraldehida berfungsi sebagai jembatan antara silika dengan enzim untuk berikatan secara kovalen. Gugus amino yang bersifat nukleofilik dapat menyerang suatu elektrofil yaitu gugus aldehida yang terdapat pada silika

Enzim terimobilisasi ini kemudian digunakan untuk menghidrolisis xilan oat konsentrasi 0,8% dan dihidrolisis pada suhu 40° C selama 12 jam. Penggunaan berulang endo-  $\beta$  -1,4-D-xilanase terimobil juga dilakukan pada suhu 40° C selama 12 jam dengan melakukan sebanyak 4 siklus hidrolisis. Produk hidrolisis diuji secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis xilooligosakarida secara kualitatif dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), sedangkan kuantitatif menggunakan perhitungan gula pereduksi.

Hasil penelitian menunjukkan ukuran silika yang dihasilkan dari sintesis variasi perbandingan mol  $\text{NH}_3$ :TEOS 0,03 ; 0,06 ; 0,12 berturut-turut adalah 88,48 nm ; 271,31 nm ; 473,52 nm. Ketiga silika hasil sintesis digunakan sebagai matrik pembawa pada proses imobilisasi enzim. Enzim yang digunakan adalah endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang telah dimurnikan dengan nilai enzim spesifik sebesar 0,171 U/mg. Enzim terimobil pada silika ukuran 88,48 nm ; 271,31 nm ; 473,52 nm secara berturut-turut menghasilkan nilai yield imobilisasi 30,49% ; 15,10% ; 10,57% , hasil ini menunjukkan persentase protein enzim yang berhasil melekat pada silika. Penelitian ini juga menggunakan silika nanopartikel komersial ukuran 20 nm sebagai pembanding silika nanopartikel hasil sintesis (silika ukuran 88,48 nm). Silika nanopartikel komersial ukuran 20 nm menghasilkan yield imobilisasi sebesar 50,37%. Enzim terimobil pada silika ukuran 88,48 nm ; 271,31 nm ; 473,52 nm menghasilkan efisiensi imobilisasi berturut-turut adalah dan 41,25% ; 31,88% ; 19,38%. Silika nanopartikel 20 nm menghasilkan efisiensi imobilisasi

sebesar 60,41%. Hasil ini menunjukkan persentase kemampuan enzim terimobil untuk menghasilkan produk dibandingkan dengan enzim bebas.

Produk hasil hidrolisis xilan menggunakan enzim terimobil hanya menunjukkan komponen xilopentosa (X5) pada analisis KLT, dibuktikan dengan nilai faktor retardasi yang mendekati standar X5. Perhitungan total kadar gula pereduksi hasil hidrolisis enzim terimobil pada silika ukuran 88,48 nm ; 271,31 nm ; 473,52 nm; dan 20 nm secara berturut-turut adalah 0,727 mg/mL; 0,666 mg/mL; 0,641 mg/mL; dan 0,785 mg/mL. Semua variasi enzim terimobil menghasilkan total gula pereduksi yang lebih banyak dibandingkan dengan enzim bebas yang hanya menghasilkan 0,349 mg/mL.

Kesimpulan dalam penelitian ini yaitu teknik imobilisasi endo-  $\beta$ -1,4-D-xilanase yang dilakukan lebih efisien dibandingkan penggunaan enzim secara bebas. Ditinjau dari kemampuan enzim untuk digunakan secara berulang dan jumlah produk yang dihasilkan. Imobilisasi endo-  $\beta$ -1,4-D-xilanase menggunakan silika hasil sintesis menunjukkan persen yield dan efisiensi imobilisasi yang lebih rendah dibandingkan dengan silika komersial.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulisan skripsi yang berjudul “Imobilisasi Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase Menggunakan Silika yang Disintesis dari TEOS untuk Produksi Xilooligosakarida” dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan pendidikan program sarjana strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

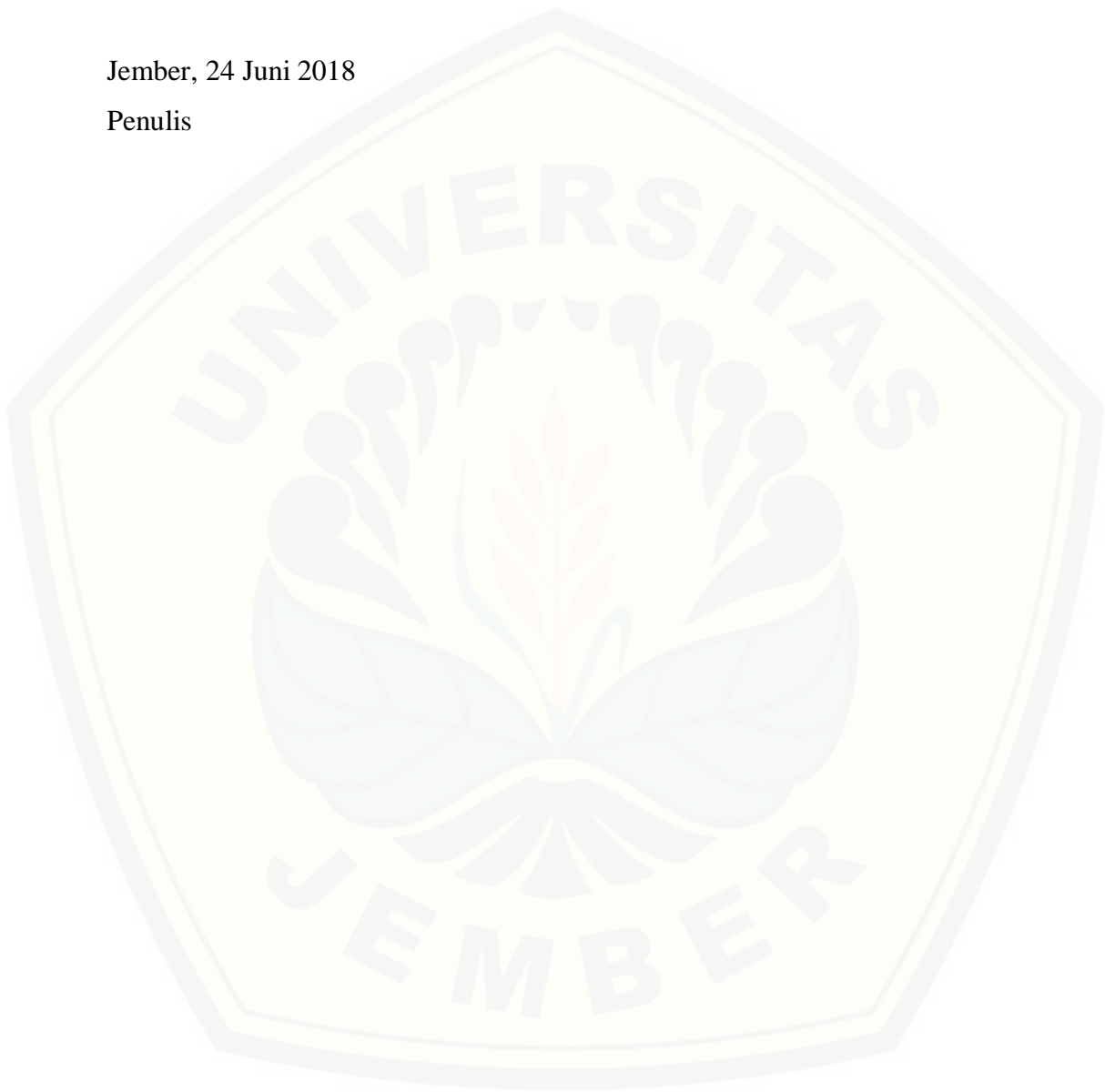
Penulisan skripsi ini banyak mendapatkan bantuan moril maupun materil dari berbagai pihak, sehingga ucapan terima kasih disampaikan dengan tulus kepada:

1. Drs. Sujito, Ph.D, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si, selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. Dr.A.A.Istri Ratnadewi, S.Si.,M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Suwardiyanto, S.Si., M.Si., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, kasih sayang serta doa dan membimbing dengan penuh kesabaran dalam penulisan skripsi ini;
4. drh.Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Penguji I dan Tanti Haryati, S.Si, M.Si., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya guna menguji serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. drh.Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama menjadi mahasiswa;
6. bapak dan ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA UNEJ yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan;
7. teknisi-teknisi laboratorium Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
8. teman-teman Titanium yang telah berjuang bersama;

Segala bentuk kritik dan saran yang bersifat membangun diharapkan dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat terhadap perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang kimia.

Jember, 24 Juni 2018

Penulis



DAFTAR ISI

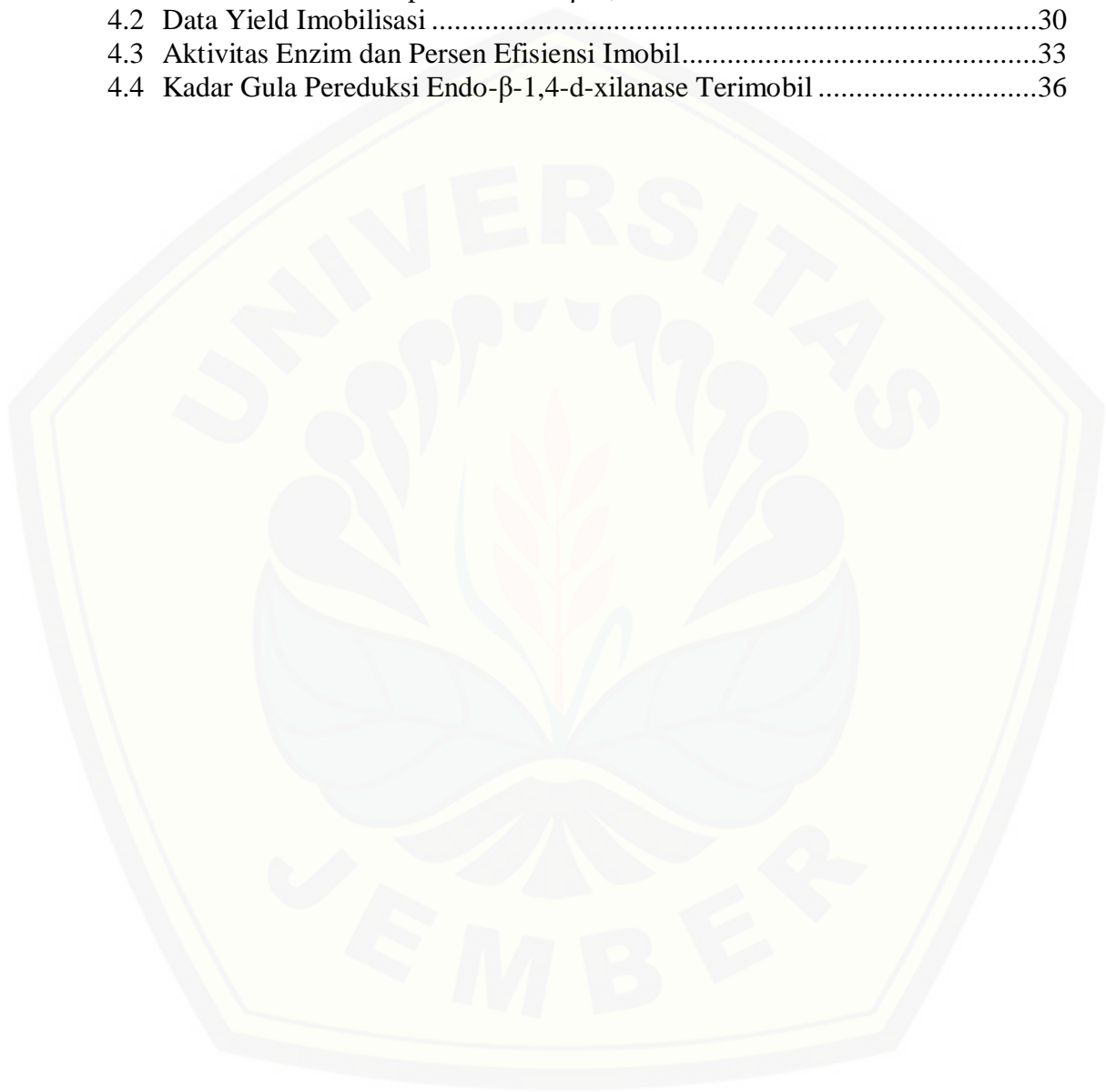
	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Batasan Masalah</b> .....	3
<b>1.4 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.5 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Endo-<math>\beta</math>-1,4-d-xilanase</b> .....	5
<b>2.2 Xilan</b> .....	5
<b>2.3 Xilooligosakarida (XOS)</b> .....	6
<b>2.4 Imobilisasi Enzim</b> .....	7
<b>2.5 Glutaraldehida</b> .....	9
<b>2.6 Silika Nanopartikel</b> .....	11
<b>2.7 Tetraethylorthosilicate (TEOS)</b> .....	12
<b>2.8 Scanning Electron Microscopy (SEM)</b> .....	13
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	14
<b>3.1 Waktu dan Tempat Penelitian</b> .....	14
<b>3.2 Alat dan Bahan</b> .....	14
3.2.1 Alat .....	14
3.2.2 Bahan .....	14
<b>3.3 Tahap Penelitian</b> .....	16
3.3.1 Pembuatan Media dan Larutan Uji .....	17
a. Media Luria Bertani (LB) Cair .....	17
b. Media Luria Bertani (LB) Padat .....	17
c. Media Produksi .....	17
d. Buffer sitrat-fosfat pH 5 .....	17
e. Reagen Bradford .....	17
f. Reagen Miller .....	18
g. Xilan Oat .....	18
3.3.2 Produksi dan Pemurnian Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase .....	18

3.3.3 Penentuan Aktivitas Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase .....	19
3.3.4 Penentuan Kadar Protein Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase .....	20
3.3.5 Penentuan Aktivitas Enzim Spesifik.....	21
3.3.6 Sintesis Silika Nanopartikel .....	21
3.3.7 Karakterisasi SEM .....	22
3.3.8 Modifikasi Gugus Fungsi Silika Nanopartikel .....	22
3.3.9 Imobilisasi Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase .....	22
3.3.10 Penentuan Efisiensi Imobilisasi dan Yield Imobilisasi .....	23
3.3.11 Hidrolisis Xilan Oat .....	23
a. Analisis kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	23
b. Kadar Gula Pereduksi.....	24
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>25</b>
<b>4.1 Ukuran Silika Nanopartikel</b> .....	<b>25</b>
<b>4.2 Endo-<math>\beta</math>-1,4-d-xilanase</b> .....	<b>27</b>
<b>4.3 Endo-<math>\beta</math>-1,4-d-xilanase Terimobil</b> .....	<b>30</b>
<b>4.4 Efisiensi Enzim Terimobil</b> .....	<b>31</b>
<b>4.5 Karakteristik XOS</b> .....	<b>33</b>
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	<b>37</b>
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	<b>37</b>
<b>5.2 Saran</b> .....	<b>37</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>38</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>43</b>



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
3.1 Volume H <sub>2</sub> O, TEOS, EtOH, dan NH <sub>3</sub> .....	22
4.1 Aktivitas dan Kadar protein Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase .....	29
4.2 Data Yield Imobilisasi .....	30
4.3 Aktivitas Enzim dan Persen Efisiensi Imobil.....	33
4.4 Kadar Gula Pereduksi Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase Terimobil .....	36





**DAFTAR GAMBAR**

2.1 Struktur Xilan .....	6
2.2 Struktur Xilooligosakarida .....	7
2.3 Metode Imobilisasi Enzim.....	9
2.4 Modifikasi Permukaan Silika Nanopartikel .....	10
2.5 Modifikasi Silika nanopartikel dengan Glutaraldehida serta Skema Ikatan Kovalen dengan Enzim .....	11
2.6 Struktur TEOS .....	12
3.1 Diagram Alir Penelitian.....	16
4.1 Hasil SEM.....	26
4.2 Ukuran partikel Silika .....	27
4.3 Perbandingan Jumlah Katalis $\text{NH}_3$ dengan Ukuran Silika .....	27
4.4 Perubahan Aktivitas Enzim terhadap Penggunaan Berulang Enzim .....	32
4.5 Kromatogram.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.3 Penentuan Aktivitas Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase .....	43
3.3.1 Kurva Standar Xilosa .....	43
3.3.2 Pengukuran Aktivitas Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase .....	43
3.4 Penentuan Kadar Protein Endo- $\beta$ -1,4-d-xilanase.....	45
3.4.1 Kurva Standar BSA .....	45
3.4.2 Perhitungan Kadar Protein .....	45
3.5 Penentuan Aktivitas Enzim Spesifik .....	46
3.6 Sintesis Silika Nanopartikel.....	46
3.7 Karakterisasi SEM .....	55
3.7.1 Hasil SEM Sintesis Silika Perbandingan $\text{NH}_3$ : TEOS 0,03.....	55
3.7.2 Hasil SEM Sintesis Silika Perbandingan $\text{NH}_3$ : TEOS 0,06.....	56
3.7.3 Hasil SEM Sintesis Silika Perbandingan $\text{NH}_3$ : TEOS 0,12.....	57
3.10 Penentuan Efisiensi Imobilisasi dan Yield Imobilisasi .....	57
3.10.1 Perhitungan Persen Yield Imobilisasi .....	57
3.10.2 Perhitungan Persen Efisiensi imobilisasi .....	59
3.11 Karakterisasi XOS.....	61
3.11.1 Perhitungan Rf.....	61
3.11.2 Kadar Gula Peredukdi Enzim Terimobil .....	62

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Endoxilanase merupakan salah satu enzim xilanase yang mampu menghidrolisis hemiselulosa seperti xylan. Endoxilanase akan memutus ikatan  $\beta$  - 1,4 pada bagian rantai utama xylan secara teratur, sehingga menghasilkan gula yang lebih sederhana seperti xilooligosakarida. Xilooligosakarida merupakan gula yang tersusun dari dua hingga tujuh unit xilosa yang dihubungkan dengan ikatan  $\beta$ -1,4. Xilooligosakarida dimanfaatkan sebagai prebiotik ketika dikonsumsi oleh tubuh manusia (Moura *et al.*, 2006; Vazquez *et al.*, 2000).

Pemanfaatan enzim untuk memproduksi xilooligosakarida sangat menguntungkan, namun memiliki beberapa kelemahan. Secara umum, reaksi enzimatik seperti ini akan sulit untuk memperoleh enzim kembali pada akhir reaksi, sehingga penggunaan ulang enzim terbatas (Krajewska, 2004). Tingginya harga suatu enzim akan menjadi kendala jika reaksi enzimatik digunakan dalam skala besar. Kendala seperti ini dapat diatasi dengan cara menggabungkan enzim secara fisik atau kimia dengan suatu matrik yang tidak dapat larut dalam air sehingga enzim dengan mudah diperoleh kembali pada akhir reaksi dan dapat digunakan berulang, yang dikenal sebagai imobilisasi enzim. Enzim terimobilisasi akan mampu mempertahankan aktivitas dan stabilitasnya sehingga dapat digunakan berulang dan kontinyu (Jegannathan *et al.*, 2008).

Dhiman *et al* (2011) membandingkan hasil enzim terimobil dengan enzim bebas. Xilanase dari *Pholiota adiposa* diimobil secara ikatan kovalen dengan matrik silika nanopartikel dan melaporkan bahwa xilanase terimobil menghasilkan 45% xilooligosakarida lebih banyak dibanding dengan xilanase tanpa imobilisasi serta menunjukkan aktivitas enzim yang masih baik setelah 17 siklus penggunaan berulang. Menurut Singh *et al* (2011) terdapat berbagai macam metode untuk mengimobilisasi suatu protein enzim kedalam matrik pendukung dan yang paling stabil adalah menggunakan metode ikatan kovalen. Umumnya, gugus amina dari enzim yang berperan sebagai nukleofil dapat berikatan secara kovalen dengan

gugus yang bersifat elektrofil dari matrik pembawanya. Matrik pembawa yang digunakan pada imobilisasi ikatan kovalen terdapat bermacam-macam seperti kitin, *glass bead*, *sepabead*, kitosan, silika gel, silika nanopartikel dan lain sebagainya. Jenis dan ukuran matrik pembawa akan menentukan hasil efisiensi imobilisasi.

Zhang *et al* (2011) mengimobilisasi xilitol dehidrogenase secara ikatan kovalen menggunakan beberapa matrik yaitu *amberlite*, *sepabeads*, diaion, eupergit, silika nanopartikel 15 nm, 30 nm, 80 nm serta silika 3000 nm dan melaporkan bahwa imobilisasi menggunakan silika nanopartikel 15 nm menghasilkan efisiensi imobilisasi terbaik. Ukuran matrik pembawa yang semakin kecil akan memiliki daya tampung enzim yang semakin baik karena luas permukaan spesifiknya semakin besar.

Silika nanopartikel banyak dipilih sebagai matrik pembawa imobilisasi karena memiliki luas permukaan yang lebar sehingga kemampuan untuk mengikat enzim semakin baik (Kim *et al*, 2006). Silika nanopartikel dapat diperoleh secara komersial ataupun dengan sintesis. Metode sintesis silika nanopartikel yang cukup sederhana dan dapat menggunakan temperatur rendah adalah metode sol-gel. Berdasarkan penelitian Bracho *et al* (2011) menyatakan bahwa perbandingan rasio mol antara  $\text{NH}_3$ :*Tetraethylorthosilicate* (TEOS) yang akan menghasilkan nanopartikel adalah 0,03 hingga 0,35. Ibrahim, (2010) melakukan sintesis silika nanopartikel menggunakan metode sol gel dengan memvariasi mol katalis  $\text{NH}_3$  yaitu  $\text{NH}_3$  0,11 : TEOS 0,28 yang menghasilkan silika berukuran 55 nm serta perbandingan  $\text{NH}_3$  0,3 : TEOS 0,28 yang menghasilkan silika ukuran 130 nm.

Penelitian ini mengimobilisasi endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang diproduksi dari isolat bakteri *Bacillus sp* asal mikroorganisme abdomen rayap, dengan silika secara ikatan kovalen. Silika yang digunakan untuk imobilisasi difungsionalisasi menggunakan glutaraldehid terlebih dahulu sehingga dapat membentuk ikatan kovalen dengan enzim. Silika yang digunakan disintesis dari TEOS dengan metode sol-gel. Ukuran silika akan divariasikan dengan cara pemberian konsentrasi  $\text{NH}_3$  yang berbeda selama proses sintesis. Pemberian katalis  $\text{NH}_3$  yang semakin banyak akan menghasilkan ukuran partikel yang semakin besar. Variasi ukuran

silika ini dilakukan untuk melihat pengaruh ukuran matrik terhadap yield imobilisasi dan aktivitas enzim imobilisasi (effisiensi imobilisasi). Silika hasil sintesis dikarakterisasi ukurannya menggunakan SEM. Produk hasil hidrolisis endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase terimobilisasi diuji dengan KLT.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka diperoleh rumusan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana karakteristik silika hasil sintesis ditinjau dari (a) ukuran partikel ; (b) pengaruhnya terhadap persen yield imobilisasi
2. Seberapa besar perubahan aktivitas endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang terimobilisasi (persen effisiensi) dengan silika setelah digunakan untuk empat kali hidrolisis?
3. Bagaimana karakterisasi xilooligosakarida hasil hidrolisis?

## 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini meliputi :

1. Xilan yang digunakan pada penelitian ini adalah xilan oat.
2. Kondisi hidrolisis dengan menggunakan endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yaitu 12 jam pada suhu 40°C, dan pH 5.

## 1.4 Tujuan

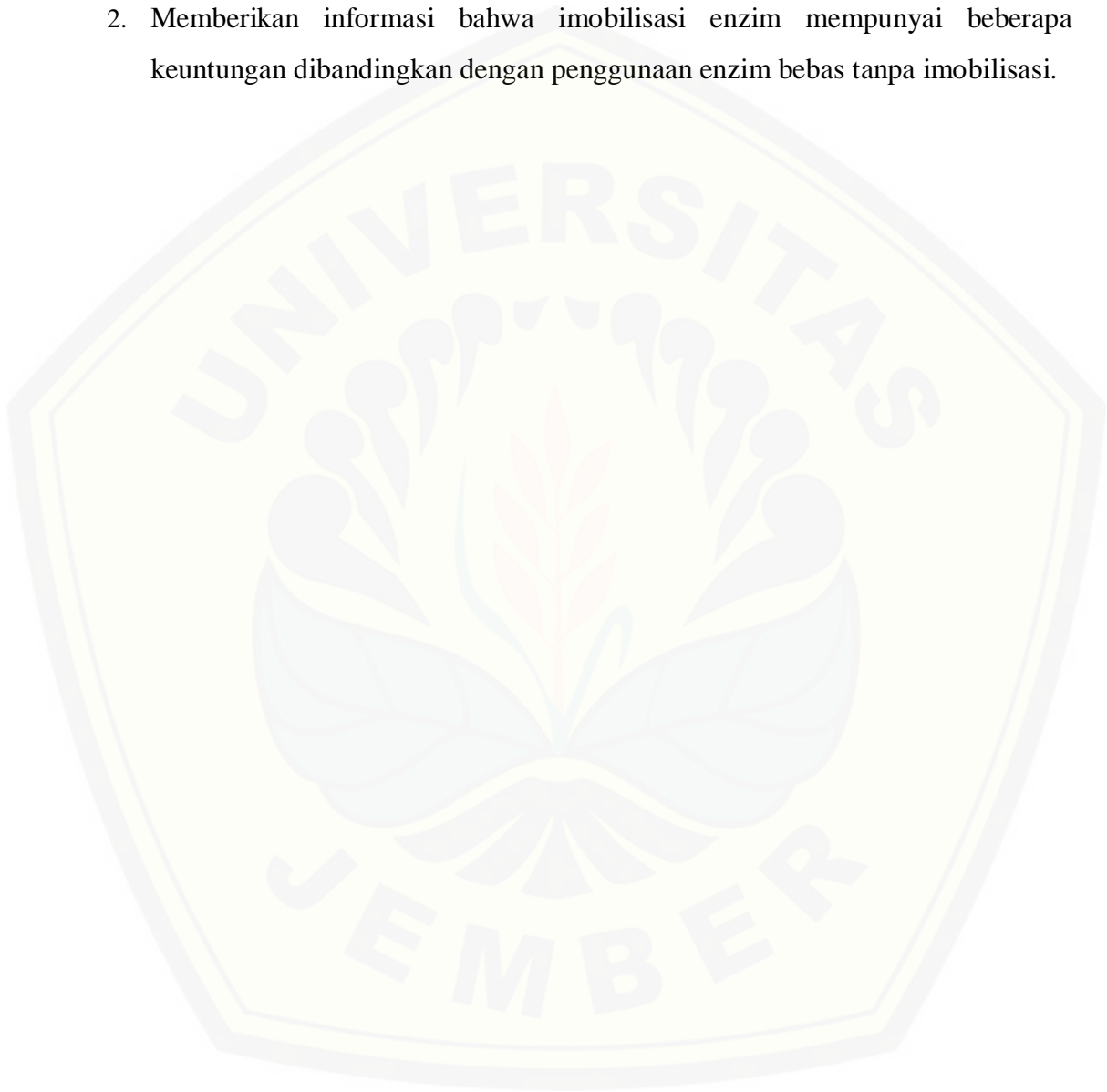
Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui ukuran silika hasil sintesis serta pengaruhnya terhadap persen yield imobilisasi enzim.
2. Mengetahui aktivitas endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang telah terimobilisasi dengan silika setelah penggunaan berulang sebanyak empat kali.
3. Mengetahui komposisi xilooligosakarida hasil hidrolisis xilan dengan endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang telah terimobilisasi dengan silika.

### 1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi bahwa silika yang disintesis dari TEOS dapat digunakan sebagai matrik pendukung imobilisasi enzim.
2. Memberikan informasi bahwa imobilisasi enzim mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan dengan penggunaan enzim bebas tanpa imobilisasi.





## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase

Enzim merupakan biomolekul berupa protein yang terdiri dari satu atau lebih rantai polipeptida (Wirahadikusumah, 1989). Enzim merupakan biokatalisator yang akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia, dimana reaksi tersebut tanpa enzim akan berlangsung lama. Enzim bekerja dengan cara menempel pada permukaan molekul zat-zat yang bereaksi sehingga mempercepat proses reaksi. Percepatan reaksi terjadi karena enzim menurunkan energi pengaktifan sehingga akan mempermudah terjadinya reaksi. Enzim mengikat molekul substrat membentuk kompleks enzim substrat yang bersifat sementara dan lalu terurai membentuk enzim bebas dan produknya (Lehninger, 1995).

Reaksi enzimatik berperan penting dalam reaksi hidrolisis xilan. Enzim utama yang digunakan untuk hidrolisis xilan adalah endo- $\beta$ -1,4-xilanase dan  $\beta$ -xilosidase. Produksi enzim dapat berasal dari beragam sumber, seperti jamur, bakteri, ganggang laut, dan lain-lain. Sumber produksi enzim secara komersial dihasilkan dari jamur (Shallom & Shoham, 2003).

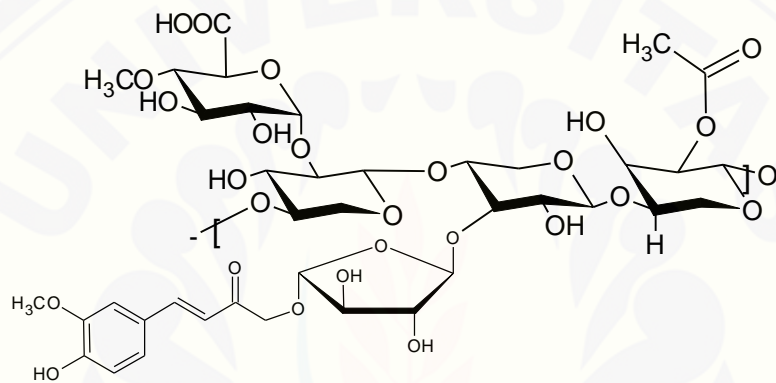
Endoxilanase dapat menghidrolisis polisakarida seperti, xylan dan memiliki aplikasi serbaguna (Belanic *et al.*, 1995). Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase menyerang rantai utama xilan dengan cara membelah ikatan 1,4  $\beta$ -D-silosidik dan mengkatalisis pelepasan xilooligosakarida (Ximenes *et al.*, 1999). Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang digunakan pada penelitian ini berasal dari abdomen rayap yang telah berhasil diisolasi dan dimurnikan oleh Ratnadewi dan Handayani (2007). Hampir semua endoxilanase dapat menghidrolisis rantai utama xilan yang tidak tersubstitusi oleh gugus arabinosa (Tuohy *et al.*, 2001).

### 2.2 Xilan

Xilan merupakan salah satu penyusun dalam sel tumbuhan. Xilan dalam sel tumbuhan yang memiliki kayu keras (*hardwood*) seperti Birch memiliki presentasi 30% sedangkan dalam tumbuhan kayu lunak (*softwood*) seperti cemara



memiliki presentase sebesar 8%. Xilan merupakan komponen utama dari hemiselulosa yaitu polimer dari unit  $\beta$ -D-xilopiranosil yang diikat oleh ikatan glikosida dengan jumlah monomer berkisar antara 150-200 unit (Sunna dan Antranikian, 1997). Monomer utama pada sebagian besar xilan yaitu D-xilosa, D-manosa, D-galaktosa, dan L-arabinosa (Ibrahim, 1998). Xilan yang digunakan sebagai substrat pada penelitian ini adalah xilan oat. Struktur rantai xilan yang akan dipotong endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase membentuk produk xilooligosakarida dapat dilihat pada Gambar 2.1.



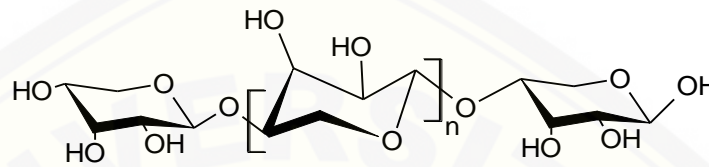
Gambar 2.1 Struktur xilan (Vazquez *et al.*, 2006)

### 2.3 Xilooligosakarida (XOS)

Xilooligosakarida merupakan gula oligomer yang terbuat dari satuan xilosa dengan rantai panjang antara 2 hingga 10 rantai dan merupakan bahan makanan yang tidak dapat dicerna oleh tubuh (Manisseri dan Gudipati, 2010). Xilooligosakarida terbuat dari bahan utama pembentuk xilosa yang memiliki ikatan  $\beta$ , 1 $\rightarrow$ 4 (Gambar 2.2). Xilooligosakarida biasanya diproduksi dari lignoselulosa dan xilan yang terkandung pada kayu keras, jagung, tongkol, jerami, sekam padi atau kulit padi (Gullon *et al.*, 2011).

Xilanase memiliki tempat yang istimewa bagi komunitas ilmiah karena memiliki aplikasi yang cukup luas dalam bidang industri. Salah satu aplikasi xilanase yang cukup diminati adalah produksi xilooligosakarida (Dhiman *et al.*, 2008). Xilooligosakarida memiliki potensi sebagai prebiotik bagi manusia dan hewan untuk memperbaiki kesehatannya. Xilooligosakarida juga dapat

diaplikasikan dalam bidang pangan dengan cara mencampurkannya pada bahan makanan. Penambahan xilooligosakarida pada bahan pangan efektif memberikan manfaat seperti menurunkan jumlah kolesterol, meningkatkan proses biologikal dari kalsium, lebih dari itu xilooligosakarida yang terdapat dalam bahan makanan dapat diterima oleh tubuh dan tidak menyebabkan keracunan maupun efek negatif lainnya bagi kesehatan manusia (Moriss *et al.*, 1993).



Gambar 2.2 Struktur Xilooligosakarida(Akpinar *et al.*, 2007)

#### 2.4 Imobilisasi Enzim

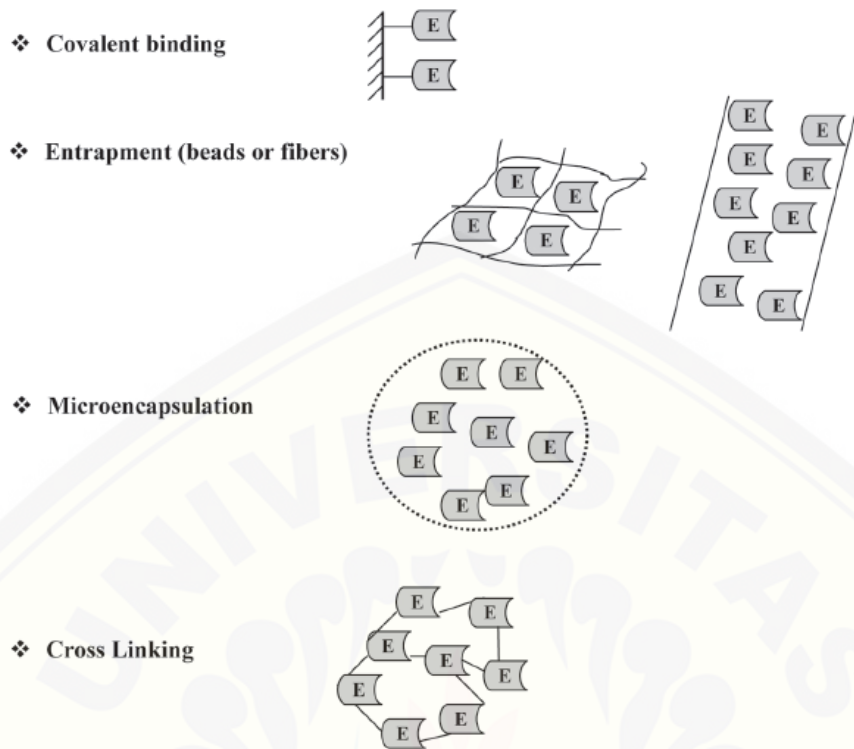
Imobilisasi enzim merupakan teknik penjebakan enzim dalam suatu matrik polimer atau pengikatan enzim pada matrik pembawa. Enzim terimobil memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan enzim murni tanpa imobilisasi, yaitu lebih mudah dipindahkan dari campuran reaksi, dapat digunakan berulang-ulang, dan langsung menghasilkan produk yang bebas enzim (Tischer *et al.*, 1999).

Metode imobilisasi enzim ada tiga macam, yaitu, metode *carrier binding*, *entrapping*, dan *cross-linking* (Gambar 2.3). Metode *carrier binding* didasarkan atas pengikatan enzim langsung pada zat pembawa yang tidak larut dalam air. Metode ini dapat dibedakan menjadi tiga yaitu, metode adsorpsi fisik, ikatan ionik, dan ikatan kovalen. Metode *entrapping* atau penjebakan merupakan teknik imobilisasi yang berdasarkan pada pengikatan enzim pada kisi-kisi matrik polimer atau dengan cara menutupi enzim menggunakan membran semipermeabel atau disebut mikrokapsul. Metode *cross-linking* atau ikatan silang yaitu imobilisasi yang berdasarkan pembentukan ikatan kimia, seperti dalam metode ikatan kovalen, namun pembawa yang tidak larut dalam air tidak digunakan dalam metode ini. Imobilisasi enzim dilakukan dengan pembentukan ikatan silang (Hartoto, 2008).

Faktor penting untuk proses imobilisasi enzim adalah pemilihan metode dan matrik pendukung imobilisasi (Hanefeld *et al.*, 2009). Interaksi yang

mendasari antara enzim dengan matrik pendukung meliputi adsorpsi fisik, gaya elektrostatik, *specific recognition*, dan ikatan kovalen (Tan *et al.*, 2008). Metode ikatan kovalen memiliki kestabilan imobilisasi antara enzim dengan matrik pendukung yang lebih baik dibandingkan dengan metode lainnya (Singh *et al.*, 2010). Gugus amino pada enzim dapat menggunakan ikatan kovalen untuk berikatan dengan matrik pendukung (Fessner & Anthonsen, 2009). Gugus amino berperan sebagai nukleofil sehingga dapat menyerang suatu elektrofil seperti epoksida atau aldehida (Singh *et al.*, 2010).

Imobilisasi enzim xilanase untuk menghasilkan xilooligosakarida telah dilakukan oleh Kapoor *et al* (2006) menggunakan beberapa metode, yaitu *entrapping* (gelatin), adsorpsi fisik (kitin), ikatan ionik (*Q-sepharose*), dan ikatan kovalen (HP-20). Semua metode imobilisasi enzim yang dilakukan menghasilkan aktivitas katalitik, termal, kesetabilan pH, dan produksi xilooligosakarida lebih baik dibandingkan dengan enzim bebas tanpa imobilisasi. Metode adsorpsi fisik serta ikatan kovalen mendapatkan hasil yang lebih baik dibandingkan metode lainnya berdasarkan tingginya hasil produksi xilooligosakarida dan biaya yang diperlukan. Imobilisasi enzim xilanase lainnya dilakukan oleh Dhiman *et al*, (2012) menggunakan matrik silika nanopartikel dengan metode ikatan kovalen yang menghasilkan 45% xilooligosakarida lebih banyak dibandingkan dengan enzim bebas serta aktivitasnya hanya berubah menjadi 97% setelah penggunaan 17 siklus. Ikatan kovalen antara enzim dengan matrik silika nanopartikel yang dilakukan Dhiman menggunakan bantuan glutaraldehida.



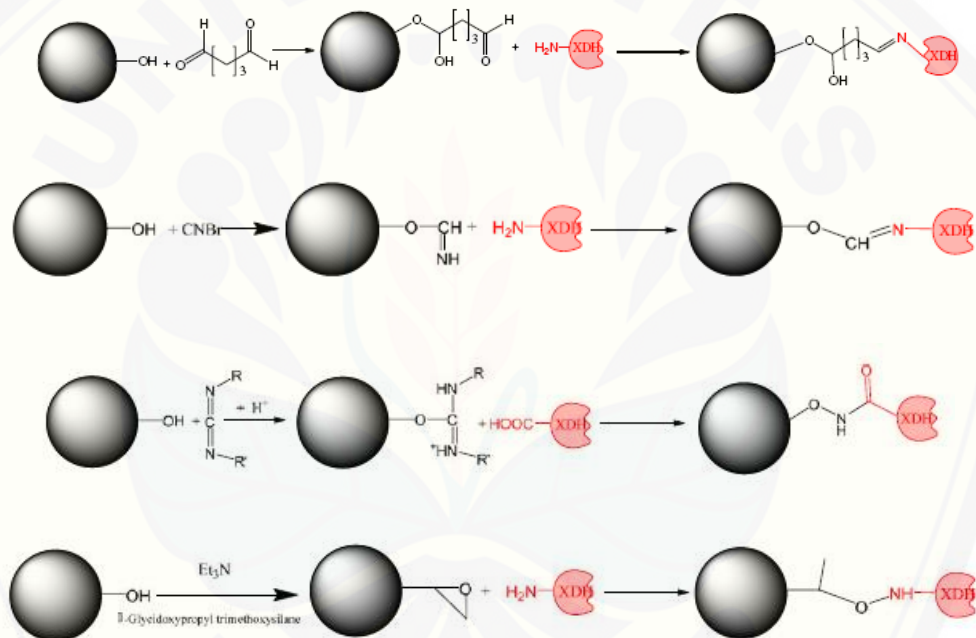
Gambar 2.3 Metode Imobilisasi Enzim (Guisan, 2006).

## 2.5 Glutaraldehida

Glutaraldehida adalah cairan tidak berwarna dengan bau yang menyengat. Glutaraldehida dapat diaplikasikan secara luas mulai dari bidang kesehatan, ilmu pengetahuan, hingga industri. Glutaraldehida adalah desinfektan yang baik untuk perlengkapan kedokteran. Bahan ini juga dapat digunakan sebagai pembersih mikroskop elektron, material penghubung, agen *tanning*, tambahan dalam kosmetik, perlengkapan mandi, pengawet kimia dan lain-lain (Beauchamp *et al.*, 1992).

Zhang *et al* (2010) melakukan penelitian mengenai imobilisasi enzim xilitol dehidrogenase secara ikatan kovalen menggunakan silika nanopartikel yang telah dimodifikasi. Modifikasi yang dilakukan adalah dengan memberikan suatu gugus fungsi di permukaan luar silika nanopartikel. Gugus fungsi yang diberikan antara lain gugus aldehida, sianogen, karbodiimida, serta epoksi. Modifikasi gugus aldehida dilakukan dengan cara mencampur silika nanopartikel dengan glutaraldehida. Modifikasi gugus sianogen dilakukan dengan cara

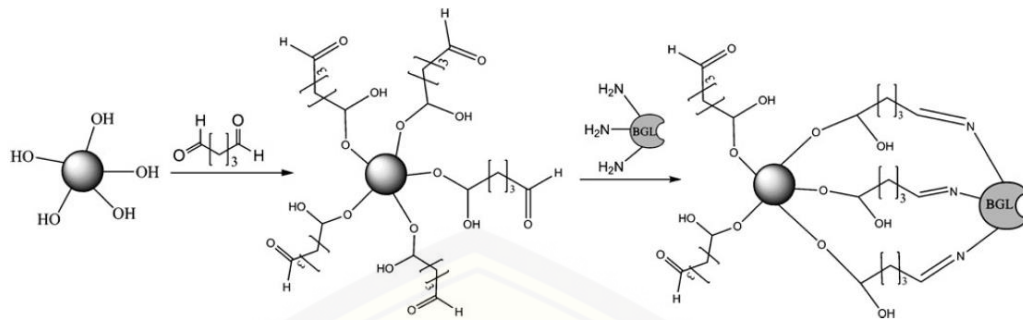
mencampur silika nanopartikel dengan CNBr. Modifikasi gugus karbondiimida dilakukan dengan cara mencampur silika nanopartikel dengan (*1-Cyclohexyl-3-(2-morpholinoethyl) carbodiimide metho-p-toluenesulfonate*) CMT. Modifikasi gugus epoksi dilakukan dengan cara mencampur silika nanopartikel dengan ( $\gamma$ -glycidoxypropyl trimethoxysilane) GT. Modifikasi ini mempermudah terjadinya ikatan kovalen antara enzim dengan silika nanopartikel (Gambar 2.4). Berdasarkan penelitian tersebut diketahui bahwa modifikasi silika nanopartikel yang efektif adalah pemberian gugus epoksi dan aldehida dilihat dari efisiensi imobilisasinya.



Gambar 2.4 Modifikasi permukaan silika nanopartikel (Zhang *et al*, 2010).

Shing *et al* (2010) melakukan imobilisasi  $\beta$ -1,4-glukosidase kedalam silika nanopartikel termodifikasi. Modifikasi yang dilakukan adalah pemberian gugus aldehida menggunakan glutaraldehida (Gambar 2.5). Modifikasi silika nanopartikel menggunakan glutaraldehida semakin banyak digunakan karena lebih efisien. Glutaraldehida lebih terjangkau dibanding dengan agen modifikasi lainnya, serta menghasilkan efisiensi imobilisasi yang baik.





Gambar 2.5 Modifikasi silika nanopartikel dengan glutaraldehida serta skema ikatan kovalen dengan enzim (Shing *et al.*, 2010).

## 2.6 Silika Nanopartikel

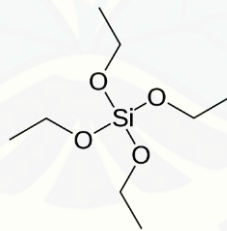
Silika nanopartikel merupakan silika yang dibuat dalam skala nano ( $10^{-9}$  m). Silika nanopartikel saat ini penggunaannya pada bidang industri semakin meningkat. Silika nanopartikel memiliki kestabilan yang baik, inert secara kimia, bersifat biokompatibel yang mampu bekerja selaras dengan sistem kerja tubuh, dan membentuk sperik tunggal (Fernandez, 2012). Silika nanopartikel terbukti penting dalam beberapa aplikasi bioteknologi dan biomedis seperti biosensor, pembawa obat, pelindung sel, agen pembeda pada *Magnetic Resonance Imaging* (MRI) dan ultrasound, serta alat terapi pada sistem pelepasan obat atau enzim (Neethirajen *et al.*, 2009). Silika nanopartikel merupakan matrik pembawa yang baik untuk imobilisasi enzim karena memiliki luas permukaannya dan volume pori yang lebar, ukuran pori yang seragam, dapat dimodifikasi secara kimia dengan mudah, dapat digunakan berulang, dan ramah lingkungan (Zhang *et al.*, 2010).

Beberapa metode yang banyak digunakan untuk mensintesis silika nanopartikel diantaranya sol-gel, mikroemulsi terbalik dan sintesis api. Sol-gel secara luas digunakan untuk memproduksi silika murni karena kemampuannya yang dapat mengontrol ukuran partikel (Rahman & Padavettan, 2012). Metode sol-gel adalah metode preparasi padatan dengan teknik temperatur rendah yang melibatkan transisi dari suatu sistem dengan partikel-partikel mikroskopik yang terdispersi dalam suatu cairan (sol) menjadi material makroskopik (gel) yang mengandung cairan, ketika cairan menguap maka yang tertinggal adalah material

keras seperti gelas. Sol-gel merupakan material amorf dan tidak memiliki dimensi pori yang seragam. Sintesis sol-gel umumnya melalui tahap-tahap hidrolisis dan kondensasi. (Wijaya, 2010).

### 2.7 *Tetraethylorthosilicate* (TEOS)

*Tetraethylorthosilicate* (TEOS) merupakan bahan yang sering digunakan untuk sintesis silika karena merupakan logam alkoksida yang dapat mempermudah kondisi reaksi (Bandyopadhyay *et al.*, 2006). TEOS digunakan sebagai prekursor dan amonia sebagai katalis dalam proses sintesis silika nanopartikel. Pembuatan silika nanopartikel menggunakan metode sol-gel akan melalui reaksi hidrolisis dan kondensasi dengan proses Stöber. Penelitian Stöber menggunakan alkohol atau air untuk mengontrol hidrolisis dan kondensasi dari TEOS. Reaksi hidrolisis dan kondensasi dari TEOS dikatalis menggunakan amonia (Arjasa & Raharjo, 2012). Konsentrasi prekursor (TEOS) sangat berpengaruh terhadap ukuran partikel dari silika. Struktur kimia dari TEOS dapat dilihat pada (Gambar 2.6). Ukuran partikel meningkat seiring kenaikan konsentrasi TEOS dengan konsentrasi amonia dan air adalah konstan (Fernandez, 2012).



Gambar 2.6. Struktur Kimia *Tetraethylorthosilicate* (Xiao *et al.*, 2011)

$\text{NH}_3$  digunakan untuk menghasilkan silika nanopartikel yang halus, seragam, dan homogen dengan ukuran dari 20 sampai 100 nm. Amonia bekerja sebagai katalis basa dalam reaksi hidrolisis. Konsentrasi katalis ( $\text{NH}_3$ ) sangat berpengaruh terhadap ukuran partikel silika. Ukuran partikel silika meningkat seiring kenaikan konsentrasi katalis yang digunakan, dengan konsentrasi TEOS dan air adalah konstan. Pada saat konsentrasi amonia dinaikkan, maka kecepatan hidrolisis dan



kondensasi juga menjadi cepat, sehingga produk intermediet yang dihasilkan semakin tinggi (Ibrahim *et al.*, 2010).

Gugus etoksi TEOS selama proses hidrolisis akan bereaksi dengan molekul air membentuk intermediet  $[\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4 \cdot x (\text{OH})_x]$  dengan substitusi gugus hidroksil (Ibrahim *et al.*, 2010). Hidrolisis molekul TEOS akan membentuk gugus silanol, sedangkan kondensasi antara gugus silanol dan gugus *ethoxy* membuat jembatan *siloxane* (Si-O-Si) yang membentuk silika seutuhnya (Rahman & Padavettan, 2012).

## 2.8 SEM (Scanning Electron Microscopy)

Karakterisasi untuk mengetahui ukuran partikel adalah pemanfaatan prinsip mikroskopis dengan SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Karakterisasi jenis ini dapat digunakan untuk melihat ukuran partikel dari 1 nm hingga 1  $\mu\text{m}$ . Prinsip kerja SEM yaitu dengan menembakan elektron pada sampel dengan perbesaran hingga 100.000 kali tergantung dari spesifikasi alat yang digunakan. Hasil penggambaran yang diperoleh langsung dapat melihat ukuran partikel sampel. Karakterisasi menggunakan SEM sangat baik untuk mengetahui ukuran partikel karena karakterisasinya langsung pada sampel tanpa ada perantara (Gaumet *et al.*, 2007).

SEM menggunakan prinsip *scanning* dengan prinsip utamanya adalah berkas elektron diarahkan pada titik-titik permukaan spesimen. Gerakan elektron diarahkan dari satu titik ke titik lain pada permukaan spesimen. Apabila seberkas sinar elektron ditembakkan pada permukaan spesimen maka sebagian elektron itu akan dipantulkan kembali dan sebagian lagi akan diteruskan. Apabila permukaan spesimen tidak rata, banyak lekukan, lipatan atau lubang-lubang maka tiap bagian permukaan itu akan memantulkan elektron dengan jumlah dan arah yang berbeda dan jika ditangkap detektor akan diteruskan ke sistem layer dan akan diperoleh gambaran yang jelas dari permukaan spesimen dalam bentuk tiga dimensi (Nur, 1997).

## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium *Center for Development of Advanced Sciences and Technology* (CDAST), Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember dan Laboratorium Terpadu Politeknik Jember. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan September 2017 sampai dengan April 2018.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat

Alat utama yang digunakan adalah cawan petri, inkubator suhu 37 °C, otoklaf (*Tomy otoklaf High Pressure Steam Sterilizer ES-315*), alat pengering (oven) (*Air Concept Froilabo*), *laminar air flow*, mikropipet, vortek (*Genie 2, Scientific Industries*), sentrifus (*Hitachi High speed Refrigerated Centrifuges CR 226 III/ CR 216 G III*), neraca analitik (*Precisa, ES 2200 C*), sentrifugasi dingin, stirer magnetik, *water bath*, lemari pendingin. Alat untuk analisis meliputi pH meter (*Hanna*), spektrofotometer (*Hitachi U-2900*), kuvet, SEM (*TM3030Plus*).

Alat gelas yang digunakan yaitu seperti gelas ukur 100 mL, erlenmeyer 200 mL, tabung reaksi ulir dan bunsen. Peralatan non gelas yaitu meliputi Eppendorf, spatula logam, botol semprot, mikropipet dan tip, kawat ose, *ball pipet*.

#### 3.2.2 Bahan

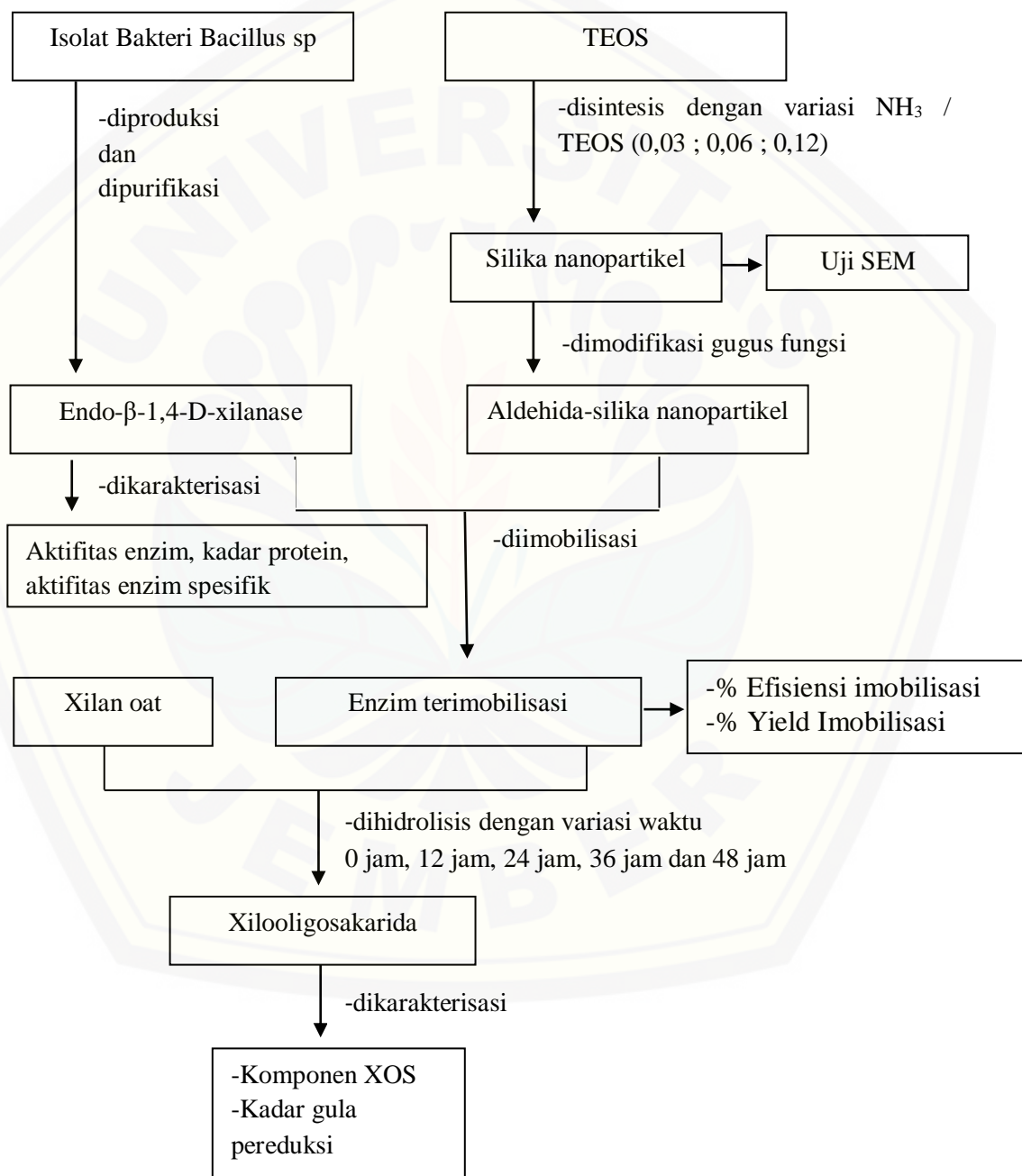
Bahan yang digunakan meliputi bahan utama, bahan kimia, dan bahan pendukung. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu silika nanopartikel yang disintesis dari TEOS, xilan-oat, dan endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang diproduksi dari *Bacillus sp.* asal abdomen rayap.

Bahan kimia yang digunakan antara lain, triptofan (*Oxoid*), *bacto* agar (*Oxoid*), *yeast extract* (*BD Co.*), xilosa (*Merck, Mr:150,13*), natrium klorida (*E-*

Merck, Mr: 58,44 g/mol,  $\rho$ : 2,16 g/mL), KNaTartarat (E-Merck, Mr: 282,1 g/mol,  $\rho$ :0,63 g/mL), asam 3,5-dinitrosalisilat (E-Merck, Mr: 228,12 gr/mol), natrium hidroksida (E-Merck, Mr: 39,99 gr/mol), fenol (Merck, Mr:94,11 g/mol,  $\rho$ :1,07 g/mL), natrium sulfit (Merck, Mr:126,04 g/mol,  $\rho$ :1,56 g/mL), CBB (*Coomassie Brilliant Blue*), etanol 95% (E-Merck, Mr: 46,07 g/mol,  $\rho$ :0,789 g/mL), asam fosfat 85% (E-Merck, Mr: 97,99 gr/mol), asam sitrat (E-Merck, Mr: 210,14 g/mol,  $\rho$ :1,50 g/mL), ammonium sulfat (E-Merck, Mr: 132,14 gr/mol), 1-butanol (E-Merck, Mr: 74,12 gr/mol), asam asetat (E-Merck, Mr: 60,05 gr/mol),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (E-Merck, Mr: 141,96 g/mol,  $\rho$ :1,70 g/mL), asam sulfat (Merck, Mr:98,07 g/mol),  $\alpha$ -naftol (Merck, Mr:144,17), plat TLC F254 (Merck), kantong dialisis. TEOS (sigma), glutaraldehida (sigma), silika nanopartikel 20nm.

### 3.3 Tahap Penelitian

Penelitian meliputi empat tahapan, yaitu tahap produksi Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase, sintesis silika nanopartikel, imobilisasi Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase kedalam silika nanopartikel termodifikasi, hidrolisis xilan, dan karakterisasi hasil hidrolisis. Tahapan penelitian secara lengkap disajikan dalam Gambar 3.1



Gambar 3.1 Diagram alir penelitian

### 3.3.1 Pembuatan Media dan Larutan Uji

#### a. Media Luria Bertani (LB) cair

LB cair dibuat dengan mencampurkan tripton sebanyak 0,05 g; 0,025 g *yeast* ; 0,05 g NaCl dan 0,025 g xilan oat kemudian ditambahkan akuades sebanyak 5 mL dan diaduk hingga larut. Media yang telah tercampur selanjutnya diletakkan pada tabung reaksi sebanyak 10 mL kemudian diotoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

#### b. Media Luria Bertani (LB) padat

LB padat dibuat dengan mencampurkan 1 g tripton; 0,5 g *yeast*; 1 g *bacto* agar; 2 g NaCl dan ditambahkan akuades 100 mL dalam erlenmeyer 500 mL kemudian diotoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Larutan selanjutnya dituang pada cawan petri dan dibiarkan memadat.

#### c. Media produksi

Media produksi dibuat dengan mencampurkan 1 g tripton; 1 g NaCl ; 0,5 g *yeast*, kemudian dilarutkan dengan 100 mL akuades mL dalam Erlenmeyer 250 mL. Larutan yang tercampur selanjutnya diotoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### d. Buffer sitrat-fosfat pH 5 (Deutscher, 1990)

Pembuatan Larutan buffer sitrat-fosfat dibuat dengan mencampurkan larutan asam sitrat dan larutan asam fosfat. Larutan asam sitrat 0,1 M dibuat dengan melarutkan sebanyak 21,014 g asam sitrat (monohidrat) dengan akuades sampai 1000 mL. Larutan asam fosfat 0,2 M dibuat dengan melarutkan sebanyak 28,4 gram natrium fosfat pada akuades sampai 1000 mL. Larutan buffer sitrat-fosfat dengan pH 5 dibuat dengan mencampurkan larutan asam sitrat 0,1 M sebanyak 24,3 mL dengan larutan asam fosfat sebanyak 25,7 mL dan kemudian ditambah dengan akuades dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas. Pengukuran pH larutan buffer dilakukan dengan menggunakan pH meter. pH yang digunakan adalah 5.

#### e. Reagen Bradford (Bollag dan Edelstein, 1996)

Reagen Bradford yang digunakan terbagi menjadi dua jenis larutan yaitu larutan stok dan larutan kerja. Larutan stok dibuat dengan melarutkan sebanyak



350 mg CBB, 100 mL etanol 95% dan 200 mL asam fosfat 88% dan kemudian disimpan pada suhu ruang. Larutan kerja diperoleh dengan mengambil sebanyak 30 mL larutan stok dicampurkan dengan 15 mL etanol 95% dan 30 mL asam fosfat 88% pada labu ukur 500 mL. Larutan selanjutnya disimpan pada botol kaca gelap pada suhu ruang dan larutan ini dapat digunakan selama beberapa minggu dengan dilakukan penyaringan dengan kertas saring tiap kali sebelum digunakan.

f. Reagen Miller

Reagen miller dibuat dengan cara yang diadopsi dari Miller (1959) yaitu melarutkan 18,2 g kalium tartarat; 1 g DNS; 1 g NaOH; 0,2 g fenol; 0,055 gram natrium sulfit dalam akuades 50 mL. Larutan di aduk hingga homogen. Larutan yang telah homegen selanjutnya di masukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

g. Xilan Oat

Larutan xilan oat dibuat dengan cara melarutkan bubuk xilan oat sebanyak 0,08 gram dengan buffer sitrat-fosfat pH 5 sampai volume larutan menjadi 10 mL. Larutan selanjutnya di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Konsentrasi larutan xilan oat yang diperoleh adalah 0,8%.

3.3.2 Produksi dan Pemurnian Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase

Produksi enzim dilakukan dengan menumbuhkan bakteri *Bacillus sp.* pada LB padat yang terdapat pada cawan petri. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 16 jam. Bakteri yang telah tumbuh diambil satu koloni dengan kawat ose, kemudian dimasukkan dalam media inokulum cair 5 mL. Inokulum cair selanjutnya *dishaker* pada suhu 37 °C selama 16 jam dengan kecepatan 150 rpm. Isolat bakteri yang telah tumbuh diambil sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan dalam 100 mL media produksi. Media produksi selanjutnya digojok dengan menggunakan *shaker* selama 16 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37°C. Media yang telah *dishaker* selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 25°C. Proses sentrifugasi menghasilkan supernatan dan pelet. Supernatan diambil sebagai ekstrak kasar enzim. Enzim yang diperoleh selanjutnya diuji aktivitasnya dengan metode miller dan selanjutnya dilakukan pemurnian.



Pemurnian endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase meliputi dua tahap. Tahap pertama adalah pemurnian dengan fraksinasi amonium sulfat dan tahap kedua yaitu dialisis. Tahap pemurnian ammonium sulfat didasarkan pada penelitian Masnia (2014). Ekstrak kasar endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase sebanyak 100 mL dicampurkan dengan bubuk amonium sulfat jenuh dengan konsentrasi 40%. Enzim yang telah ditambahkan bubuk amonium sulfat selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit dengan suhu 4°C. Kemudian proses fraksinasi dilanjutkan dengan menggunakan bubuk amonium sulfat jenuh dengan konsentrasi 50% dengan cara yang sama. Proses sentrifugasi ini memperoleh supernatan dan pelet. Pelet yang diperoleh dilarutkan dalam buffer sitrat sebanyak setengah volume enzim awal kemudian di uji aktivitas dan kadar proteinnya.

Pemurnian yang kedua yaitu dialisis. Dialisis dilakukan dengan memasukkan larutan enzim dalam kantung dialisis kemudian dicelupkan pada gelas beker yang berisi buffer sitrat-fosfat pH 5 dan anak stirer. Dialisis dilakukan pada suhu 4°C. Larutan buffer yang digunakan harus diganti pada jam ke 2, 4, 6 dan 12 dari awal mulai dialisis. Enzim yang diperoleh pada proses dialisis ini kemudian diuji aktivitas dan kadar protein.

### 3.3.3 Penentuan Aktivitas Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase

Penentuan aktivitas enzim dilakukan dengan mengukur jumlah gula pereduksi dengan reagen Miller. Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase diambil sebanyak 125  $\mu$ l dan dicampurkan dengan xilan oat 0,8% sebanyak 125  $\mu$ l. Campuran antara enzim dan xilan oat 0,8% diinkubasi pada suhu 40°C selama 60 menit. Hasil inkubasi selanjutnya ditambahkan reagen Miller sebanyak 750  $\mu$ l, didihkan selama 15 menit dan didinginkan selama 20 menit. Campuran tersebut kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. Tahapan ini membutuhkan larutan kontrol sebagai pembanding. Kontrol dibuat dengan menginaktivasi enzim dengan cara mengambil 125  $\mu$ l enzim kemudian dipanaskan selama 1 jam. Enzim inaktif ini selanjutnya dilakukan perlakuan yang sama seperti pengukuran enzim, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm. Perhitungan Aktivitas ekstrak kasar enzim dihitung dengan menggunakan persamaan 3.1.

$$\text{Aktivitas Enzim (U.ml}^{-1}\text{)} = \frac{([s]-[k] \times f_p \times \left(\frac{V_{total}}{V_{enzim}}\right))}{t \times BM \text{ xilosa}} \dots\dots\dots(3.1)$$

Keterangan, [s] : konsentrasi sampel (mg/mL)

[k] : konsentrasi kontrol (mg/mL)

F<sub>p</sub> : Faktor pengenceran

V<sub>t</sub> : volume total (μL)

V<sub>e</sub> : volume enzim (μL)

t : waktu hidrolisis substrat oleh enzim (menit)

BM : Berat molekul xilosa (g/mol)

Konsentrasi sampel dan konsentrasi kontrol diperoleh dengan memasukkan nilai absorbansi pada persamaan yang diperoleh dari kurva standar xilosa.

Kurva standar xilosa dibuat dengan menyiapkan larutan standar xilosa. Larutan induk xilosa dibuat dengan cara melarutkan xilosa sebanyak 20 mg dengan buffer sitrat-fosfat pH 5 sampai 10 mL. Larutan induk tersebut selanjutnya diencerkan menjadi beberapa variasi konsentrasi yaitu 0 – 0,37 mg/mL, selanjutnya dibuat kurva kalibrasi. Larutan standar xilosa masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 250 μl dan dicampurkan dengan reagen Miller sebanyak 750 μl. Larutan selanjutnya dipanaskan selama 15 menit dan didinginkan pada air es selama 20 menit, kemudian diukur pada panjang gelombang 550 nm. Pembuatan kurva standar xilosa dibuat dengan membuat grafik x dan y dimana x merupakan konsentrasi larutan standar xilosa dan y merupakan absorbansi dengan persamaan kurva  $y = mx + C$ .

#### 3.3.4 Penentuan Kadar Protein Endo-β-1,4-D-xilanase

Penentuan kadar protein diawali dengan membuat larutan stok BSA. Stok ini dibuat dengan cara melarutkan 5 mg padatan BSA dengan buffer sitrat-fosfat sampai volume menjadi 5 mL. Konsentrasi Stok BSA yang diperoleh adalah 1 mg/mL. Larutan stok BSA selanjutnya dibuat menjadi larutan standar dengan variasi konsentrasi yang berbeda yaitu 0-0,75 mg/mL. Masing-masing Larutan standar diambil sebanyak 100 μL dan dicampurkan dengan 1 mL reagen Bradford kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang

gelombang 595 nm. Hasil dari pengukuran akan diperoleh persamaan regresi yaitu  $y = mx + C$  dimana sumbu  $x$  (konsentrasi BSA) dan  $y$  (nilai absorbansi).

Penentuan kadar protein menggunakan metode Bradford (Bollag *et al.*, 1996). Enzim yang diperoleh dari hasil produksi diambil sebanyak 100  $\mu$ l dan dicampurkan dengan reagen Bradford sebanyak 1 mL. Campuran divortex dan didiamkan selama 2-5 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 595 nm. Kadar protein dapat dihitung dengan menggunakan persamaan 3.2.

$$\text{Kadar Protein } \left( \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{abs} \pm C}{m} \dots \dots \dots (3.2)$$

Keterangan, Abs : absorbansi pada panjang gelombang 595 nm

C : nilai *intercept* dari persamaan kurva standar BSA

m : nilai *gradient* dari persamaan kurva standar BSA

### 3.3.5 Penentuan Aktivita Enzim Spesifik

Penentuan aktivitas enzim spesifik dilakukan dengan menggunakan persamaan 3.3

$$\text{Aktivitas enzim spesifik} = \frac{\text{Aktivitas enzim total}}{\text{Kadar protein}} \dots \dots \dots (3.3)$$

### 3.3.6 Sintesis Silika Nanopartikel

Sintesis silika nanopartikel dengan metode sol-gel dilakukan dengan menggunakan larutan *Tetraethylorthosilicate* (TEOS) sebagai prekursor yang diadopsi dari Bracho *et al* (2012). Rasio mol H<sub>2</sub>O : TEOS : EtOH dipertahankan konstan yaitu 4:1:8, sedangkan jumlah amoniak divariasi untuk pengendalian ukuran partikel, dengan menggunakan variasi mol NH<sub>3</sub>/TEOS 0,03 ; 0,06 ; 0,12. Tabel 3.1 menunjukkan volume H<sub>2</sub>O, TEOS, EtOH, dan NH<sub>3</sub> yang digunakan untuk setiap variasi. Larutan TEOS dan etanol 90% dicampur menggunakan magnetik stirer yang dilengkapi dengan pemanas. Kemudian, larutan kedua yang mengandung akuades dan amonia ditambahkan tetes demi tetes secara berkala sambil diaduk selama 5 jam pada suhu  $50 \pm 2^\circ\text{C}$  untuk menghasilkan sol. Pelarut kemudian diuapkan pada suhu  $70^\circ\text{C}$ , hingga diperoleh bubuk putih halus yang dihomogenisasi dengan cara penggerusan. Bubuk putih yang diperoleh kemudian dikalsinasi pada suhu  $400^\circ\text{C}$  selama 8 jam.

Tabel 3.1. Volume H<sub>2</sub>O, TEOS, EtOH, dan NH<sub>3</sub>

Perbandingan $\frac{NH_3}{TEOS}$	Volume (mL)			
	Air	TEOS	Etanol	NH <sub>3</sub>
0,03	2,3	7,3	15,3	0,07
0,06	2,3	7,3	15,3	0,15
0,12	2,2	7,3	15,3	0,29

### 3.3.7 Karakterisasi SEM

Karakterisasi silika nanopartikel menggunakan SEM diawali dengan merekatkan sampel dengan stab yang terbuat dari logam. Pemotretan dilakukan setelah memilih bagian tertentu dari objek (sampel) dan perbesaran yang diinginkan sehingga diperoleh foto yang baik dan jelas.

### 3.3.8 Modifikasi Gugus Fungsi Silika Nanopartikel

Modifikasi pemberian gugus fungsi aldehida terhadap silika nanopartikel diadopsi dari Singh *et al* (2010), dilakukan dengan mencuci silika nanopartikel menggunakan akuades sebanyak 2 kali dan dipisahkan dengan cara sentrifugasi. Silika nanopartikel kemudian dicampur glutaraldehida 3 mL dan disentrifugasi (150 rpm) selama 4 jam pada suhu ruang. Silika nanopartikel yang telah termodifikasi dicuci menggunakan akuades 30 mL sebanyak tiga kali untuk menghilangkan glutaraldehida yang tidak berikatan dengan silika.

### 3.3.9 Imobilisasi Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase

Metode imobilisasi endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase diadopsi dari Singh *et al* (2010), dilakukan dengan cara *menshaker* (150 rpm) enzim dengan silika nanopartikel yang telah termodifikasi pada suhu 25°C selama 36 jam. Enzim yang tidak terimobilisasi dihilangkan dengan cara mencuci menggunakan akuades sebanyak 3 mL. Enzim yang telah terimobil disimpan didalam buffer sitrat-fosfat pH 5 pada suhu 25°C untuk selanjutnya digunakan menghidrolisis substrat.



### 3.3.10 Penentuan Efisiensi Imobilisasi dan Yield Imobilisasi

Penentuan efisiensi imobilisasi dan yield imobilisasi diadopsi dari Singh *et al* (2010). Enzim yang tidak membentuk ikatan kovalen selama proses imobilisasi dapat diketahui dengan cara mencuci silika nanopartikel menggunakan akuades dan buffer sitrat-fosfat pH 5. Larutan sisa pencucian ditampung dan digunakan untuk menghitung kadar protein. Efisiensi imobilisasi dapat dihitung menggunakan persamaan 3.4

$$\% \text{ Efisiensi Imobilisasi} = \frac{\alpha_i}{\alpha_f} \times 100\% \dots\dots\dots(3.4)$$

Keterangan,  $\alpha_i$  : total aktivitas enzim terimobilisasi

$\alpha_f$  : total aktivitas enzim bebas tanpa imobilisasi

Yield imobilisasi dapat dihitung menggunakan persamaan 3.5

$$\% \text{ Yield Imobilisasi} = \frac{P_i - (P_w + P_s)}{P_i} \times 100\% \dots\dots\dots(3.5)$$

Keterangan,  $P_i$  : total protein yang terdandung dari endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase

$P_w$  : total protein yang terkandung pada larutan sisa pencucian

$P_s$  : total protein yang terkandung pada supernatan setelah imobilisasi

### 3.3.11 Hidrolisis Xilan Oat

Hidrolisis dilakukan dengan mencampurkan endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase dengan substrat xilan oat 0,8 % (b/v) dengan perbandingan 1:1 (v/v). Campuran substrat dan enzim diinkubasi pada suhu 40°C dalam *water bath* selama 1 jam. Kontrol yang digunakan untuk membandingkan hasil yang diperoleh adalah endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang telah dinaktifkan. Inaktivasi endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase dilakukan dengan mengambil 125  $\mu$ l enzim kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 60 menit. Hidrolisis enzimatik pada senyawa xilan menghasilkan xilooligosakarida. Xilooligosakarida hasil hidrolisis dikarakterisasi dengan KLT dan gula pereduksi.

#### a. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis KLT dilakukan dengan cara mentotolkan 6-10  $\mu$ l produk xilooligosakarida pada kromatoplat yang telah diberi tanda penotolan. Sebagai pembanding digunakan standar campuran xilooligosakarida dan standar xilosa,

xilobiosa, xilotriosa, xilotetosa, xilopentosa dan xiloheksosa. Kromatoplat dicelupkan dalam wadah yang telah berisi fase gerak n-butanol, asam asetat, dan akuades dengan perbandingan 2:1:1 (Kubata *et al.*, 1994). Kromatoplat diambil dari wadah ketika fasa gerak telah mencapai garis batas atas dari kromatoplat. Kromatoplat kemudian dikeringkan dan disemprotkan dengan larutan penampak noda yang berisi campuran  $\alpha$ -naftol, asam sulfat, dan etanol dengan perbandingan 1:10:200 (Ratnadewi dan Handayani, 2007). Kromatoplat yang telah disemprot selanjutnya diletakkan dalam oven dengan suhu 100°C selama 5 menit sampai menunjukkan adanya noda. Noda yang dihasilkan akan terdapat perbedaan, karena adanya perbedaan kepolaran atau kelarutan dengan fasa geraknya. Noda yang terbentuk selanjutnya diukur jaraknya dari batas bawah kemudian digunakan untuk menentukan faktor retensi yang diperoleh dengan menggunakan persamaan 3.6,

$$Rf = \frac{r_s}{r_{sp}} \dots \dots \dots (3.6)$$

Keterangan , $r_s$  : jarak migrasi yang ditempuh sampel (cm)

$r_{sp}$  : jarak migrasi yang ditempuh fasa gerak (cm)

#### b. Gula Pereduksi

Perhitungan total gula pereduksi dilakukan dengan mengambil 1 mL masing-masing sampel xilooligosakarida yang diperoleh. Sampel tersebut selanjutnya di sentrifugasi pada suhu 4°C selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Hasil sentrifugasi yang berupa supernatan selanjutnya ditentukan gula pereduksinya dengan menggunakan metode Miller.



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

1. Karakteristik silika hasil sintesis dengan perbandingan mol  $\text{NH}_3$  :TEOS 0,03 ; 0,06 ; 0,12 berturut-turut menghasilkan :

a. ukuran partikel adalah 88,48 nm ; 271,31 nm ; 473,52 nm

b. persen yield imobilisasi adalah 30,49% ; 15,10% ; 10,57%

2. Aktifitas *endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase* mengalami penurunan setelah digunakan empat kali hidrolisis dan menghasilkan persen efisiensi dari imobilisasi menggunakan silika ukuran 88,48 nm ; 271,31 nm ; 473,52 nm berturut-turut adalah 41,25% ; 31,88% ; 19,38%.

3. Xilooligosakarida yang dihasilkan pada semua hasil hidrolisis menggunakan *endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase* terimobilisasi dengan silika ukuran 88,48 nm ; 271,31 nm ; 473,52 nm adalah xilopentosa (X5)

### 5.2 Saran

Saran pada peneliti selanjutnya yaitu melakukan optimasi pada metode sintesis silika supaya dapat menghasilkan ukuran nanopartikel. Selain itu, metode pencucian silika juga perlu dipelajari lebih lanjut supaya glutaraldehida yang tidak berikatan dengan silika benar-benar hilang dari campuran.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akpinar, O., Ak, Kavas, Bakir, dan Yilmaz. 2007. Enzymatic Production of Xylooligosaccharides from Cotton Stalks. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 55 (14): 5544-5551.
- Arjasa, O.P, dan J. Raharjo. 2012. Facile One Pot Synthesis Of Highly Monodispere Silica Nanoparticles In Water Based Medium. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. 14 (1): 34-39.
- Bandyopadhyay, A., M. D. Sarkar, dan A. K. Bhowmick. 2005. Poly(Vinyl Alcohol)/Silica Hybrid Nanocomposites By Sol-Gel Technique: Synthesis And Properties. *Journal of Materials Science*. 40 (19):5233-5241.
- Beauchamp, G.K., Yamazaki, K., Curran, M., Bard. J, dan Boyse, E.A. 1992. MHC-mediated fetal odortypes expressed by pregnant females influence male associative behaviour. *Immunogenetics* . 60 (3): 289-295.
- Bollag, D.M., Rozicky, M.D., dan Edelstein, S.J. 1996. *Protein Methods*. Edisi Kedua. New York : John Willey & Sons Inc.
- Bracho, D., V.N. Dougnac, H. Palza, & R. Quijada. 2012. Functionalization of Silica Nanoparticles for Polypropylene Nanocomposite Applications. *Journal of Nanomaterials*. 20 (15):1477- 1482.
- Dhiman, S., Jagtap. S. S, Jeya, M. Haw, J. R, Kang. Y. C, dan Lee. J. K. 2011. Immobilization of Pholiota adiposa xylanase onto SiO<sub>2</sub> nanoparticles and its application for production of xilooligosaccharides. *Biotechnology*. 34 (7) : 1307-1313.
- Deutsecher, M.P. 1990. *Methods in Enzymology : Guide to Protein Purification Vol.182*. California : Academia Press Inc.
- Fernandez, B. R. 2012. Sintesis Nanopartikel SiO<sub>2</sub> Menggunakan Metoda Sol-gel Dan Aplikasinya Terhadap Aktifitas Sitotoksik Sel Dalam Review Jurnal

Nanoteknologi. *Review Jurnal Nanoteknologi*. Padang: Jurusan Kimia, Program Pascasarjana Universitas Andalas.

Hanafeld, U., Gardossib, L., E. Magnerc. 2009. Understanding enzyme immobilization. *Chem. Soc. Rev.* 38 (2) : 453–468.

Hartoto, Liesbetini. 2008. *Imobilisasi Enzim*. Bogor : IPB Pres.

Holme, David dan Peck, Hazel. 1998. *Analytical Biochemistry*. 3<sup>th</sup> ed. Singapore : Longman Singapore Publisher.

Ibrahim, I.A.M., A.A.F, Zikry, dan M.A. Sharaf. 2010. Preparation of Spherical Silica Nanoparticles: Stober Silica. *Journal Of American Science*. 6(11):985-989.

Ibrahim, R.K., A. Bruneau, dan B. Bantignies. 1998. Plant O-methyltransferases: Molecular analysis, common signature and classification. *Plant Mol. Biol.* 36 (1) : 1–10.

Jegannathan, K. R., S. Abang, D. Ponc elet, E. S. Chan, dan P. Ravindra. 2008. Production of Biodiesel using Immobilized Lipase-a Critical Review. *Biotechnologi*. 28(4): 253–64.

Kapoor, M., dan Kuhad, R, C. 2007. Immobilization of xylanase from *Bacillus pumilus* strain MK001 and its application in production of xylooligosaccharides. *App Biochem Biotechnol*. 142 (2) : 125-138.

Krajewska, B. 2004. Application of Chitin- and Chitosan-Based Materials for Enzyme Immobilizations: A Review. *Enzyme Microb. Technol.* 35(2) : 126-139.

Kubata, Suzuki, Horitsu, Kawai, dan Takamizawa. 1994. Purification and Characterization of *Aeromonas caviae* ME-1 Xylanase V, Which Produces Exclusively Xylobiose from Xylan. *Appl. Environ. Microbiol.* 60(2) : 531.

- Kurniawan, Andika Ade. 2015. "Optimasi Kondisi Hidrolisis Xilan Oat dengan Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal Mikroorganisme dalam Sistem Abdomenal Rayap untuk Produksi Xilooligosakarida". Tidak Diterbitkan. *Skripsi*. Jember : Universitas Jember.
- Lehninger, A.L. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta : Erlangga.
- Manisseri, C., dan M. Gudipati. 2010. Bioactive Xylo-oligosaccharides from Wheat Bran Soluble Polysaccharides. *LWT - Food Science and Technology*. 43 (3): 421–430.
- Miller, G.L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*. Vol. 31 : 426-428.
- Morris, E.I. Moser, G. Riedel, S.J. Martin, J. Sandin, dan M. Day, C. 2003. O'Carroll Elements of a neurobiological theory of the hippocampus: the role of activity-dependent synaptic plasticity in memory *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 358 (1432) : 773–786.
- Moura, P., Barata, Carvalheiro, Girio, Dias dan Esteves. 2007. In Vitro Fermentation of Xylo-oligosaccharides from Corn Cobs Autohydrolysis by Bifidobacterium and Lactobacillus strain. *LWT - Food Science and Technology*. 40 (6): 963-972.
- Nur, C. 1997. *Pengaruh Radiasi Sinar Gamma dan Rapat Massa serta Sifat Mekanisme HDPE dan LDPE*. Medan : Lembaga Penelitian USU.
- Rahman, I. A., dan V. Padavettan. 2012. Synthesis of Silica Nanoparticles by Sol-Gel: Size-Dependent Properties, Surface Modification, And Applications In Silica-Polymer Nanocomposites In Review. *Journal of Nanomaterials*. 12 (1): 1-15.
- Ratnadewi, A.A.I., dan Handayani, W. 2007. "Isolasi, Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Xilanolitik Asal Mikrob dalam Sistem Intestinal Rayap untuk Memproduksi Xilooligosakarida sebagai Pereduksi Resiko Kanker." Tidak Diterbitkan. *Laporan Penelitian Tahun II Hibah Penelitian Kerjasama Antar Perguruan Tinggi*. Jember : Universitas Jember.

- Ratnadewi, A. A. I., Sulistyarningsih, Santoso dan Handayani. 2016. Application of Cassava Peel and Waste as Raw Materials for Xylooligosaccharide Production Using Endoxylanase from *Bacillus subtilis* of Soil Termite Abdomen. *Prosedia Chemistry*. 18 (1): 31-38.
- Shallom, D., dan Shoham, Y. 2003. Microbial hemicellulases. *Current Opinion in Microbiology*. 6 (3): 219-228.
- Singh, R. K., Zhang. Y. W, N. Nguye, M. Jeya, dan J. K. Lee. 2010. Covalent immobilization of  $\beta$ -1,4-glucosidase from *Agaricus arvensis* onto Functionalized Silicon Oxide Nanoparticles. *Appl Microbiol Biotechnol*. 89 (2): 337-344.
- Siswanto, M. Hamzah, Mahendra, dan Fausiah. 2012. Perencanaan Nanosilika Berbahan Baku Silika Lokal Sebagai Filler Kompon Karet Rubber Air Bag Peluncur Kapal Dari Galangan. *Prosiding INSINAS 2012*. Jakarta: Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.
- Sunna, A., dan G. Antranikian. 1997. Xylanolytic Enzyme From Fungi And Bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*. 17(1): 39-67.
- Tan Y, H., Liu. M, Nilthing, Go. J. G, Gervay-Hague. J, dan Liu. G. Y. 2008. A nanoengineering approach for investigation and regulation of protein immobilization. *ACS Nano*. 2(11) : 2374-2384.
- Tischer, W., dan Wedekind, F. 1999. Immobilized Enzymes: Methods and Applications. <http://gertrudeold.case.edu/276/materials/web/immobilizedenzymereview>. [diakses pada 12 April 2017].
- Tuohy, K. M., Kolida, Lustenberger dan Gibson. 2001. The Prebiotic Effects of Biscuits Containing Partially Hydrolysed Guar Gum and Fructooligosaccharides – A Human Volunteer Study. *British Journal of Nutrition*. 86 (3): 341-348.
- Twyman, R. M. 2005. Immobilized Enzymes. [www.writescience.com/RMT20PDFs/Elsevier/eans20immobenz](http://www.writescience.com/RMT20PDFs/Elsevier/eans20immobenz). [diakses pada 12 April 2017].



- Vasquez, M. J., Alonso, Dominguez, dan Parajo. 2000. Xylooligosaccharides: Manufacture And Applications. *Trends in Food Science and Technology*. 11 (11):387-393.
- Vasquez, M. J., Alonso, Dominguez, dan Parajo. 2006. Enhancing the Potential Oligosaccharides From Corncob Autohydrolysis as Prebiotic Food Ingredients. *Science Direct, Journal of Industrial Crops and Products*. 24 (2):152-159.
- Wijaya, K. 2010. *Nanomaterial Berlapis Dan Berpori: Sintesis, Karakterisasi Dan Perannya Sebagai Material Multi Fungsi*. Yogyakarta: UGM.
- Wirahadikusumah, M. 1989. *Biokimia: Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Bandung : ITB Press.
- Wrolstad, Acree, Decker, Penner, Reid, Schwartz, Shoemaker, Smith, dan Sporns. 2005. *Handbook of Food Analytical Chemistry Water, Protein, Enzymes, Lipids, And Carbohydrates*. Canada: A John Wiley & Sons, Inc., Publication.
- Xiao, Bo, Y. Zhang, X. Zhang, H. Lv, L. Yan, dan B. Jiang. 2011. Focus On Moisture-resistance And Hydrophobicity of SiO<sub>2</sub> Antireflective Film Improved by Poly(isopropylene oxide) Glycerolether. *Journal of Sciene Technology*. 60 (1):11-16.
- Ximenes, M., E.G. Castellón, M.F. Souza, A.A.L. Menezes, J.W. Queiroz, dan V.P. Macedo e Silva, S.M.B. 2006. Jerônimo Effect of abiotic factors on sazonal population dynamics of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in northeastern Brazil. *Med. Entomol.* 43 (5): 990-995.
- Zhang. Y. W., Tiwari. M. K, Jeya. M, dan Lee. J. K. 2011. Covalent immobilization of recombinant *Rhizobium etli* CFN42 xylitol dehydrogenase onto modified silica nanoparticles. *App Microbiol Biotechnol.* 90 (2) : 499-507.



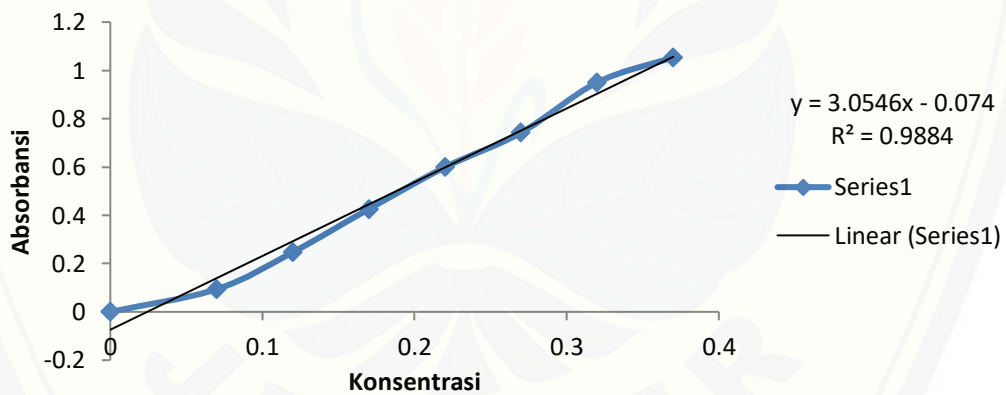
LAMPIRAN

Lampiran 3.3 Penentuan Aktivitas Endo-β-1,4-D-xilanase

3.3.1 Kurva Standar Xilosa

Xilosa (mg/mL)	Absorbansi			Rata-Rata	Standar Deviasi
	I	II	III		
0	0	0	0	0	0
0,070	0,105	0,105	0,072	0,094	0,019
0,120	0,246	0,248	0,248	0,247	0,001
0,170	0,385	0,446	0,446	0,426	0,035
0,220	0,593	0,604	0,600	0,599	0,006
0,270	0,747	0,783	0,695	0,742	0,044
0,320	0,949	0,950	0,952	0,950	0,002
0,370	0,962	0,981	1,219	1,054	0,143

Kurva Standar Xilosa



3.3.2 Pengukuran Aktivitas Endo-β-1,4-D- Xilanase dengan Metode Miller

$$Aktivitas\ Enzim\ (U.\ ml^{-1}) = \frac{([s] - [k] \times f_p \times (\frac{V_{total}}{V_{enzim}}))}{t \times BM\ xilosa}$$

Keterangan,

[s] : konsentrasi sampel (mg/mL)

[k] : konsentrasi kontrol (mg/mL)

Fp : Faktor pengenceran

V<sub>t</sub> : volume total (μL)

V<sub>e</sub> : volume enzim (μL)

t : waktu hidrolisis substrat oleh enzim (menit)

BM : Berat molekul xilosa (g/mol)

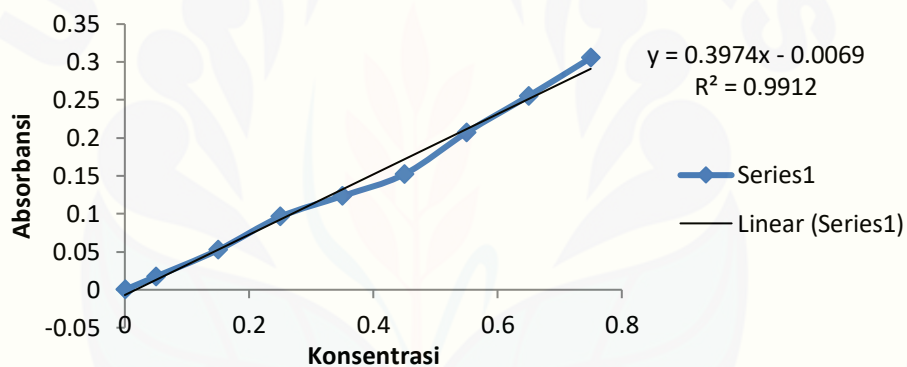
Sampel	Absorbansi	Kadar Xilosa	Aktivitas Enzim (U/mL)	Aktivitas Enzim Rata-Rata (U/mL)	Standar Deviasi
Crude	Kontrol 1	0,542	0,202		
	Kontrol 2	0,539	0,200		
	Kontrol 3	0,530	0,199		0,006
	Sampel 1	0,757	0,272	0,051	
	Sampel 2	0,762	0,274	0,052	
	Sampel 3	0,710	0,257	0,040	0,048
Fraksinasi 50%	Kontrol 1	0,509	0,191	0,202	
	Kontrol 2	0,560	0,208		
	Kontrol 3	0,560	0,208		0,029
	Sampel 1	0,762	0,274	0,051	
	Sampel 2	0,872	0,310	0,077	
	Sampel 3	0,764	0,274	0,050	0,059
Dialisat	Kontrol 1	0,534	0,199	0,204	
	Kontrol 2	0,556	0,206		
	Kontrol 3	0,556	0,206		0,012
	Sampel 1	0,878	0,312	0,077	
	Sampel 2	0,980	0,345	0,100	
	Sampel 3	0,959	0,338	0,095	0,0908

### Lampiran 3.4 Penentuan Kadar Protein Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase

#### 3.4.1 Kurva Standar BSA

BSA (mg/mL)	Absorbansi			Rata-Rata	Standar Deviasi
	I	II	III		
0	0	0	0	0	0
0,05	0,186	0,188	0,190	0,188	0,002
0,15	0,325	0,325	0,313	0,321	0,007
0,25	0,404	0,458	0,478	0,447	0,038
0,35	0,597	0,595	0,561	0,584	0,020
0,45	0,734	0,741	0,728	0,734	0,007
0,55	0,821	0,714	0,849	0,795	0,071
0,65	0,914	0,714	0,915	0,848	0,116
0,75	0,988	0,714	1,015	0,906	0,167

**Kurva Standar BSA**



## 3.4.2 Perhitungan Kadar Protein

$$\text{Kadar Protein (mg/ml)} = \frac{\text{Abs} \pm C \times fp}{m}$$

dimana,

Abs : nilai absorbansi pada  $\lambda_{595}$  nm

C : nilai *intercept* dari persamaan kurva standar BSA

fp : faktor pengenceran

m : nilai kemiringan (*gradient*) dari persamaan kurva standar

Sampel	Absorbansi	Kadar Protein (mg/mL)	Kadar Protein Rata- Rata (mg/mL)	SD
Crude	Sampel 1	0,294	0,279	0,005
	Sampel 2	0,288	0,273	
	Sampel 3	0,298	0,283	
Fraksinasi 50%	Sampel 1	0,267	0,252	0,006
	Sampel 2	0,278	0,263	
	Sampel 3	0,268	0,253	
Dialisat	Sampel 1	0,219	0,204	0,013
	Sampel 2	0,196	0,181	
	Sampel 3	0,198	0,183	

## Lampiran 3.5 Penentuan Aktivita Enzim Spesifik

$$\text{Aktivitas enzim spesifik} = \frac{\text{Aktivitas enzim total}}{\text{Kadar protein}}$$

Sampel	Aktivitas Enzim (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Enzim Spesifik (U/mL)
Crude	0,048	0,754	0,064
Fraksinasi 50%	0,060	0,698	0,086
Dialisat	0,090	0,530	0,170

### Lampiran 3.6 Sintesis Silika Nanopartikel

#### 3.6.1 Menentukan volume air

Mol air = 1 mol

$$mol = \frac{m}{Mr}$$

$$1 \text{ mol} = \frac{g}{18 \text{ g/mol}}$$

$$= 18 \text{ g}$$

$$\rho = \frac{m}{V}$$

$$0,997 \text{ g/mL} = \frac{18 \text{ g}}{V}$$
$$= 18,054 \text{ mL}$$

#### 3.6.2 Menentukan volume TEOS

Mol TEOS = 0,25 mol

$$mol = \frac{m}{Mr}$$

$$0,25 \text{ mol} = \frac{g}{208,33 \text{ g/mol}}$$

$$= 52,082 \text{ g}$$

$$\rho = \frac{m}{V}$$

$$0,94 \text{ g/mL} = \frac{52,082 \text{ g}}{V}$$
$$= 55,406 \text{ mL}$$

#### 3.6.3 Menentukan volume etanol

Mol etanol = 2 mol

$$mol = \frac{m}{Mr}$$

$$2 \text{ mol} = \frac{g}{46,07 \text{ g/mol}}$$

$$= 92,14 \text{ g}$$

$$\rho = \frac{m}{V}$$

$$0,7893 \text{ g/mL} = \frac{92,14 \text{ g}}{V}$$
$$= 116,7363 \text{ mL}$$

3.6.4 Menentukan volume  $\text{NH}_3$ 

$\text{NH}_4\text{OH}$  27%

$$\rho \text{ NH}_4\text{OH} = 0,9 \text{ g/mL}$$

$$Mr \text{ NH}_4\text{OH} = 35,04 \text{ g/mol}$$

$$Mr \text{ NH}_3 = 17,03 \text{ g/mol}$$

1 mL larutan

$$\rho = \frac{\text{massa}}{\text{Volume}}$$

$$0,9 \text{ g/ml} = \frac{\text{massa}}{1 \text{ ml}}$$

$$\text{massa} = 0,9 \text{ g/ml} \times 1 \text{ ml}$$

$$\text{massa} = 0,9 \text{ g}$$

Massa  $\text{NH}_3$

$$\text{massa NH}_3 = \frac{27}{100} \times 0,9 \text{ g}$$

$$\text{massa NH}_3 = 0,243 \text{ g}$$

Massa Air

$$\text{massa Air} = \frac{73}{100} \times 0,9 \text{ g}$$

$$\text{massa Air} = 0,657 \text{ g}$$

Mol  $\text{NH}_3$

$$\text{mol NH}_3 = \frac{\text{massa NH}_3}{Mr \text{ NH}_3}$$

$$\text{mol NH}_3 = \frac{0,243 \text{ g}}{17,03 \text{ g/mol}}$$

$$\text{mol NH}_3 = 0,0142 \text{ mol}$$

Mol air

$$\text{mol Air} = \frac{\text{massa air}}{Mr \text{ air}}$$

$$\text{mol Air} = \frac{0,657 \text{ g}}{18 \text{ g/mol}}$$

$$\text{mol Air} = 0,0365 \text{ mol}$$



3.6.5 Perbandingan molar  $NH_3$ / TEOS 0,03

$$\frac{\text{mol } NH_3}{\text{mol TEOS}} = 0,03$$

$$\frac{\text{mol } NH_3}{0,25} = 0,03$$

$$\text{mol } NH_3 = 75 \cdot 10^{-4}$$

$$\text{mol } NH_3 = \frac{\text{massa}}{Mr}$$

$$75 \cdot 10^{-4} \text{ mol} = \frac{\text{massa}}{17,03 \text{ g/mol}}$$

$$\text{massa } NH_3 = 0,127 \text{ g}$$

$$\frac{27}{100} \times \text{massa } NH_4OH = \text{massa } NH_3$$

$$\frac{27}{100} \times \text{massa } NH_4OH = 0,127 \text{ g}$$

$$\text{massa } NH_4OH = 0,127 \text{ g} \times \frac{100}{27}$$

$$\text{massa } NH_4OH = 0,470 \text{ g}$$

$$\rho \text{ } NH_4OH = \frac{\text{massa } NH_4OH}{\text{Volume } NH_4OH}$$

$$0,9 \text{ g/ml} = \frac{0,470 \text{ g}}{\text{Volume } NH_4OH}$$

$$\text{Volume } NH_4OH = \frac{0,470 \text{ g}}{0,9 \text{ g/ml}}$$

$$\text{Volume } NH_4OH = 0,52 \text{ ml}$$

$$\text{Massa } NH_4OH = \text{massa } NH_3 + \text{massa air}$$

$$0,470 \text{ g} = 0,127 \text{ g} + \text{massa air}$$

$$\text{massa air} = 0,470 \text{ g} - 0,127 \text{ g}$$

$$\text{massa air} = 0,343 \text{ g}$$

Mol air pada NH<sub>3</sub> 0,0075 mol

$$\text{mol Air} = \frac{\text{massa air}}{Mr \text{ air}}$$

$$\text{mol Air} = \frac{0,343 \text{ g}}{18 \text{ g/mol}}$$

$$\text{mol Air} = 0,02 \text{ mol}$$

Mol air yang digunakan pada perbandingan NH<sub>3</sub>/TEOS 0,03

$$\text{mol air} = 1 \text{ mol} - 0,02 \text{ mol}$$

$$\text{mol air} = 0,97 \text{ mol}$$

$$\text{mol air} = \frac{\text{massa air}}{Mr \text{ air}}$$

$$0,97 \text{ mol} = \frac{\text{g}}{18 \text{ g/mol}}$$

$$= 17,62 \text{ g}$$

$$\rho \text{ air} = \frac{\text{massa air}}{\text{Volume air}}$$

$$0,997 \text{ g/mL} = \frac{17,62 \text{ g}}{\text{Volume air}}$$

$$= 17,673 \text{ mL}$$

### 3.6.6 Perbandingan molar NH<sub>3</sub>/ TEOS 0,06

$$\frac{\text{mol NH}_3}{\text{mol TEOS}} = 0,06$$

$$\frac{\text{mol NH}_3}{0,25} = 0,06$$

$$\text{mol NH}_3 = 0,015 \text{ mol}$$

$$\text{mol NH}_3 = \frac{\text{massa}}{M_r}$$

$$0,015 \text{ mol} = \frac{\text{massa}}{17,03 \text{ g/mol}}$$

$$\text{massa NH}_3 = 0,26 \text{ g}$$

$$\frac{27}{100} \times \text{massa NH}_4\text{OH} = \text{massa NH}_3$$

$$\frac{27}{100} \times \text{massa NH}_4\text{OH} = 0,26 \text{ g}$$

$$\text{massa NH}_4\text{OH} = 0,26 \text{ g} \times \frac{100}{27}$$

$$\text{massa NH}_4\text{OH} = 0,96 \text{ g}$$

$$\rho \text{ NH}_4\text{OH} = \frac{\text{massa NH}_4\text{OH}}{\text{Volume NH}_4\text{OH}}$$

$$0,9 \text{ g/ml} = \frac{0,96 \text{ g}}{\text{Volume NH}_4\text{OH}}$$

$$\text{Volume NH}_4\text{OH} = \frac{0,96 \text{ g}}{0,9 \text{ g/ml}}$$

$$\text{Volume NH}_4\text{OH} = 1,07 \text{ ml}$$

$$\text{Massa NH}_4\text{OH} = \text{massa NH}_3 + \text{massa air}$$

$$0,96 \text{ g} = 0,26 \text{ g} + \text{massa air}$$

$$\text{massa air} = 0,96 \text{ g} - 0,26 \text{ g}$$

$$\text{massa air} = 0,70 \text{ g}$$

Mol air pada NH<sub>3</sub> 0,015 mol

$$\text{mol Air} = \frac{\text{massa air}}{M_r \text{ air}}$$

$$\text{mol Air} = \frac{0,70 \text{ g}}{18 \text{ g/mol}}$$

$$\text{mol Air} = 0,04 \text{ mol}$$

Mol air yang digunakan pada perbandingan NH<sub>3</sub>/TEOS 0,06

$$\text{mol air} = 1 \text{ mol} - 0,04 \text{ mol}$$

$$\text{mol air} = 0,96 \text{ mol}$$

$$\text{mol air} = \frac{\text{massa air}}{Mr \text{ air}}$$

$$0,96 \text{ mol} = \frac{g}{18 \text{ g/mol}}$$

$$= 17,28 \text{ g}$$

$$\rho \text{ air} = \frac{\text{massa air}}{\text{Volume air}}$$

$$0,997 \text{ g/mL} = \frac{17,28 \text{ g}}{\text{Volume air}}$$

$$= 17,331 \text{ mL}$$

3.6.7 Perbandingan molar NH<sub>3</sub>/ TEOS 0,12

$$\frac{\text{mol NH}_3}{\text{mol TEOS}} = 0,12$$

$$\frac{\text{mol NH}_3}{0,25} = 0,12$$

$$\text{mol NH}_3 = 0,03 \text{ mol}$$

$$\text{mol NH}_3 = \frac{\text{massa}}{Mr}$$

$$0,03 \text{ mol} = \frac{\text{massa}}{17,03 \text{ g/mol}}$$

$$\text{massa NH}_3 = 0,5 \text{ g}$$

$$\frac{27}{100} \times \text{massa NH}_4\text{OH} = \text{massa NH}_3$$

$$\frac{27}{100} \times \text{massa } NH_4OH = 0,5 \text{ g}$$

$$\text{massa } NH_4OH = 0,5 \text{ g} \times \frac{100}{27}$$

$$\text{massa } NH_4OH = 1,85 \text{ g}$$

$$\rho \text{ } NH_4OH = \frac{\text{massa } NH_4OH}{\text{Volume } NH_4OH}$$

$$0,9 \text{ g/ml} = \frac{1,85 \text{ g}}{\text{Volume } NH_4OH}$$

$$\text{Volume } NH_4OH = \frac{1,85 \text{ g}}{0,9 \text{ g/ml}}$$

$$\text{Volume } NH_4OH = 2,07 \text{ ml}$$

$$\text{Massa } NH_4OH = \text{massa } NH_3 + \text{massa air}$$

$$1,85 \text{ g} = 0,5 \text{ g} + \text{massa air}$$

$$\text{massa air} = 1,85 \text{ g} - 0,5 \text{ g}$$

$$\text{massa air} = 1,35 \text{ g}$$

Mol air pada  $NH_3$  0,03 mol

$$\text{mol Air} = \frac{\text{massa air}}{Mr \text{ air}}$$

$$\text{mol Air} = \frac{1,35 \text{ g}}{18 \text{ g/mol}}$$

$$\text{mol Air} = 0,08 \text{ mol}$$

Mol air yang digunakan pada perbandingan  $NH_3/TEOS$  0,12

$$\text{mol air} = 1 \text{ mol} - 0,08 \text{ mol}$$

$$\text{mol air} = 0,92 \text{ mol}$$

$$\text{mol air} = \frac{\text{massa air}}{Mr \text{ air}}$$

$$0,92 \text{ mol} = \frac{g}{18 \frac{g}{\text{mol}}}$$

$$= 16,56 \text{ g}$$

$$\rho \text{ air} = \frac{\text{massa air}}{\text{Volume air}}$$

$$0,997 \frac{g}{\text{mL}} = \frac{16,56 \text{ g}}{\text{Volume air}}$$

$$= 16,609 \text{ mL}$$

Perbandingan $\frac{NH_3}{TEOS}$	Volume (mL)			
	Air	TEOS	Etanol	NH <sub>3</sub>
0,03	17,673	55,405	116,736	0,56
0,06	17,331	55,405	116,736	1,15
0,12	16,609	55,405	116,736	2,22

Perbandingan $\frac{NH_3}{TEOS}$	Volume (mL)			
	Air	TEOS	Etanol	NH <sub>3</sub>
0,03	2,3	7,3	15,3	0,07
0,06	2,3	7,3	15,3	0,15
0,12	2,2	7,3	15,3	0,29



**Lampiran 3.7 Karakterisasi SEM**3.7.1. Hasil SEM Sintesis Silika Perbandingan  $\text{NH}_3$  : TEOS 0,03

TM3030Plus

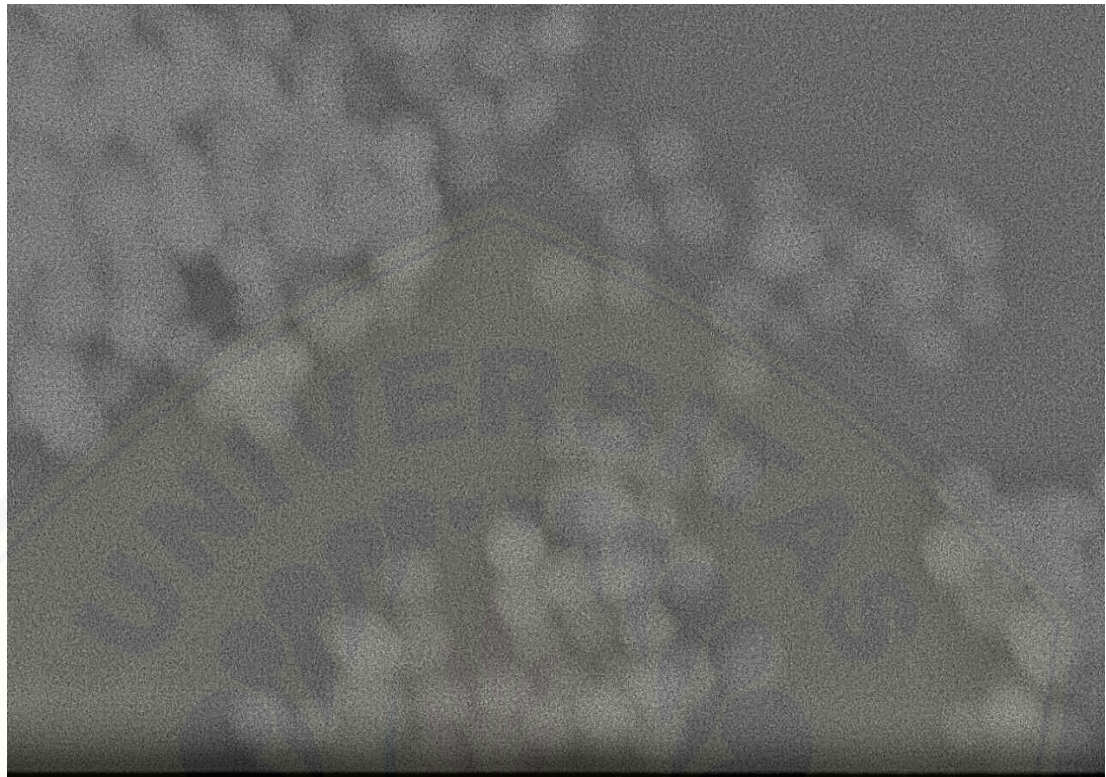
2018/03/23

N

x25k

3.0 ?m

### 3.7.2 Hasil SEM Sintesis Silika Perbandingan $\text{NH}_3$ : TEOS 0,06



TM3030Plus

2018/03/23

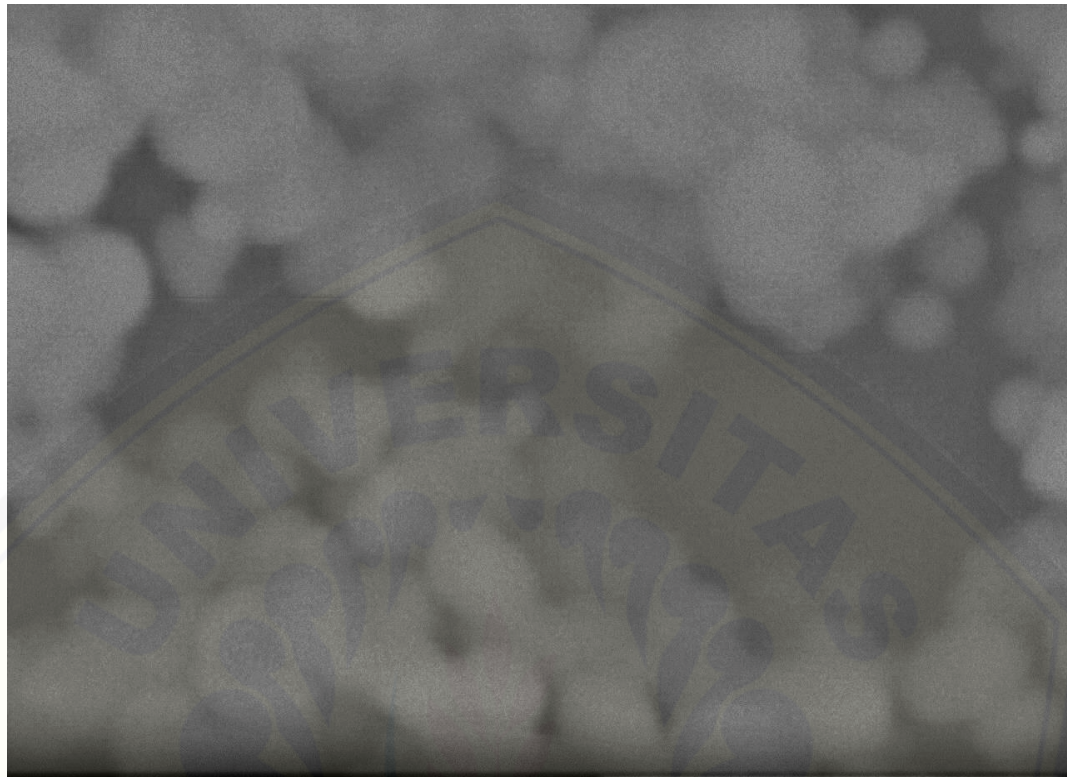
N

x25k

3.0 ?m

JEMBER

### 3.7.3 Hasil SEM Sintesis Silika Perbandingan $\text{NH}_3$ : TEOS 0,12



TM3030Plus

2018/03/01

N

x25k

3.0 ?m

**Lampiran 3.10 Penentuan Efisiensi Imobilisasi dan Yield Imobilisasi**

## 3.10.1 Perhitungan Persen Yield Imobilisasi

$$\% \text{ Yield Imobilisasi} = \frac{P_i - (P_w + P_s)}{P_i} \times 100\%$$

Keterangan,  $P_i$ : total protein yang terkandung dari enzim endoxylanase

$P_w$ : total protein yang terkandung pada larutan sisa pencucian

$P_s$ : total protein yang terkandung pada supernatan setelah imobilisasi

Ukuran Silika (nm)	Absorbansi (Larutan Sisa Cucian)	SD	Kadar Protein (mg/mL)	Kadar protein Rata-Rata (mg/mL)
88,47	0,129	0,004	0,341	0,330
	0,125		0,330	
	0,122		0,324	
271,31	0,189	0,004	0,491	0,480
	0,183		0,476	
	0,182		0,473	
473,51	0,190	0,003	0,494	0,492
	0,186		0,484	
	0,192		0,499	
20,00	0,091	0,002	0,244	0,241
	0,09		0,242	
	0,088		0,237	



Ukuran Silika (nm)	Absorbansi (Supernatan)	Kadar Protein (mg/mL)	Kadar Protein (mg)
88,47	0,102	0,272	0,272
	0,098	0,262	0,262
	0,118	0,312	0,312
271,31	0,117	0,309	0,309
	0,090	0,242	0,242
	0,095	0,254	0,254
473,51	0,126	0,332	0,332
	0,113	0,299	0,299
	0,096	0,257	0,256
20,00	0,078	0,212	0,212
	0,080	0,217	0,217
	0,070	0,191	0,191

Ukuran Silika (nm)	Kadar Protein Enzim (mg)	Kadar Protein Sisa Penncucian (mg)	Kadar Protein Supernatan (mg)	Total Protein Lepas (mg)	Total Protein Terikat (mg)	% Yield Imobilisasi
88,47	2,650	0,992	0,850	1,842	0,808	30,491
271,31	2,650	1,441	0,810	2,251	0,399	15,057
473,51	2,650	1,480	0,890	2,370	0,280	10,566
20,00	2,700	0,720	0,620	1,340	1,360	50,370

### 3.10.2 Perhitungan Persen Effisiensi Imobilisasi

$$\% \text{ Efisiensi Imobilisasi} = \frac{\alpha_i}{\alpha_f} \times 100\%$$

Keterangan,  $\alpha_i$  : total aktivitas enzim terimobilisasi

$\alpha_f$  : total aktivitas enzim bebas tanpa imobilisasi

aktivits enzim bebas 12 jam

Absorbansi	kadar xilosa	aktivitas enzim	rata rata
0,992	0,349	0,010	
0,989	0,348	0,010	
0,996	0,350	0,010	0,010

## aktivits enzim bebas 24 jam

Absorbansi	kadar xilosa	aktivitas enzim	rata rata
0,986	0,347	0,005	
0,989	0,348	0,005	
0,988	0,348	0,005	0,005

## aktivits enzim bebas 36 jam

Absorbansi	kadar xilosa	aktivitas enzim	rata rata
0,882	0,313	0,003	
0,879	0,312	0,003	
0,896	0,318	0,003	0,003

## aktivits enzim bebas 48 jam

Absorbansi	kadar xilosa	aktivitas enzim	rata rata
0,852	0,303	0,002	
0,869	0,309	0,002	
0,886	0,314	0,002	0,002

Ukuran Silika	Penggunaan Enzim (jam)	Aktivitas Enzim Imobilisasi (U/mL)	Aktivitas Enzim Bebas (U/mL)	% Efisiensi Imobilisasi	Rata- Rata % Effisiensi Imobilisasi
88,47 nm	12	0,006	0,02	30,00	41,250
	24	0,004	0,008	50,00	
	36	0,003	0,005	60,00	
	48	0,001	0,004	25,00	
271,31 nm	12	0,005	0,020	25,00	31,875
	24	0,003	0,008	37,50	
	36	0,002	0,005	40,00	
	48	0,001	0,004	25,00	
473,51 nm	12	0,004	0,020	20,00	19,375
	24	0,002	0,008	25,00	
	36	0,001	0,005	20,00	
	48	0,0005	0,004	12,50	
20 nm	12	0,008	0,020	40,00	60,417
	24	0,006	0,008	75,00	
	36	0,003	0,005	60,00	
	48	0,002	0,003	66,67	



### Lampiran 3.11 Karakteristik XOS

#### 3.11.1 Perhitungan Rf

$$R_f = \frac{\text{Jarak Sampel}}{\text{Jarak eluen}}$$

Sampel	Jarak Eluen (cm)	Jarak Sampel (cm)	Rf
X1	5,00	3,50	0,70
X2	5,00	3,00	0,60
X3	5,00	2,50	0,50
X4	5,00	2,00	0,40
X5	5,00	1,70	0,340
X6	5,00	1,50	0,30
Silika 88,37 nm	5,00	1,70	0,34
Silika 271,31nm	5,00	1,70	0,34
Silika 473,51 nm	5,00	1,70	0,34
Enzim Bebas	5,00	1,80	0,36
Silika 20,00 nm	5,00	1,80	0,36

## 3.11.2 Perhitungan Kadar Gula Pereduksi Enzim Terimobil

Ukuran Silika (nm)	Penggunaan Enzim (jam)	Kadar Xilosa (mg/mL)	Total Kadar Xilosa (mg/mL)
88,47	12	0,216	0,727
	24	0,192	
	36	0,167	
	48	0,152	
271,31	12	0,196	0,666
	24	0,172	
	36	0,154	
	48	0,144	
473,51	12	0,193	0,641
	24	0,165	
	36	0,145	
	48	0,138	
20,00	12	0,249	0,785
	24	0,218	
	36	0,166	
	48	0,152	