

**PENGARUH VARIASI KONSENTRASI AMILASE DARI KEDELAI (*Glycine max L.*)
DAN NATRIUM ALGINAT SEBAGAI MATRIKS ENZIM TERHADAP EFEKTIVITAS
IMOBILISASI**

**THE EFFECT OF AMYLASE CONCENTRATION VARIATION FROM SOYBEAN
(*Glycine max L.*) AND SODIUM ALGINATE AS ENZYME MATRIX ON THE
EFFECTIVENESS OF IMMOBILIZATION**

Tirsa Fitriana Angsari and Rudiana Agustini*

*Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya
Jl. Ketintang, Surabaya (60231), Telp. 031-8298761*

** Corresponding author, email: rudianaagustini@unesa.ac.id*

Abstrak. Produksi enzim dalam bentuk murni memerlukan biaya yang cukup tinggi, sehingga diperlukan alternatif dengan memanfaatkan sumber daya alam. Kecambah kacang kedelai adalah salah satu yang berpotensi sebagai sumber enzim amilase. Analisis saat ini yang melibatkan enzim amilase bebas memiliki kelemahan diantaranya hanya dapat digunakan sekali pakai, secara teknis sangat sulit untuk memisahkan enzim dan produk, sulit mendapatkan kembali enzim yang masih aktif di akhir reaksi. Solusi untuk mengatasi kelemahan penggunaan enzim ialah dengan menggunakan teknologi imobilisasi enzim. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi amilase dari kacang kedelai (*Glycine max L.*) dan natrium alginat sebagai kisi matriks penyalut enzim terhadap efektivitas imobilisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi amilase dan Na-alginat mempengaruhi efektivitas imobilisasi. Diperoleh kondisi optimum imobilisasi amilase pada konsentrasi amilase 10% dan konsentrasi Na-alginat 5% dengan jumlah enzim terimobilisasi sebanyak 2,2453 mg/mL dan nilai persentase efektivitas sebesar 98,1653%. Aktivitas sisa penggunaan berulang amilase imobil hingga 6 kali dengan aktivitas sisa sebesar 50,7788%.

Kata kunci : kedelai, amilase, imobilisasi, Na-alginat

Abstract. The production of enzymes in pure form requires a high enough cost so that alternatives are needed by utilizing natural resources. Soybean sprouts are a potential source of amylase enzymes. The current analysis involving free amylase enzymes has a disadvantage including that it can only be used once, technically it is very difficult to separate enzymes and products, it is difficult to recover enzymes that are still active at the end of the reaction. The solution to overcome the disadvantages of using enzymes is to use enzyme immobilization technology. This study aims to determine the effect of variations in the amylase concentration of soybeans (*Glycine max L.*) and sodium alginate as an enzyme coating matrix on the effectiveness of immobilization. The results showed that the concentration of amylase and Na-alginate influenced the effectiveness of immobilization. The optimum conditions for amylase immobilization were obtained at 10% amylase concentration and 5% Na-alginate concentration with the amount of immobilized enzyme as much as 2.2453 mg / mL and the percentage of effectiveness was 98.1653%. Residual activity of repeated use of immobilized amylase up to 6 times with residual activity of 50.7788%.

Key words: soybeans, amylase, immobilization, Na-alginate

PENDAHULUAN

Seiring dengan perkembangan zaman, kemajuan terbaru bidang bioteknologi dan industri dalam biokatalisis enzim semakin pesat. Menurut Penelitian Komunikasi Perusahaan Bisnis (BCC), pasar enzim global diproyeksikan akan tumbuh dari \$ 5,01 miliar pada 2016 menjadi \$ 6,32 miliar pada tahun 2021 [1]. Perkembangan teknologi yang pesat saat ini membuat menarik minat industri kimia dan farmasi untuk menggunakan teknologi enzim, hal ini dikarenakan dengan menggunakan teknologi

tersebut kebutuhan saat proses produksi dan toksisitas terhadap lingkungan lebih rendah [2].

Sekitar 30% dari total produksi enzim dunia yang digunakan adalah enzim amilase [3]. Enzim amilase merupakan enzim yang mengkatalisis proses hidrolisis pati untuk menghasilkan unit molekul glukosa. Ada tiga macam jenis enzim amilase yang paling banyak dikenal adalah α -amilase, β -amilase, dan glukamilase. Kebutuhan akan enzim amilase yang tinggi menuntut akan adanya sumber penghasil enzim amilase yang beragam sesuai dengan karakteristik enzim amilase yang

dibutuhkan. Produksi enzim dalam bentuk murni memerlukan biaya yang cukup tinggi, sehingga diperlukan alternatif dengan memanfaatkan sumber daya alam salah satu diantaranya dapat bersal dari tanaman menggunakan cara perkecambahan pada bahan yang banyak mengandung amilum [4]. Kecambah kacang kedelai adalah salah satu yang berpotensi sebagai sumber enzim amilase. Penelitian Agustini dan Cahyaningriem [5], telah melakukan modifikasi pati menggunakan enzim amilase dari kecambah kacang kedelai.

Umumnya analisis saat ini yang melibatkan enzim amilase (mobil) memakai cara batch memiliki kelemahan diantaranya yaitu hanya dapat digunakan sekali pakai, secara teknis sangat sulit untuk memisahkan enzim dan produk, sulit mendapatkan kembali enzim yang masih aktif di akhir reaksi [6]. Solusi untuk mengatasi kelemahan penggunaan enzim mobil ialah dengan menggunakan teknologi imobilisasi enzim.

Metode imobilisasi enzim terdapat beberapa macam diantaranya adsorpsi, *entrapment*, enkapsulasi, *covalent binding*, dan *cross-linking* [4]. Metode imobilisasi *entrapment* dengan kisi matriks kalsium alginat merupakan metode pemerangkapan enzim berdasarkan pada penempatan enzim dalam kisi-kisi matriks polimer kalsium alginat. Kelebihan metode ini ialah memberi hasil enzim imobil lebih stabil, tidak terjadi ikatan secara kimia antara enzim dengan kisi matriks enzim sehingga tidak mengubah struktur enzim amilase, tidak menghalangi gugus fungsi di pusat aktif enzim, menghasilkan retensi konfirmasi enzim aktif dengan efektivitas dan efisiensi imobilisasi cukup tinggi [7]. Kisi matriks kalsium alginat memiliki kelebihan tidak beracun (*non-toxic*), biokompatibel, gel yang terbentuk kokoh, ekonomis, dan mudah diaplikasikan. Pembentukan kalsium alginat disebabkan terbentuknya ikatan khelat antara natrium alginat setelah mengalami proses *cross-linked* ion kalsium dengan polimer Na-alginat [8].

Terdapat beberapa hal perlu diperhatikan dalam teknologi imobilisasi agar didapatkan enzim imobil yang optimum dalam penggunaan berulang, diantaranya konsentrasi enzim dan kisi matriks merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi efektivitas imobilisasi. Efektivitas imobilisasi merupakan persentase keberhasilan enzim yang diimobilisasi dalam suatu ruang tertentu dapat berupa kisi matriks atau membran.

Enzim yang diimobilisasi dikatakan efektif jika telah mencapai keadaan nilai efektivitasnya optimum, dilihat secara empirik berdasarkan data yang diperoleh [9]. Sehingga diharapkan dapat memberikan dampak ekonomi (mengurangi biaya produksi) aktivitas penggunaan berulang lebih optimal.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah biji kacang kedelai dari pedagang biji kacang di Pasar Manukan, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ p.a (*Merck*), natrium alginat, CaCl_2 p.a (*Merck*), aquademin (*Brataco*), amilum (*Merck*), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ p.a (*Merck*), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ p.a (*Merck*), NaOH p.a (*Merck*), $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ p.a (*Merck*), asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) (*Sigma-Aldrich*), *coomassie brilliant blue* (*Merck*), dan *bovine serum albumine* (*Merck*).

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *sentrifuge* (*eppendorf 5810R*), *magnetic stirrer*, neraca analitik, pipet tetes, kertas saring, spektrofotometer UV-Visible (*Shimadzu UV-1800*), dan peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi dan Purifikasi Enzim Amilase dari Kecambah Kacang Kedelai (*Glycine max L.*) [5]

Biji kedelai yang telah dikecambahkan selama 3 hari diblender dan disaring. Filtrat yang diperoleh disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar amilase. Ekstrak kasar dimurnikan dengan metode pengendapan amonium sulfat konsentrasi 35% dan dilanjutkan dengan dialisis. Enzim hasil dialisis ditentukan kadar protein dan aktivitasnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang optimum.

Penentuan Aktivitas Enzim Amilase [10,11]

Aktivitas amilase ditentukan dengan metode DNS, yaitu menggunakan reagen DNS dan diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 494 nm (panjang

gelombang optimum setelah melakukan optimasi).

Imobilisasi Amilase Variasi konsentrasi enzim

Amilase variasi konsentrasi 0 (blanko); 5; 10; dan 15% dicampur Na-Alginat 3% dengan perbandingan 1:4 distirer selama 15 menit. Campuran tersebut selanjutnya ditetaskan ke dalam larutan CaCl_2 0,1 M menggunakan pipet tetes 4 mm. Butiran halus amilase Ca-Alginate yang telah mengeras berisi enzim, dipisahkan dari larutan CaCl_2 dengan menggunakan kertas saring Whatman. Butiran yang terbentuk dibilas dengan aquademin dan masing-masing perlakuan dikeringkan pada temperatur ruang selama 3 jam [12]. Amilase imobil, sisa imobilisasi larutan CaCl_2 , dan air sisa pembilasan diukur aktivitasnya menggunakan metode DNS. Konsentrasi enzim yang menghasilkan efektivitas imobilisasi optimum dipilih untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

Imobilisasi Amilase Variasi konsentrasi larutan natrium alginat

Amilase dicampur Na-Alginat 3% variasi konsentrasi 1; 3; 5; 7% dengan perbandingan 1:4 distirer selama 15 menit. Campuran tersebut selanjutnya ditetaskan ke dalam larutan CaCl_2 0,1 M menggunakan pipet tetes 4 mm. Butiran halus amilase Ca-Alginate yang telah mengeras berisi enzim, dipisahkan dari larutan CaCl_2 dengan menggunakan kertas saring Whatman. Butiran yang terbentuk dibilas dengan aquademin dan masing-masing perlakuan dikeringkan pada temperatur ruang selama 3 jam [12]. Amilase imobil, sisa imobilisasi larutan CaCl_2 , dan air sisa pembilasan diukur aktivitasnya menggunakan metode DNS. Konsentrasi enzim yang menghasilkan efektivitas imobilisasi optimum dipilih untuk digunakan pada tahap selanjutnya. Efektivitas imobilisasi dapat dihitung dengan rumus [13,14]:

$$\text{Efektivitas Imobilisasi (\%)} = \frac{\text{aktv. amilase imobil (U)}}{\text{aktv. mobil (U)}} \times 100 \%$$

Dimana:

Aktivitas mobil = aktivitas enzim bebas –
(aktivitas enzim CaCl_2 +
aktivitas enzim sisa hasil
pembilasan)

Uji Penggunaan Berulang Amilase Imobil

Uji penggunaan berulang amilase imobil dilakukan untuk mengetahui kemampuan amilase

imobil ketika dipakai berulang hingga kehilangan 50% dari aktivitas awal. Dalam tahap ini digunakan konsentrasi enzim amilase dan Na-Alginat yang memiliki efektivitas optimum dari tahap sebelumnya. Uji penggunaan berulang dapat menentukan hasil aktivitas sisa dengan rumus [13]:

$$\text{Aktivitas sisa} = \frac{\text{aktv. setelah penggunaan berulang (U)}}{\text{aktv. sebelum penggunaan berulang (U)}} \times 100\%$$

Uji Kadar Protein Enzim Imobil Menggunakan Metode Bradford

Enzim imobil dapat ditentukan melalui pengukuran konsentrasi enzim sebelum terimobilisasi, konsentrasi enzim sisa imobilisasi larutan CaCl_2 dan air sisa pembilasan dengan metode Bradford menggunakan reagen Bradford dan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Visible dengan panjang gelombang 595 nm (panjang gelombang optimum setelah melakukan optimasi). Konsentrasi enzim terimobilisasi dapat dihitung dengan rumus:

$$C_E = C_0 - C_T$$

Keterangan:

C_E = Konsentrasi enzim terimobilisasi (mg/mL)

C_0 = Konsentrasi sebelum terimobilisasi (mg/mL)

C_T = Konsentrasi setelah terimobilisasi
(konsentrasi enzim sisa imobilisasi larutan
 CaCl_2 dan air sisa pembilasan) (mg/mL).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Purifikasi Enzim Amilase dari Kecambah Kacang Kedelai (*Glycine max L.*)

Sebelum dilakukan imobilisasi hasil ekstraksi amilase dari kacang kedelai perlu dilakukan pemurnian menggunakan metode *salting out* dengan menambahkan amonium sulfat. Metode *salting out* berperan dalam mengendapkan protein enzim amilase yakni dengan membuat gaya tarik antar protein semakin kuat sehingga protein dapat mengendap [15]. Ion-ion garam ammonium sulfat akan berkompetisi dengan protein untuk menarik molekul air, sehingga ion garam akan menarik molekul air yang mengelilingi protein enzim. Air diikat oleh garam sehingga tidak dapat menghidrasi protein, akibatnya protein akan mengendap karena adanya hidrofobik interaksi antar molekul protein. Protein enzim akan saling berdekatan membentuk gumpalan dan mengendap. Garam ammonium sulfat sering digunakan untuk *salting out* karena kelarutannya

sangat tinggi, memberikan efek menstabilkan enzim dan tidak merusak struktur protein [16].

Setelah dilakukan pemurnian menggunakan metode *salting out* dilanjutkan proses dialisis selama 18 jam, dimana setiap 3 jam sekali larutan buffer fosfat pH 7 beserta kantong dialisis harus diganti. Proses dialisis bertujuan untuk menghilangkan kadar garam ammonium sulfat tahap sebelumnya. Ekstrak amilase yang telah mengalami proses dialisis, diuji aktivitasnya dengan reagen DNS menggunakan metode spektrofotometri. Diperoleh hasil aktivitas amilase seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1. Pada penelitian ini satu unit aktivitas enzim amilase didefinisikan sebagai jumlah amilase yang mengkatalisis pembentukan 1 μmol glukosa per menit pada kondisi pH 7, dalam temperatur 37°C , dan kadar substrat pati sebesar 1%.

Tabel 1. Aktivitas ekstrak amilase dari kacang kedelai hasil pemurnian pada berbagai variasi konsentrasi

Konsentrasi amilase mobil (%)	Absorbansi	Aktivitas amilase (Unit)
0	0,145	0
5	0,253	18,5556
10	0,474	55,3889
15	0,514	62,0556

Hasil penelitian pada Tabel 1 menunjukkan bahwa konsentrasi enzim mempengaruhi aktivitas enzim, hal ini disebabkan bertambahnya jumlah konsentrasi enzim akan diikuti dengan besar jumlah aktivitas enzim yang semakin meningkat pula.

Penentuan Konsentrasi Amilase Optimum

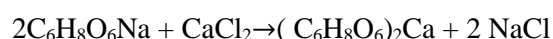
Amilase imobil diperoleh dengan imobilisasi teknik *entrapment* seperti pada Gambar 1, yang berwarna *navajo white*, berbentuk bulat, dan bertekstur lembut. Pada proses pembuatan amilase imobil, enzim amilase beserta natrium alginat yang telah dihomogenkan diteteskan ke dalam larutan CaCl_2 , hal tersebut bertujuan agar terjadi pautan silang antarmolekul natrium alginat dengan ion Ca^{2+} . Gel alginat menjadi lebih keras setelah 20 menit,

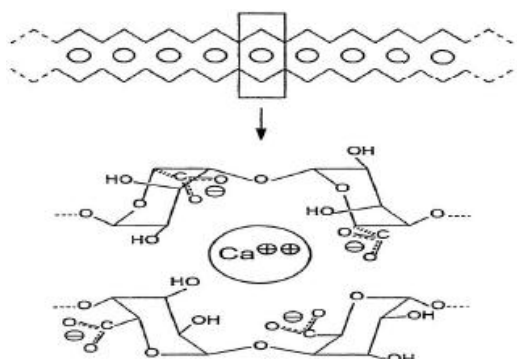
menandakan pautan silang antamolekul alginat dan ion Ca^{2+} telah berlangsung sempurna.



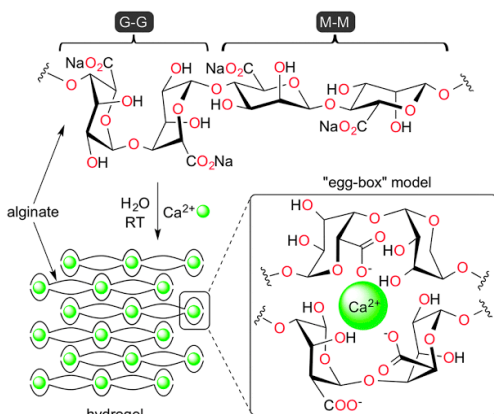
Gambar 1. Enzim amilase yang telah diimobilisasi dengan matriks Ca-Alginat

Larutan natrium alginat dengan kalsium klorida dapat membentuk gel yang tidak larut dalam air, dalam hal ini alginat berfungsi sebagai agen pengkhelet [17]. Pembuatan kalsium alginat $(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)_2\text{Ca}$ dapat terjadi dengan mengubah ion natrium dalam natrium alginat yang larut dalam air, dengan kation divalen khususnya kalsium. Sehingga terbentuk gel kalsium alginat pada 2 blok G tersusun paralel seperti telur dalam kotak. Pembentukan gel alginat dengan ion Ca^{2+} disebabkan terbentuknya ikatan khelat antara natrium alginat melalui mekanisme rantai (*interchain mechanism*). Ion Ca^{2+} mempunyai orbital d yang kosong sehingga alginat sebagai ligan menyumbangkan elektronnya kepada Ca^{2+} . Adanya ion Ca^{2+} menyebabkan terjadinya *cross-linked* antara satu polimer dengan polimer yang lain. Ikatan yang dialami antara kalsium alginat dengan alginat disebabkan terikatnya ion kalsium bervalensi dua dengan gugus karboksil dari molekul polimer yang berbeda, dengan gugus hidroksil bebasnya, sehingga membentuk ikatan sebagai senyawa kompleks yang melibatkan dua gugus karboksil dan gugus hidroksil [18]. Berikut merupakan persamaan reaksi dan terjadinya pautan silang seperti pada Gambar 2 dan 3:



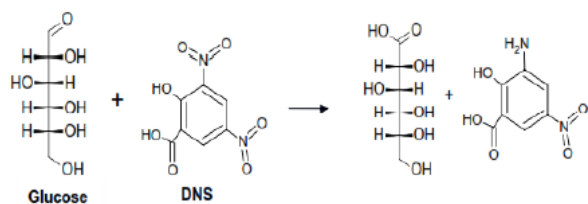


Gambar 2. Struktur Ca-alginat [19].



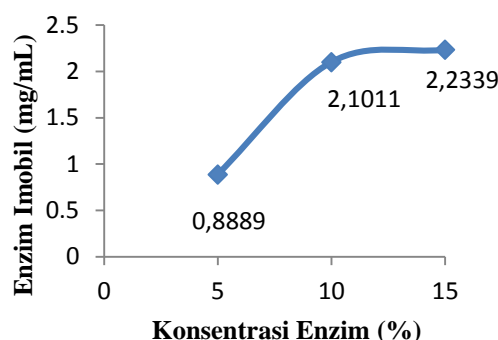
Gambar 3. Proses terbentuknya formasi *egg-box* [18].

Amilase Imobil yang telah terbentuk di uji aktivitas menggunakan metode DNS. Prinsip metode ini ialah larutan asam 3,5-dinitrosalisilat dari reagen DNS akan direduksi oleh gula pereduksi hasil hidrolisis pati oleh enzim menghasilkan asam 3-amino-5-nitrosalisilat dilihat berdasarkan perubahan warna dari jingga menjadi jingga kemerahan setelah pemanasan seperti pada Gambar 4. Diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 494 nm (optimum setelah melakukan optimasi). Banyaknya larutan asam 3,5-dinitrosalisilat yang tereduksi berbanding lurus dengan banyaknya glukosa yang dihasilkan dalam sampel.

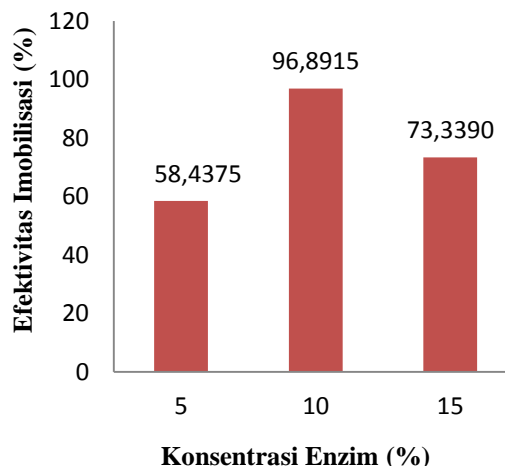


Gambar 4. Reaksi Glukosa dengan 3,5-Asam Dinitrosalisilat [4]

Hasil penelitian memperlihatkan amilase imobil meningkat secara signifikan hingga konsentrasi amilase 10% yaitu sebesar 2,1011 mg/mL dan diikuti peningkatan dalam jumlah yang sedikit pada konsentrasi 15% sesuai Gambar 5. Peningkatan amilase imobil tidak diiringi persentase efektivitas imobilisasi. Nilai efektivitas imobilisasi meningkat hingga amilase konsentrasi 10% yakni sebesar 96,8915% dikarenakan densitas enzim pada polimer meningkat dan menurun pada konsentrasi amilase 15% seperti yang ditunjukkan pada Gambar 6. Efektivitas imobilisasi memberikan persentase keberhasilan enzim yang diimobilisasi dalam kisi matriks, dipengaruhi oleh nilai aktivitas enzim.



Gambar 5. Jumlah protein enzim terimobilisasi dalam matriks Ca-Alginat pada berbagai variasi konsentrasi enzim mobil



Gambar 6. Pengaruh variasi konsentrasi enzim mobil terhadap efektivitas Imobilisasi pada matriks Ca-Alginat

Peningkatan enzim terimobilisasi yang rendah pada konsentrasi lebih dari 10%

menunjukkan bahwa pori-pori kalsium alginat telah mengalami penurunan kekuatan menjerat sehingga tidak mampu lagi menjerat amilase dengan baik. Hal ini diikuti dengan menurunnya nilai persentase efektivitas imobilisasi pada konsentrasi 15% disebabkan dengan semakin meningkatnya konsentrasi enzim dapat memungkinkan terjadinya sterik *crowding* di sekitar sisi aktif enzim, dimana enzim yang mengumpul (*crowding*) menghalangi kesempatan bagi substrat untuk menempel pada sisi aktif enzim. Konsentrasi enzim yang meningkat mengakibatkan distribusi amilase dalam matriks semakin banyak sehingga menurunkan luas permukaan kontak antara amilase dengan substrat, berdampak pada aktivitas amilase yang ikut menurun. Hasil serupa pernah didapatkan pada penelitian Mesla, Chanif, dan Sutrisno [20], menyatakan peningkatan jumlah xilanase yang terjebak dalam manik Ca-alginat-kitosan variasi konsentrasi enzim tidak diiringi oleh peningkatan aktivitas xilanase amobil yaitu aktivitas menurun pada konsentrasi enzim 0,366 mg/mL. Selain itu dalam hasil penelitian Gusmawati [13], menyatakan peningkatan volume enzim (6:1) menurunkan efektivitas imobilisasi yakni sebesar 30%. Dengan demikian, dapat diketahui variasi konsentrasi amilase dapat mempengaruhi efektivitas imobilisasi. Konsentrasi amilase optimum adalah 10% dengan konsentrasi enzim mobil pada penelitian ini adalah 2,1011 mg/mL dan persentase keberhasilan imobilisasi sebesar 96,8915%.

Salah satu keunggulan enzim imobil adalah dapat digunakan berulang. Konsentrasi amilase optimum 10% yang telah diimobilkan dapat digunakan berulang hanya sampai 3 kali pemakaian ulang dengan aktivitas sebesar 42,1111 Unit dan aktivitas sisa sebesar 81,0695% sesuai pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas sisa penggunaan berulang variasi konsentrasi amilase

Penggunaan ke-	Aktivitas enzim (Unit)	Aktivitas sisa (%)
1	51,9444	100
2	50,2222	96,6845
3	42,1111	81,0695
4	25,8889	49,8396

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada penggunaan keempat aktivitas enzim menurun

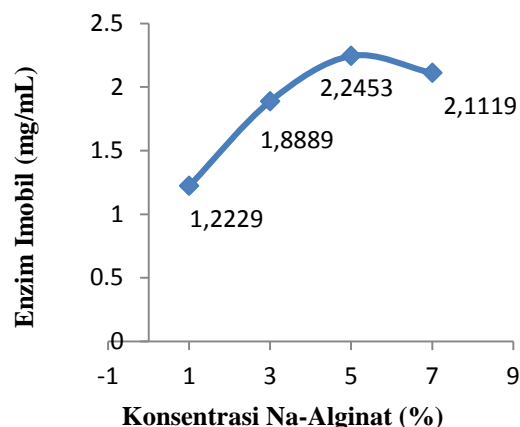
drastis hal ini disebabkan karena pori yang telah terbentuk dimungkinkan rusak, pori kalsium alginat telah mengalami penurunan kekuatan menjerat sehingga tidak mampu lagi mempertahankan amilase yang telah terimobil dengan baik seperti pada gambar 7 menunjukkan amilase imobil yang telah digunakan berulang berwarna *navajo white*, bertekstur lembut, dan menjadi berbentuk bulat pipih tidak sempurna. Terjadinya perubahan bentuk dapat disebabkan belum optimumnya kisi matriks penyalut enzim. Rusaknya pori mengakibatkan amilase awal terjebak menjadi terlepas. Enzim imobil dikatakan masih baik digunakan jika nilai aktivitas sisa di atas 50% [21].



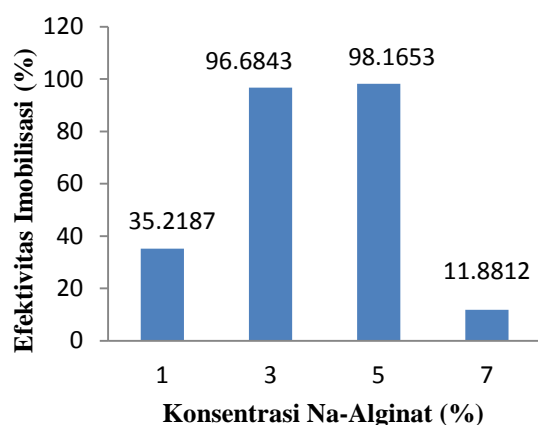
Gambar 7. Amilase imobil setelah penggunaan ulang ke- 4

Penentuan Konsentrasi Natrium Alginat Optimum

Konsentrasi optimum imobilisasi amilase yang diperoleh dari tahap sebelumnya digunakan untuk optimasi imobilisasi variasi konsentrasi natrium alginat. Gambar 7 menunjukkan bahwa konsentrasi enzim imobil meningkat hingga konsentrasi natrium alginat 5% sebesar 2,2453 mg/mL dan mengalami penurunan pada konsentrasi natrium alginat 7% sebesar 2,1119 mg/mL. Hal tersebut diikuti dengan nilai efektivitas imobilisasi variasi konsentrasi natrium alginat. Efektivitas imobilisasi meningkat hingga konsentrasi natrium alginat 5% yakni sebesar 98,1653% dan menurun pada konsentrasi 7% seperti pada Gambar 8.



Gambar 8. Jumlah protein enzim terimobilisasi dalam matriks Ca-Alginat pada berbagai variasi konsentrasi Na-Alginat



Gambar 9. Pengaruh variasi konsentrasi Na-Alginat terhadap efektivitas Imobilisasi pada matriks Ca-Alginat

Konsentrasi Na-Alginat yang semakin meningkat maka terjadinya pautan silang semakin banyak pula, berakibat pori yang dihasilkan semakin rapat (rigid) [18]. Meningkatnya enzim terimobilisasi hingga konsentrasi Na-Alginat 5% disebabkan pori gel yang semakin rapat memberikan kemungkinan kecil terjadinya kebocoran enzim selama imobilisasi, mampu menahan enzim keluar dari matriks. Konsentrasi Na-Alginat lebih dari 5% konsentrasi enzim terimobilisasi mengalami penurunan dikarenakan terlalu besarnya konsentrasi matriks akan menghasilkan gel yang padat (rigid) sehingga ukuran pori gel terlalu kecil, selain itu dapat dimungkinkan banyaknya pori yang terbentuk mengakibatkan antar pori akan tertutupi oleh

pori-pori lain dan enzim sulit untuk masuk/terjerat dalam matriks [22]. Hal ini diikuti dengan menurunnya nilai persentase efektivitas imobilisasi pada konsentrasi 7% disebabkan gel yang dihasilkan terlalu padat (rigid) sehingga ukuran pori yang dihasilkan menjadi terlalu kecil mengakibatkan efek tahanan difusi yaitu proses difusi substrat melewati matriks Ca-Alginat terhambat, pertemuan antara substrat dan enzim menjadi terbatas. Dengan demikian, dapat diketahui variasi konsentrasi Na-Alginat dapat mempengaruhi efektivitas imobilisasi. Diperoleh konsentrasi Na-Alginat optimum adalah 5% dengan konsentrasi enzim terimobilisasi sebesar 2,2453 mg/mL dan persentase keberhasilan imobilisasi sebesar 98,1653%.

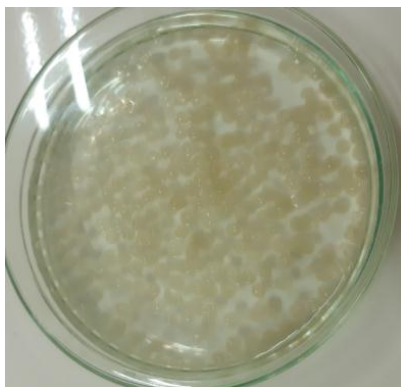
Amilase imobil yang telah diperoleh dengan optimasi konsentrasi amilase dan natrium alginat dapat digunakan berulang hingga 6 kali penggunaan berulang dengan aktivitas sebesar 27,1667 Unit dan aktivitas sisa sebesar 50,7788% seperti pada Tabel 3. Amilase imobil yang telah digunakan berulang berwarna *navajo white*, bertekstur lembut, dan berbentuk bulat namun sangat rapuh dikarenakan menurunnya kekuatan gel akibat terjadinya sineresis yaitu keluarnya cairan dari gel, sehingga gel menjadi mudah hancur [23,24] seperti pada Gambar 9.

Tabel 3. Aktivitas sisa penggunaan berulang variasi konsentrasi Na-alginat

Penggunaan ke-	Aktivitas enzim (Unit)	Aktivitas sisa (%)
1	53,5011	100
2	51,2222	95,7425
3	40,1667	75,0778
4	36,4444	68,1205
5	29,4444	55,0363
6	27,1667	50,7788
7	13,8333	25,8567

Tabel 3 menunjukkan jumlah penggunaan berulang tersebut lebih besar dibandingkan jumlah data penggunaan berulang optimasi konsentrasi amilase saja. Optimasi konsentrasi Na-Alginat membuat kisi matriks yang diperoleh rigid dengan ukuran pori-pori sesuai sehingga mampu menahan amilase keluar dari matriks dan masih mampu kontak dengan substrat, berdampak pada penggunaan berulang lebih banyak. Hal ini menunjukkan bahwa pentingnya untuk

melakukan optimasi imobilisasi enzim. Enzim imobil dikatakan masih baik digunakan jika nilai aktivitas sisa di atas 50% [21].



Gambar 10. Amilase imobil setelah penggunaan ulang ke- 7

KESIMPULAN

Berdasarkan data yang telah dihasilkan, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi amilase dan Na-alginat mempengaruhi efektivitas imobilisasi. Kondisi optimum imobilisasi amilase efektif pada konsentrasi amilase 10% dan konsentrasi Na-alginat 5% dengan jumlah enzim terimobilisasi sebanyak 2,2453 mg/mL dan nilai persentase efektivitas sebesar 98,1653%. Aktivitas sisa penggunaan berulang amilase imobil hingga 6 kali penggunaan dengan persentase aktivitas sisa sebesar 50,7788%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chapman, J., Ismail, E.A., and Dinu, C.Z., 2018. *Review: Industrial Applications of Enzymes: Recent Advances, Techniques, and Outlooks.* *Catalysts*, 8, 238; doi:10.3390/catal8060238
2. Beilen, J. B., & Z. L. 2002. *Enzyme technology: an overview.* Protein technologies and commercial enzymes , 338-344.
3. Vaseekaran, S., Balakumar, S., & Arasaratnam, V. 2010. *Isolation and Identification of a Bacterial Strain Producing Thermostable α - Amylase.* *Tropical Agricultural Research* , 22 (1), 1 - 11.
4. Turah, N., Bahri, S., & Nurakhirawati. 2017. *Determination of The Half-Life of Immobilized Enzyme From Mung Bean Sprouts (Phaseolus aureus) for Production of Glucose From Maltodextrin.* *Riset Kimia* , 3 (2), 150-157.
5. Agustini, Rudiana dan S.E, Cahyaningrum. 2018. *Produksi Amilase Menggunakan Sumber Hayati Lokal Untuk Mendukung Ketersediaan Enzim Dan Produk Unggulan Unesa.* Laporan Penelitian tidak dipublikasikan. LPPM Universitas Negeri Surabaya.
6. Cahyaningrum, Sari Edi, dan Narsito. 2009. *Peranan Jembatan Kation Dalam Imobilisasi Papain Pada Kitosan.* Disertasi S3. Tidak Dipublikasikan. Yogyakarta: UGM.
7. Daudi, R. 2012. *Sintesis Biodiesel Rute Non-Alkohol Dari Minyak Goreng Dengan Biokatalis Melalui Terimobilisasi Entrapment Pada Reaktor Batch dan Pada Reaktor Packed Bed.* Skripsi. Depok: Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
8. Pereira, L., Carvalho, A., Vaz, D. C., Gil, M. H., Mendes, A., & Bartolo, P. 2013. *Development of novel alginate based hydrogel films for wound healing applications.* *Int J Biol Macromol* , 52, 221-230.
9. Ardian, A., Roosdiana, A., Sutrisno. 2014. *Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Terhadap Kestabilan Aktivitas Xilanase Diamobilisasi Dalam Pasir Laut.* *Kimia Student Journal*, 2(1): 386 -392.
10. Thaati, Sutrisno, dan Anna, R. 2013. *Optimasi Amobilisasi Xilanase dari Trichoderma viride Pada Matriks Pasir Laut Terlapis.* *Kimia Student Journal*, 2(1): 310 -316.
11. Tanjung, E., Anna, R., dan Diah, M. 2013. *Amobilisasi Pektinase Hasil Isolasi dari Aspergillus niger Menggunakan Matriks Karagenan.* *Kimia Student Journal*, 2(1): 449 - 455.
12. Won, K., Kim, S., Kim, K. J., Park, H. W. and Moon, S.J. 2005. *Optimization of lipase entrapment in Ca-Alginate gel beads.* *Process Biochemistry* 40(6) : 2149-2154.
13. Gusmawati, Niken. 2010. *Amobilisasi Xilanase Ekstraseluler dari Streptomyces sp.45I-3.* Tesis S2. Bogor: IPB.
14. Talekar, S., and Sandeep, C. 2012. *Optimization of immobilization of alpha amylase in alginate gel and it's comparative biochemical studies with free alpha amylase.* *Recent Research in Science and Technology*, 4(2): 01-05.
15. Wahjuni, S., Putu, S., dan I. M. A. Saputra. 2017. *Isolasi Enzim Amilase dari Kecambah*

- Biji Jagung Lokal Seraya untuk Hidrolisi Pati.* Jurnal Kimia, 11(2): 122-128.
16. GE Healthcare Life Sciences. 2011. *Instructions AB Hydrophobic interaction media Capto Phenyl (high sub).* General Electric Company.
17. Ul-Ain Q, Sharma S, Khuller GK, Grag SK. 2003. *Alginate-based oral delivery system for tuberculosis pharmacokinetics and therapeutics effects.* J Antimicrobe Chemother. Vol 51:931-938.
18. Senturk Parreidt T., Müller K., Schmid M. (2018), *Alginate-based edible films and coatings for food packaging applications,* Foods, 7(10), pp. 170.
19. Chaplin M. 2005. *Alginate.* Applied Science, London South Bank University. (online) diakses pada tanggal 23 November 2019 (<http://chem.skku.ac.kr/wkpark/tutor/mirror/www.martin.chaplin.btinter.net.co.k/hygu.htm>)
20. Mesla, W., Chanif, M., dan Sutrisno. 2014. *Optimasi Amobilisasi Xilanase dari Trichoderma viride Pada Matriks Ca-Alginat Kitosan.* Kimia Student Journal, 2(1): 428 - 434.
21. Prasetyawan, S. 2015. *Optimasi Amobilisasi Enzim Pektinase dari Aspergillus Niger Menggunakan Matriks Kitosan-Natrium Tripolifosfat dan Penentuan Efisiensi Penggunaannya.* Prosiding SEMIRATA MIPA BKS-PTN Barat, 312-321.
22. Prasetyawan, S. 2017. *Amobilisasi Enzim Pektinase dari Aspergillus Niger Dengan Matriks Kitosan-Natrium Tripolifosfat.* Prosiding Seminar Nasional Kimia UNY.
23. Subaryono. 2009. *Karakteristik Pembentukan Gel Alginat dari Rumput Laut Sargassum sp. dan Turbinaria sp.* Tesis. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor p. 65-66.
24. Glicksman. 1983. *Food hydrocolloids.* Volume 11. New York: CRC Press