

TAMBAH LAMBAT

IR PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KKS  
KK  
553.61  
STU

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**STUDI PENGGUNAAN BENTONIT YANG MEMILIKI  
DAYA ADSORPSI FISIK SEBAGAI PADATAN PENDUKUNG  
UNTUK AMOBILISASI ENZIM-ENZIM DENGAN BM RELATIF KECIL**

3000078963141

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

**Ketua Peneliti :**

**Drs. Sofijan Hadi**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai Oleh : DIP OPF Unair 1994/1995

SK.Rektor Nomor : 5655/PT03.H/N/1994

Nomor : 162

**SELESAI**



# LEMBAGA PENELITIAN

Jl. Darmawangsa Dalam 2 Telp. (031) 42322 Surabaya 60286

3000078963141

IDENTITAS DAN PENGESAHAN  
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

1. a. Judul Penelitian : Studi Penggunaan Bentonit Yang Memiliki Daya Adsorpsi Fisik Sebagai Padatan Pendukung Untuk Amobilisasi Enzim-Enzim Dengan BM Relatif Kecil
- b. Macam Penelitian : (V) Fundamental ( ) Terapan ( ) Pengembangan
2. Kepala Proyek Penelitian
  - a. Nama Lengkap Dengan Gelar : Drs. Sofijan Hadi
  - b. Jenis Kelamin : Laki-Laki
  - c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata Muda/IIIA/132 009 466
  - d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
  - e. Fakultas / Jurusan : FMIPA/Kimia
  - f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga
  - g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Biokimia
3. Jumlah Tim Peneliti : 5 (lima) orang
4. Lokasi Penelitian : Lab. Kimia Organik Fak. Farmasi Unair
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
  - a. Nama Instansi : -
  - b. A l a m a t : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 8 (delapan) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : Rp 1.500.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian :
  - a. Dilaksanakan Tanggal : 5 April 1995
  - b. Hasil Penilaian : ~~( ) Baik Sekali~~ ( V ) B a i k  
( ) S e d a n g ( ) K u r a n g

Surabaya, 11 April 1995



Mengetahui/ Mengesahkan :  
a.n. Rektor  
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. Noor Cholies Zaini f  
NIP. 130 355 372

Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan  
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi  
Universitas Airlangga

STUDI PENGGUNAAN BENTONIT YANG MEMILIKI  
DAYA ADSORPSI SEBAGAI PADATAN PENDUKUNG  
UNTUK AMOBILISASI ENZIM-ENZIM DENGAN BM RELATIF KECIL

Tim Peneliti :  
Ketua: Drs. Sofijan Hadi

Anggota :  
Dra. Afaf Baktir, M.S.  
Drs. Faidur Rochman, M.S.  
Drs. Mulyadi Tanjung, M.S.  
Ir. Aminatun

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP/OPF Unair 1994/1995  
SK. Rektor Nomor : 5655/PT.03.H/N/1994  
Tanggal : 20 Juli 1994

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah S. W.T., yang memberikan rahmat Nya sehingga penelitian kami yang berjudul " Studi Penggunaan Bentonit yang Mempunyai Daya Adsorpsi Fisik Sebagai Padatan Pendukung Untuk Amobilisasi Enzim-enzim Dengan BM Relatif rendah " dapat terselesaikan dengan baik.

Pada kesempatan ini kami ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga Surabaya atas kesempatan yang diberikan dalam melakukan penelitian ini;
2. Dekan Fakultas MIPA atas kesempatan yang diberikan;
3. Ketua Laboratorium Kimia Organik FMIPA Unair atas kesempatan yang diberikan;
4. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unair atas bantuan fasilitas peralatan

Demi sempurnanya tulisan ini saran-saran dan kritik sangat diharapkan dari para pembaca sekalian.

Surabaya, Pebruari 1995

Tim Penulis

## RINGKASAN PENELITIAN

- Judul Penelitian** : Studi Penggunaan Bentonit yang Memiliki Daya Adsorpsi Fisik Sebagai Padatan Pendukung untuk Amobilisasi Enzim-enzim dengan BM Relatif Kecil
- Ketua Peneliti** : Sofijan Hadi  
Afaf Baktir  
Faidur Rochman  
Mulyadi Tanjung  
Aminatun
- Fakultas/Puslit** : FMIPA
- Sumber Biaya** : DIP Operasional Perawatan dan Fasilitas Universitas Airlangga tahun 1994/1995  
S.K. Rektor nomor: 5655/PT03.H/N/1994  
Tanggal 20 Juli 1994
- 

Penggunaan enzim secara komersial semakin berkembang dewasa ini. Dalam proses produksi di industri enzim dapat digunakan dalam bentuk terlarut (mobil) atau bentuk tak larut (amobil). Penggunaan enzim amobil lebih ekonomis dibanding mobil karena dapat digunakan secara berulang-ulang. Salah satu teknik pembuatan enzim adalah mengikat enzim pada padatan pendukung sintesis yang harganya cukup mahal. Lempung bentonit merupakan bahan mineral yang berlimpah jumlahnya dan apabila dilakukan aktifasi akan memiliki sifat seperti padatan pendukung sintesis.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan amobilisasi enzim fungal  $\alpha$ -amylase, bacterial  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase kecil serta mempelajari daya ikat adsorpsi fisik bentonit terhadap ketiga enzim diatas.

Dilakukan aktifasi mereaksikan bentonit dengan uap  $AlCl_3$  pada suhu  $500^\circ C$  selama lima jam. Bentonit aktif kemudian dikontakkan dengan ketiga enzim diatas pada suhu  $25^\circ C$  dan waktu kontak 30 menit sebagai suhu dan waktu kontak optimum. Enzim amobil yang diperoleh diuji kekuatan ikatannya pada bentonit.

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah Enzim Fungal  $\alpha$ -amylase, bacterial  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase dapat diamobilisasi menggunakan bentonit sebagai padatan pendukung walaupun kekuatan ikatannya relatif lemah. Dari ketiga enzim tersebut, bacterial  $\alpha$ -amylase lebih kuat terikat pada bentonit dibanding yang lain dan enzim amobil yang diperoleh masih menunjukkan aktifitasnya.

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR .....	i
RINGKASAN PENELITIAN .....	ii
DAFTAR ISI .....	iii
DAFTAR TABEL .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang Masalah .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	2
1.3. Tujuan Penelitian .....	3
1.4. Manfaat Penelitian .....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Lempung .....	4
2.2. Bentonit .....	6
2.3. Enzim Amylase .....	9
2.3.1. Enzim $\alpha$ -amylase .....	10
2.3.2. Enzim Glucoamylase .....	11
2.4. Amobilisasi Enzim .....	11
BAB III. METODE PENELITIAN	
3.1. Bahan dan Alat Penelitian .....	13
3.2. Cara Kerja	
3.2.1. Pencucian Bentonit .....	14
3.2.2. Aktifasi Bentonit .....	14
3.2.3. Pembuatan Kurva Baku Amilum .....	15
3.2.4. Uji Aktifitas Enam Bebas .....	16
3.2.5. Pembuatan Kurva Baku Tirosin .....	16

3.2.6. Penentuan Suhu dan Waktu Kontak Optimum Pada Proses Amobilisasi Enzim .....	17
3.2.7. Amobilisasi Enzim dengan Bentonit Aktif pada Suhu dan Waktu Optimum .....	17
3.2.8. Uji Daya Ikat Bentonit Terhadap Enzim ..	17
3.2.9. Uji Aktifitas Enzim Amobil .....	18
<b>BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Pembuatan Kurva Baku Amilum .....	19
4.2. Aktifitas Enzim Bebas .....	20
4.3. Pembuatan Kurva Baku Tirosin .....	20
4.4. Penentuan Suhu dan Waktu Kotak Optimum Amobilisasi .....	22
4.5. Daya Ikat Bentonit Terhadap Enzim .....	23
4.6. Aktifitas Enzim Amobil .....	25
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>28</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>29</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Data Kurva Baku Amilum .....	19
Tabel 4.2. Data Uji Aktifitas Enzim Bebas .....	20
Tabel 4.3. Data Kurva Baku Tirosin .....	21
Tabel 4.4. Kadar Tirosin pada Penentuan Suhu Optimum Amobilisasi Enzim .....	22
Tabel 4.5. Kadar Tirosin pada Penentuan Waktu Kontak Optimum Amobilisasi Enzim .....	23
Tabel 4.6. Kadar Tirosin yang lolos pada uji daya ikat bentonit-enzim .....	23
Tabel 4.7. Aktivitas Enzim amobil .....	26



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Sketsa Diagram Struktur Monmorilonit Menurut Hofman dkk. (1933) .....	8
Gambar 2.2. Sketsa Diagram Struktur Monmorilonit Menurut Endelman (1940) .....	8
Gambar 2.3. Kalsifikasi Metode Amobilisasi Enzim .....	12
Gambar 3.1. Reaktor Aktifasi Bentonit .....	15
Gambar 4.1. Kurva Baku Amilum .....	19
Gambar 4.2. Kurva Baku Tirosin .....	22

## BAB I

### PENDAHULAN

#### 1.1. Latar Belakang Masalah

Penggunaan enzim secara komersial semakin berkembang dewasa ini. Banyak proses di industri yang menggunakan enzim, karena beberapa keuntungan yang berkaitan dengan reaksi enzim, diantaranya berlangsung cepat dan selektif. Di samping itu enzim kualitas industri dapat diproduksi dalam jumlah tidak terbatas dari berbagai mikroorganisme dengan cara mudah dan murah.

Dalam proses produksi di industri, enzim dapat digunakan dalam bentuk terlarut (mobil) dan bentuk tidak larut (amobil). Bentuk enzim amobil merupakan terobosan baru yang sedang dikembangkan saat ini.

Salah satu cara pembuatan enzim amobil adalah dengan mengikatkan enzim pada suatu padatan pendukung dari bahan sintesis, semisintetis atau bahan alam. Padatan pendukung biasanya berupa polimer organik atau anorganik yang tidak larut dalam air. Padatan pendukung sintetis dan semisintetis harganya sangat mahal, sehingga perlu dicarikan penggantinya yang bersumber dari bahan alam, agar proses produksi di industri yang melibatkan enzim dapat ekonomis.

Lempung bentonit merupakan bahan alam mineral yang terdapat dalam jumlah berlimpah di Indonesia. Di Jawa Timur, deposit terbesar di daerah pacitan dan sekitarnya.

Lempung ini mengandung 85% sampai 95% monmorilonit, pada pengaktifan akan memiliki daya adsorpsi tinggi (Hartono, 1993). Pada pemanasan suhu tinggi dan waktu lama, bentonit mengalami kristalisasi menghasilkan kristal dengan ukuran pori lebih besar (SiddiQui, 1986). Bentuk aktif ini tidak hanya mengadsorpsi molekul pada permukaan saja, tetapi molekul juga masuk didalam ruang antar pori pada bagian dalam struktur bentonit aktif.

Adsorpsi fisik merupakan ikatan yang paling mudah dilakukandibanding ikatan lain dalam metode amobilisasi enzim. Namum molekul bentonit dapat memiliki pori besar bila dikritalisasi, maka memungkinkan enzim fungal  $\alpha$ -amylase, bacterial  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase yang mempunyai berat molekul relatif kecil diadsorpsi dalam pori tersebut.

## 1.2. Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah diuraikan timbul permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah enzim fungal  $\alpha$ -amylase , bacterial  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase yang memiliki berat molekul relatif kecil dapat diamobilisasi menggunakan padatan pendukung bentonit melalui adsorpsi fisik.
2. Bagaimanakah kekuatan bentonit mengadsorpsi fungal  $\alpha$ -amylase, bacterial  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase.

### 1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian bertujuan untuk :

1. Melakukan amobilisasi enzim fungal  $\alpha$ -amylase, bacterial  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase menggunakan padatan pendukung bentonit secara adsorpsi fisik.
2. Mengetahui daya adsorpsi fisik bentonit terhadap enzim fungal  $\alpha$ -amylase, bacterial  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase

### 1.4. Manfaat Penelitian

Memberikan informasi ilmiah tentang bentonit yang mempunyai daya adsorpsi fisik sebagai padatan pendukung untuk amobilisasi enzim dengan berat molekul relatif kecil.

Mengembangkan penggunaan bentonit sebagai materi pendukung pengganti materi pendukung sintetis (resin), untuk amobilisasi enzim industri.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Lempung

Para ahli mineral memberikan definisi lempung sebagai kumpulan partikel-partikel mineral tanah yang diameternya berukuran di bawah 2 mikron dan tercampur dengan partikel-partikel mineral bukan lempung seperti kuarsa, feldspar, kalsit, dolomit dan mineral-mineral batuan lainya serta berbagai oksida dengan bermacam-macam komposisi hidrat dan anhidrat.

Menurut struktur partikelnya, lempung adalah suatu polimer anorganik yang amorf dengan tipe koloidal. terdapat dua jenis lempung yaitu lempung silikat dan lempung hidrat besi. Lempung silikat berbentuk butiran koloid, tiap butir terdiri dari dari berlapis-lapis lempeng atau kepingan tipis. Butir-butir ini sendiri disebut sebagai misel (Jakson dan Klick, 1969)

Ditinjau dari struktur ikatan kimia di dalam partikelnya maka lempung adalah suatu senyawa polimer aluminosilikat. Struktur mineral lempung dibentuk oleh polimerisasi gugus tetrahedral alumino,  $AlO_4^-$  dengan gugus silika  $SiO_4$  (Brindley, 1961)

Berdasarkan sifat halurnya dan jenis mineral yang dikandungnya, maka lempung dibedakan menjadi tiga golongan kaolinit, monmorilonit dan hidrat inika (Brindley, 1961).

### 2.1.1. Golongan Monmorilonit

Struktur monmorilonit sangat longgar sehingga mudah mengembang dan pecah. Sifatnya liat dan mempunyai kohesi (daya ikat) yang tinggi. Pada suhu  $1350^{\circ}\text{C}$  sampai  $1950^{\circ}\text{C}$  dapat digunakan sebagai bahan yang tahan panas. Bila dipanaskan lempung ini akan berwarna coklat susu atau merah lempung dengan kandungan monmorilonit lebih dari 80% disebut sebagai bentonit. Dewasa ini bentonit banyak digunakan dalam industri pengeboran minyak dan gas bumi bentonit mempunyai prospek yang baik untuk industri kertas, industri keramik, tinta perekat, insektisida, obat-batan, pelet makanan ternak, katalis peluntur, penyerap, semen putih, saringan, kosmetik, pensil, pestisida, cat dan diterjen.

### 2.1.2. Golongan Kaolinit

Struktur lempung kaolinit lebih kuat dibandingkan dengan monmorilonit. Akibatnya kaolinit tidak mudah pecah atau mengembang. Sifat kohesi kelihatan dan daya adsorpsinya rendah. Kebanyakan lempung kaolinit tahan panas sampai  $1710^{\circ}\text{C}$  dan berwarna putih bila dibakar. Berdasarkan sifat-sifat yang dimiliki kaolinit maka jenis lempung ini dapat dimanfaatkan antara lain untuk industri kertas, industri keramik, tinta perekat, insektisida,

obat-obatan, pelet makanan ternak, katalis peluntur, penyerap semen putih, saringan, kosmetik, pensil, pestisida, cat dan deterjen.

### 2.1.3. Golongan Hidrat Mika (Illit)

Susunan Hidrat mika mirip dengan Monmorilonit, ukuran partikelnya terletak diantara kaolonit dan monmorilonit. Illit mudah mengalami dispersi dan plastis, tetapi tidak mudah mengembang. Struktur mineral illit lebih kuat dari pada monmorilonit, sehingga molekul air dan kation tidak dapat bergerak bebas, ini menyebabkan kemampuan pertukaran illit menjadi rendah. Jenis lempung ini banyak dimanfaatkan dalam industri barang-barang elektronik, industri cat, industri keramik dan lain-lain.

## 2.2. Bentonit

Bentonit merupakan salah satu mineral hasil pelapukan batuan silikat, memiliki sifat plastis dan kolodial yang tinggi dengan kandungan utama monmorilonit. Di alam bentonit terdapat dalam berbagai jenis tergantung pada lingkungan dan tempat terjadinya, serta ditemukan hampir di setiap negara terutama didaerah volkanik (Grim, 1968). Di Indonesia dapat ditemukan di beberapa daerah terutama disepanjang sirkum mediterania dan atau sirkum pasifik, seperti Sumatra, Jawa dan Nusatenggara. Di Jawa endapan

bentonit dijumpai di beberapa daerah seperti Cirebon, Boyolali, Pacitan, Ponorogo, Tulung Agung dan lain-lain.

Menurut hasil survey Pusat Pengembangan Teknologi Mineral (PPTM) Bandung, pemenuhan konsumsi bentonit di Indonesia terutama merupakan hasil import dari Jepang, Amerika Serikat dan Jerman Barat. Sedangkan kebutuhan bentonit di perkirakan akan terus meningkat sejalan dengan laju perkembangan industri di Indonesia.

Secara komersial dikenal 2 jenis bentonit yaitu bentonit-natrium dan bentonit kalsium. Bentonit-natrium digunakan sebagai lumpur pelumas pengeboran minyak bumi, pencampur dalam industri metalurgi dan lain-lain.

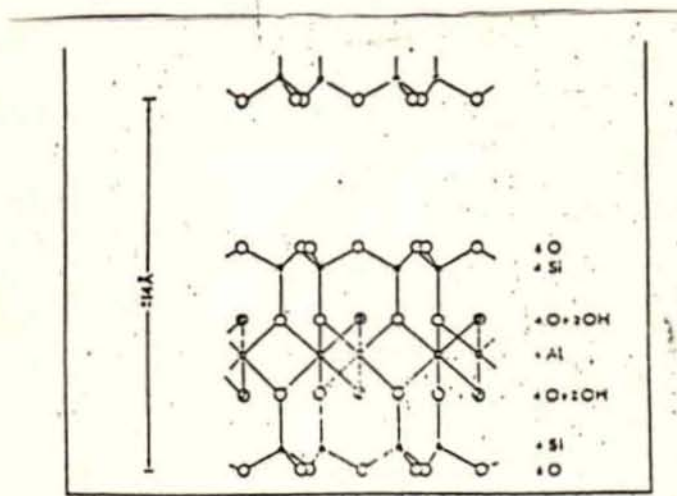
Sedangkan bentonit-kalsium biasanya digunakan sebagai adsorben dalam industri minyak goreng, sebagai dewaxing pengolahan minyak bumi, sebagai stabilisator beberapa jenis antibiotika, sebagai padatan pendukung dalam industri dan lain-lain (Widaryanti, 1992).

Pemakaian bentonit-natrium untuk keperluan industri didasarkan pada sifat plastisitas dan koloidal bentonit, sedangkan pemakaian bentonit-kalsium didasarkan pada sifat adsorpsi molekul yang terjadi dalam ruang intrlamellar bentonit. Di samping itu bentonit dapat berfungsi sebagai penukar ion atau "ionic exchanger", sifat ini dimiliki baik bentonit-natrium maupun bentonit-kalsium. Proses pertukaran ion dalam bentonit terjadi di dalam ruang interlamellar.

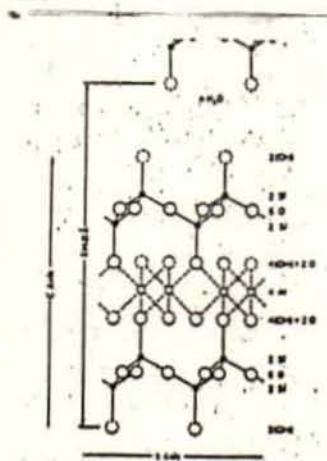


Berbagai penelitian berkaitan dengan struktur mineralogi monmorilonit telah dilakukan, yang secara garis besar dapat dibedakan menjadi 2 model struktur yaitu :

1. Model struktur Hofman, Endell dan Wilm yang diusulkan pada 1933.
2. Model struktur Endelman dan Favejee yang diusulkan pada 1940.



Gambar 2.1. Sketsa diagram struktur monmorilonit menurut Hofman dkk. (1933)



Gambar 2.2. Sketsa diagram struktur monmorilonit menurut Endelman dan Favejee (1940)

### 2.3. Enzim Amylase

Amylase adalah enzim pemecah molekul pati, glikogen dan polisakarida lain dengan cara menghidrolisis ikatan glikosidik  $\alpha - 1,4$  dan/atau ikatan glikosidik  $\alpha - 1,6$ . Dari sudut pandang bioteknologi, amylase dibagi menjadi empat golongan, yaitu  $\alpha$ -amylase  $\beta$ -amylase, glucoamylase, dan enzim pemutus cabang.

$\alpha$ -amylase menghidrolisis ikatan glikosidik  $\alpha - 1,4$  secara acak, yaitu dengan cara menyerang substrat pada bagian dalam molekulnya. Tidak dapat memutus ikatan glikosidik  $\alpha - 1,6$ , tetapi ikatan ini tidak menghalangi kerjanya. Karena bekerja secara acak pada banyak tempat dibagian dalam molekul, maka  $\alpha$ -amylase dapat menurunkan kekentalan terutama substrat secara cepat, sedang produksi gula produksi lambat.

$\beta$ -amylase menghidrolisis ikatan glikosidik  $\alpha - 1,4$  dari ujung-ujung non pereduksi secara berseling, sehingga dihasilkan unit-unit maltosa.  $\beta$ -amylase tidak dapat menghidrolisis dan melewati ikatan glikosidik  $\alpha - 1,6$  karena bekerja hanya dari ujung non-pereduksi maka penurunan kekentalan larutan substrat lambat, namun produksi gula pereduksi cepat.

Glucoamylase, disebut juga amyloglucosidase, menghidrolisis ikatan glikosidik  $\alpha - 1,4$  dari ujung non pereduksi secara berurutan sehingga dibebaskan unit-unit glukosa. Dapat menghidrolisis dan melewati ikatan glikosidik  $\alpha - 1,6$ . Oleh karena itu diperoleh produk akhir

glukosa secara kuantitatif, karena bekerja hanya pada bagian ujung molekul, maka penurunan kekentalan larutan substrat terjadi secara lambat, sedang produk gula pereduksi berlangsung cepat.

Enzim pemutus cabang hanya menghidrolisis ikatan glikosidi+  $\alpha - 1,6$  pada amilopektin dan glikogen. Contoh enzim pemutus cabang adalah pullunase dan isoamilase.

### 2.3.1. Enzim $\alpha - \text{amylase}$

$\alpha$ -amylase dibentuk oleh berbagai bakteri dan fungi. Dapat digolongkan atas dasar pH optimum, kisaran temperatur stabilitas, dan efek liquefying (produk hidrolisnya adalah gula bebas) dan/atau saccharifying (produk hidrolisnya tidak menghasilkan gula bebas). Suatu organisme dapat membentuk beberapa jenis  $\alpha$ -amylase.

Umumnya bakteri menghasilkan  $\alpha$ -amylase yang bersifat liquefying kuat. Bakteri penghasil  $\alpha$ -amylase adalah *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *B. Stearothermophilus* dan *Pseudomonas sacharophila* pH optimum  $\alpha$ -amylase dari bakteri sekitar 5,8 sedangkan suhu optimumnya 75-98.

Fungal  $\alpha$ -amylase umumnya mempunyai spesifitas yang lebih luas dari pada  $\alpha$ -amylase bakteri, sehingga sekaligus dapat melangsungkan kerja sakarifikasi disamping likuifikasi. Fungi yang menghasilkan  $\alpha$ -amylase adalah *Aspergillus oryzae*, juga dari genera-genera *Penecillium*, *Chephalosporium*, *Mucar*, *Caudida*, *Neorospora* dan *Rkizopus*. Produksi  $\alpha$ -amylase pada fungi adalah konstitutif, namun

direpresi oleh regulator. Dari berbagai mikroba tersebut penghasil  $\alpha$ -amylase yang terpenting adalah *B. amyloliquefauens*, *B. lichenifocmis* dan *A. oryzae*. Sedang  $\alpha$ -amylase *Bacillus* digunakan lebih luas dari pada  $\alpha$ -amylase *Aspergillus*.

Berat molekul kebanyakan  $\alpha$ -amylase adalah sekitar 50.000. tetapi enzim dari *B. subtilis* mempunyai berat jauh lebih besar, karena membentuk dimer melalui (Stein dan Fescher, 1960)

### 2.3.2. Glukoamilase (amyloglucosidase)

Glukoamilase jarang sekali ditemukan dalam bakteri. Dihasilkan oleh beberapa genera fungi secara komersial didapat dari *Aspergillus Niger*, *A. Dryzae*, *A. Awamon*, *Rhizopus Niveus*, *R. Delemer*, *R. Formosaenssis*, *R. Jayanicus* serta genera *Endomyces* (Crueqer, 1984, Weisman A., 1949).

Glukoamilase adalah glikoprotein. *A. niger* dan *R. delemer* mengandung 13% karbohidrat. Berat molekul berkisar 60.000- 100.000. Dilaporkan pula bahwa glukoamilase *Rhizapus* dan *Asperqilus* mengandung manosa, glukosa, galaktosa dan asam uronat (Weisman, A., 1985).

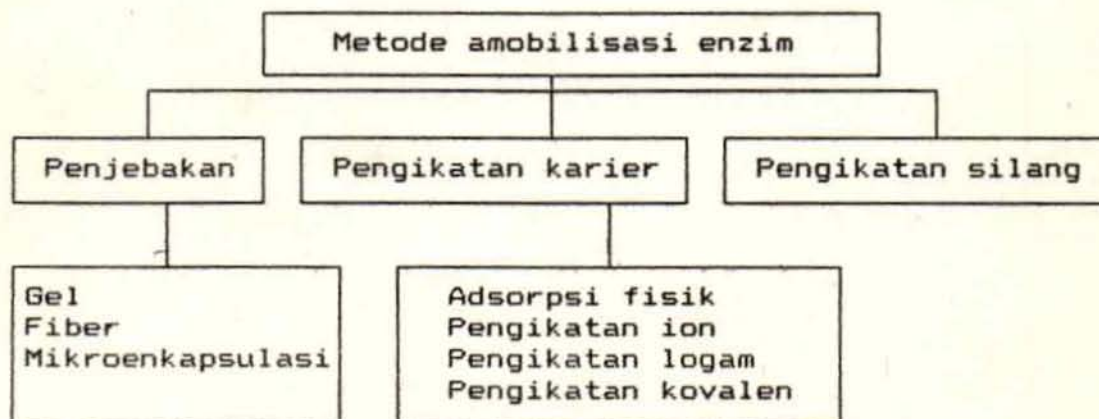
### 2.4. Amobilisasi Enzim

Amobilisasi enzim bertujuan untuk menahan pergerakan enzim secara sempurna, dalam kisi suatu matrik atau membran polimer. Amobilisasi dapat dianggap sebagai

perubahan enzim dari yang larut dalam air (amobil) menjadi keadaan tak bergerak yang tidak larut. Penggunaan enzim dalam campuran suatu reaksi kimia dapat mencegah difusi enzim tersebut. Dengan demikian enzim dapat digunakan secara berulang-ulang (Smith J.E., 1985).

Secara umum ada tiga metode amobilisasi enzim yaitu: metoda penjebakan, pengikatan karier dan pengikatan silang.

1. Metode penjebakan, yaitu penggabungan enzim ke dalam kisi-kisi gel semipermeabel atau penjebakan enzim dalam polimer semipermeabel.
2. Metode pengikatan karier berdasarkan pada pengikatan enzim dengan bahan pendukung yang tidak larut dalam air.
3. Metode pengikatan silang antara molekul enzim dengan pereaksi bergugus fungsi ganda atau bergugus fungsi banyak.



Gambar 2.4 Klasifikasi metode amobilisasi enzim  
(Cruger.W , 1989)

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1. Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.1.1. Sampel Penelitian

Sampel penelitian berupa :

1. Lempung bentonit yang diambil dari kecamatan Punung kabupaten Pacitan berupa padatan berwarna abu-abu.
2. Enzim Fungal  $\alpha$ -amylase pH optimum 5,5 dan suhu optimum 60-65<sup>o</sup>C, Bakterial  $\alpha$ -amylase pH optimum 5,8 dan suhu optimum 75-90<sup>o</sup>C dan amyloglucosidase pH optimum 4,7 dan suhu optimum 63-70<sup>o</sup>C yang diperoleh dari Novo industri berupa larutan kental berwarna coklat.

#### 3.1.2. Bahan Kimia yang digunakan Dalam Penelitian

- |   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. HF p.a                               | 7. KI p.a             |
| 2. AlCl <sub>3</sub>                    | 8. I <sub>2</sub> p.a |
| 3. N <sub>2</sub> (gas)                 | 9. Amilum p.a         |
| 4. Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> p.a | 10. Tirosin p.a       |
| 5. Asam Sitrat p.a                      | 11. Air suling        |
| 6. HCl p.a                              |                       |

#### 3.1.3. Alat Penelitian

- |                               |                            |
|-------------------------------|----------------------------|
| 1. Reaktor aktivitas bentonit | 5. Oven                    |
| 2. Sentrifuga                 | 6. pH meter                |
| 3. Mikropipet                 | 7. Spektrofotometer UV/Vis |
| 4. Neraca analitik            |                            |

### 3.2.1. Pencucian Bentonit

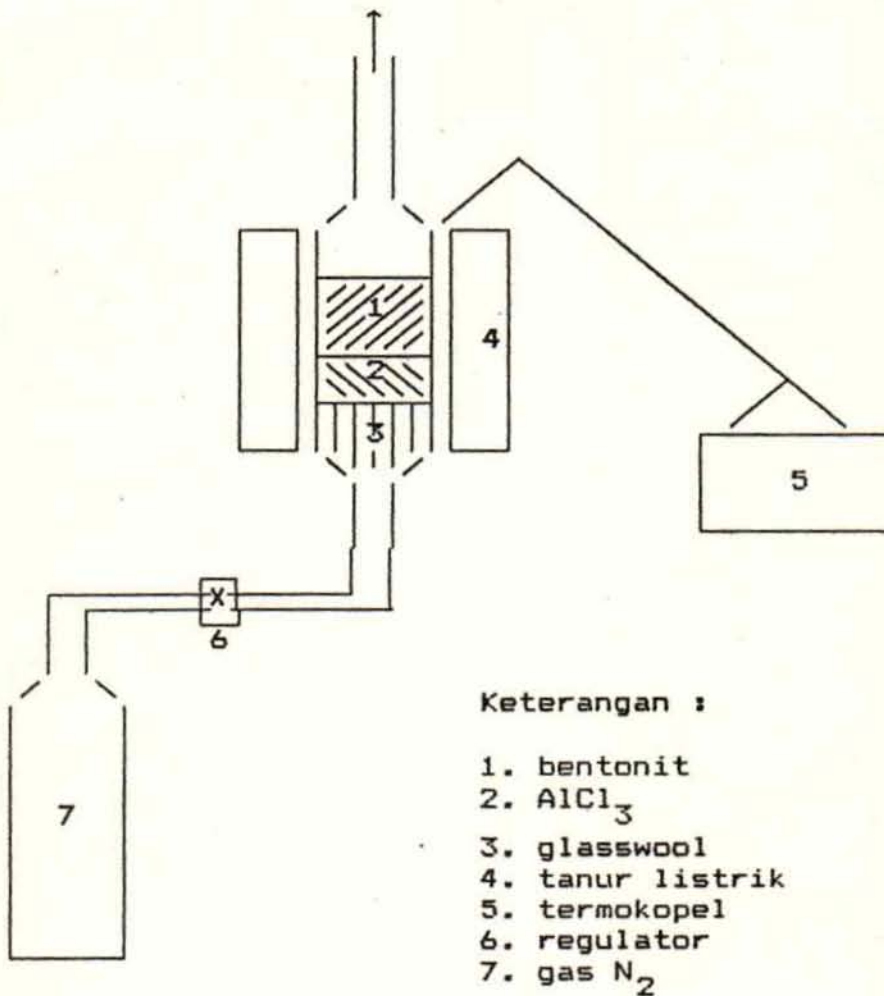
Sampel bentonit yang berupa padatan dicuci dengan air. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu  $130^{\circ}\text{C}$ . Bentonit yang sudah kering dihaluskan dan diayak dengan ukuran 240 mesh.

### 3.2.2. Aktifasi Bentonit

Prosedur aktifasi yang dikembangkan oleh Setiaji (1980), yaitu mengikuti langkah sebagai berikut.

1. Bentonit dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, kemudian ditambah larutan HF 1% sampai semua bentonit terendam di dalam larutan ini dan di biarkan selama 10 menit.
2. Rendaman bentonit dicuci dengan air suling dingin secukupnya untuk menghilangkan sisa HF. Setelah itu air pencuci dibuang, bentonit dipindahkan ke dalam cawan porselin.
3. Bentonit dalam cawan porselin dipanaskan dalam oven pada suhu  $130^{\circ}\text{C}$  selama beberapa jam sampai bentonit menjadi kering, kemudian bentonit dihaluskan dengan ukuran 240 mesh.
4. Sebanyak 100 gr bentonit dimasukkan ke dalam kolom reaktor aktifasi (gambar 3.1) yang pada bagian dasarnya diberi glasswool dan 40 gram  $\text{AlCl}_3$ .
5. Ke dalam reaktor aktifasi dialirkan gas  $\text{N}_2$  kering sambil dipanaskan hingga mencapai suhu  $500^{\circ}\text{C}$  selama 5 jam.

6. Setelah dingin bentonit dikeluarkan dari reaktor dan siap digunakan untuk proses selanjutnya (bentonit aktif).



Gambar 3.1. Reaktor aktifasi bentonit.

### 3.2.3. Pembuatan Kurva Baku Amilum

Sebanyak 5 ml amilum dengan kadar 0 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; dan 0,8 mg/ml masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup. Setiap tabung dipanaskan pada suhu  $70^{\circ}C$  selama 10 menit. Dan dipanaskan lagi pada



suhu  $100^{\circ}\text{C}$ , didinginkan dan disentrifuga selama menit. Kemudian ditambahkan  $0,1$  ml larutan  $\text{I}_2$   $0,01\%$  dalam KI  $-0,1\%$ . Setiap tabung, dikocok dan dilihat serapannya pada panjang gelombang  $615$  nm.

#### 3.2.4. Uji Aktifitas Enzim Bebas

Kedalam 3 buah tabung reaksi bertutup dimasukan  $5$  ml amilum  $1$  mg/ml dalam buffer sitrat pH  $5,5$  (tabung I), pH  $5,8$  (tabung II) dan pH  $4,7$  (tabung III). Tabung I ditambah  $0,1$  ml enzim fungal  $\alpha$ -amylase, Tabung II bacterial  $\alpha$ -amylase dan tabung III amyloglucosidase yang telah diencerkan  $500$  kali. Setiap tabung diinkubasi pada suhu optimum masing-masing. Kemudian pemanasan dilanjutkan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$ . Setelah dingin disentrifuge selama  $4$  menit dan ditambahkan  $0,1$  ml larutan  $\text{I}_2$   $0,01\%$  dalam KI  $-0,1\%$  pada tiap tabung. Setelah dikocok setiap tabung dilihat serapannya pada panjang gelombang  $615$  nm.

#### 3.2.5. Pembuatan Kurva Baku Tirosin

Dibuat larutan tirosin standar dalam HCl  $0,2$  N dengan konsentrasi  $10$ ,  $20$ ,  $40$ ,  $60$ ,  $80$  dan  $100$  Mg/ml. Masing-masing larutan ditentukan serapannya pada panjang gelombang  $280$  nm dengan spektrofotometer. Dibuat kurva kalibrasi serapan pada  $\lambda$   $280$  nm terhadap konsentrasi larutan tirosin.

### 3.2.6. Penentuan suhu dan Waktu Kontak Optimum pada Prosedur Amobilisasi

#### 1. Variasi suhu

Sebanyak 0,1 gram bentonit aktif dikontakkan dengan 0,1 ml enzim funggal  $\alpha$ -amylase pada suhu 25°C, 35°C, 45°C, dan 55°C selama 15 menit. Kemudian enzim bentonit (E-B) dibilas dengan 7,5 ml air, diaduk dan dikocok sampai homogen selama satu menit. Campuran disentrifuge selama 4 menit dan filtratnya diencerkan 10 kali kemudian dilihat serapannya pada panjang gelombang 280 nm untuk mengetahui jumlah enzim yang lolos.

#### 2. Variasi Waktu

Dengan menggunakan data suhu optimum diatas dilakukan prosedur yang sama untuk waktu kontak 10', 20', 30', 40', dan 50 menit.

### 3.2.7. Amobilisasi Enzim dengan Bentonit Aktif pada Suhu dan Waktu Optimum

Ke dalam tabung reaksi dimasukkan sebanyak 1 gram bentonit aktif dan dikontakkan dengan 1 ml enzim yang telah diencerkan 10 kali pada suhu dan waktu kontak optimum hingga diperoleh enzim amobil (E-B). Prosedur ini dilakukan untuk setiap enzim.

### 3.2.8. Uji Daya Ikat Bentonit Terhadap Enzim

Enzim bentonit yang diperoleh pada 3.2.7 dibilas dengan 7,5 ml amilum 1 mg/ml kemudian dikocok sampai homogen selama 1 menit dan disentrifuge selama 4 menit. Filtrat yang diperoleh dilihat serapannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm. Residunya dibilas lagi dengan 7,5 ml amilum 1 mg/ml sebanyak 4 kali dan masing-masing dilihat serapannya pada panjang gelombang 280 nm.

### 3.2.9. Uji Aktifitas Enzim Amobil

Enzim amobil yang telah dibilas 5 kali di uji aktifitasnya dengan prosedur sebagai berikut:

Sebanyak 0,1 gram E-B dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup. Ditambahkan 5 ml amilum 1 mg/ml dalam buffer sitrat pH optimum dan diinkubasi pada suhu optimum selama 10 menit. Selanjutnya dipanaskan pada suhu 100°C. Setelah dingin campuran disentrifuge selama 4 menit, filtratnya ditambah dengan 0,1 ml larutan I<sub>2</sub> 0,01% dalam KI 0,1% dan dilihat serapannya pada panjang gelombang 615nm

## BAB IV

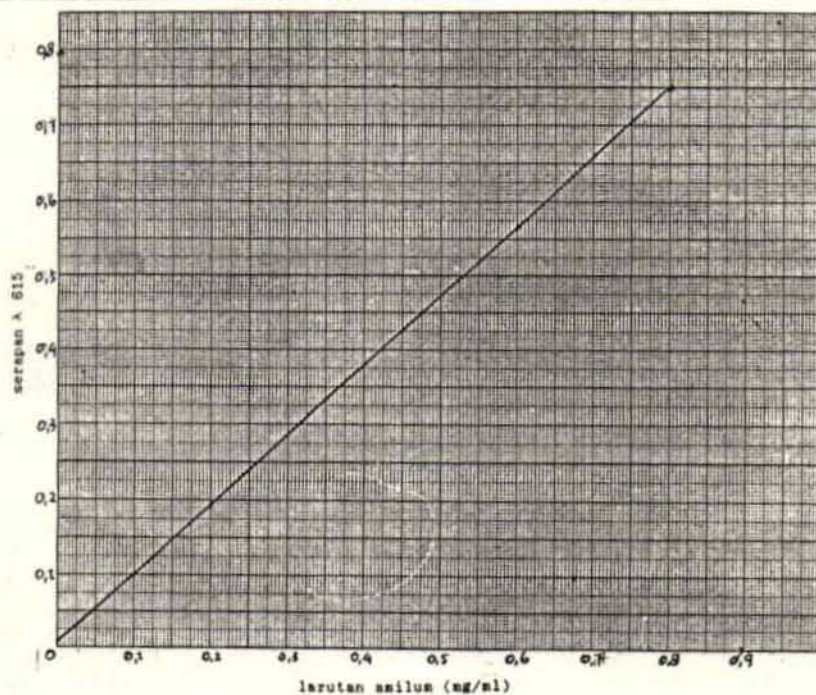
### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Pembuatan Kurva Baku Amilum

Kurva baku amilum dibuat untuk standart penentuan kadar amilum sisa pada uji aktifitas enzim bebas dan amobil.

Tabel 4.1. Data kurva baku amilum

Larutan amilum (mg/ml)	Serapan pada $\lambda$ 615 nm
0	0,007
0,05	0,055
0,1	0,100
0,2	0,192
0,4	0,380
0,6	0,564
0,8	0,750



Gambar 4.1. Kurva baku amilum

#### 4.2. Aktivitas Enzim Bebas

Enzim bebas Fungal  $\alpha$ -amylase, bacterial  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase ditentukan aktifitasnya menggunakan substrat larutan amilum 1 mg/ml. Amilum sisa dari reaksi enzimatis ditentukan serapannya pada  $\lambda$  615 dengan spektrofotometer, hasilnya tertera pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Aktivitas enzim bebas

No	Enzim	aktivitas U/ml
1.	Fungal $\alpha$ -amylase	425,0
2.	bacterial $\alpha$ -amylase	457,5
3.	Amylogglukosidase	222,5

Keterangan : Data serapan pada panjang gelombang 615 sehingga diperoleh aktifitas enzim terdapat pada lampiran 1.

Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghidrolisis 1 mg amilum per 10 menit pada kondisi percobaan.

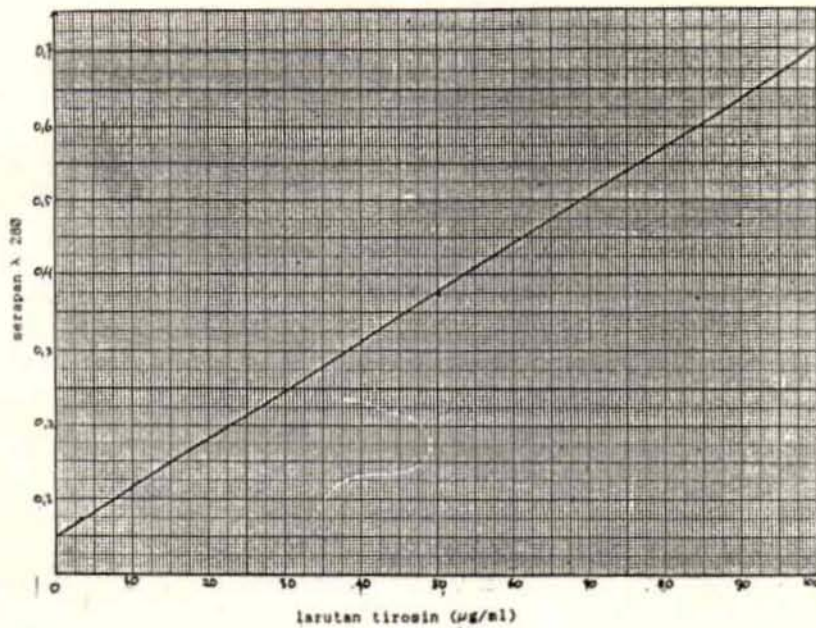
Kadar amilum yang dihidrolisis ditentukan dengan mengurangi kadar amilum mula-mula yang digunakan dalam uji aktifitas (1 mg/ml) dengan sisa amilum. Sedangkan kadar sisa amilum ditentukan dengan mengkonversikan data serapan masing-masing aktivitas enzim pada kurva baku amilum.

#### 4.3. Pembuatan Kurva Baku Tirosin

Kurva baku tirosin dibuat untuk standar penentuan kadar tirosin penyusunan protein enzim yang lolos dalam larutan pembilas pada uji daya ikat bentonit terhadap enzim. Kadar enzim yang lolos dalam larutan pembilas tidak dapat ditentukan secara langsung, tetapi melalui penentuan kadar tirosin penyusun protein enzim, karena kadar tirosin proposional dengan kadar protein enzim.

Tabel 4.3 Kurva baku tirosin

No	Larutan tirosin ( $\mu\text{g/ml}$ )	Serapan pada $\lambda$ 280 nm
1.	10	0,116
2.	20	0,182
3.	30	0,250
4.	40	0,315
5.	50	0,375
6.	60	0,442
7.	70	0,502
8.	80	0,572
9.	90	0,635
10.	100	0,703



Gambar 4.2. Kurva baku tirosin

#### 4.4. Penentuan Suhu dan Waktu Kontak Optimum Amobilisasi

Untuk penentuan suhu dan waktu kontak amobilisasi enzim ini dilakukan pada satu enzim saja dan data yang diperoleh dapat digunakan untuk amobilisasi ketiga enzim.

Tabel 4.4. Kadar tirosin pada penentuan suhu optimum

No	Suhu (°C)	Kadar tirosin yg lolos (mg/ml)
1	25	0,490
2	35	0,495
3	45	0,502
4	55	0,505

Tabel 4.5. Kadar tirosin pada penentuan waktu kontak optimum

No	Waktu	Kadar tirosin yg lolos (mg/ml)
1	10	0,500
2	20	0,490
3	30	0,475
4	40	0,499

Keterangan : data serapan pada panjang gelombang 280 nm sehingga didapat kadar tirosin terdapat pada lampiran 2.

Dari data yang diperoleh, diketahui amobilisasi enzim pada suhu 25°C dan waktu kontak 30 menit menunjukkan jumlah tirosin yang lolos paling kecil. Hal ini berarti enzim yang lolos pada suhu 15°C dan waktu kontak 30 menit dalam larutan pembilas lebih kecil jumlahnya dibanding pada suhu dan waktu kontak yang lain. Maka suhu 25°C dan waktu kontak 30 menit adalah kondisi optimum untuk amobilisasi enzim .

#### 4.5. Daya Ikat Bentonit Terhadap Enzim

Daya ikat bentonit setelah mengadsorpsi enzim ditentukan dengan cara pembilasan bentonit-enzim menggunakan cairan pembilas 7,5 ml larutan amilum 1 mg/ml



sebanyak lima kali. Setiap filtrat hasil bilasan dilihat serapannya pada panjang gelombang 280 nm untuk menentukan kadar tirosinnya.

Tabel 4.6. Kadar tirosin yang lolos pada uji daya ikat bentonit-enzim

No	Enzim-Bentonit (amobil)	bilasan ke	Kadar tirosin yg lolos (mg/ml)
1	E <sub>1</sub> -B	I	0,375
2		II	0,150
3		III	0,011
4		IV	0,003
5		V	0,001
1	E <sub>2</sub> -B	I	0,130
2		II	0,053
3		III	0,046
4		IV	0,043
5		V	0,025
1	E <sub>3</sub> -B	I	0,750
2		II	0,075
3		III	0,056
4		IV	0,005
5		V	0,003

Keterangan : E1-B = Fungal  $\alpha$ -amylase-bentonit (amobil)  
 E2-B = Bacterial  $\alpha$ -amylase-bentonit (amobil)  
 E3-B = amyloglucosidase-bentonit (amobil)

Data serapan pada panjang gelombang 280 nm sehingga didapat kadar tirosin terdapat pada lampiran 3.

Dari data di atas menunjukkan bahwa setelah lima kali pembilasan, enzim tetap lolos dalam larutan pembilas. Hal ini berarti enzim terikat lemah oleh bentonit, tetapi tidak semua enzim lolos pada pembilasan.

Apabila kadar tirosin pada setiap bilasan untuk setiap enzim amobil dijumlahkan diperoleh angka 0,540 mg/ml untuk enzim fungal  $\alpha$ -amylase, 0,297 mg/ml untuk bacterial  $\alpha$ -amylase dan 0,889 mg/ml untuk amyloglucosidase. Maka dapat disimpulkan bahwa enzim bacterial  $\alpha$ -amylase yang lebih banyak teradsorpsi pada bentonit dibanding fungal  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase.

#### 4.6. Aktifitas Enzim Amobil

Untuk membuktikan tidak semua enzim lolos pada pembilasan maka dilakukan uji aktifitas enzim bentonit setelah dibilas dengan larutan amilum 1 mg/ml. Sisa amilum setelah dihidrolisis dilihat serapannya pada panjang gelombang 615 nm.

Tabel 4.7. Aktifitas enzim amobil

No	Enzim amobil	aktivitas U/ml
1.	Fungal $\alpha$ -amylase-bentonit	5,450
2.	Bacterial $\alpha$ -amylase-bentonit	9,550
3.	Amyloglucosidase-bentonit	5,250

Keterangan : Data serapan pada panjang gelombang 615 nm sehingga didapat aktifitas enzim terdapat pada lampiran 4.

Dari data di atas enzim amobil yang telah dibilas lima kali masih menunjukkan aktifitasnya. Sedangkan aktifitas terbesar dari ketiga enzim amobil tersebut adalah bacterial  $\alpha$ -amylase. Hal ini sesuai dengan data tabel 4.6 yang menunjukkan bahwa enzim bacterial  $\alpha$ -amylase lebih banyak teradsorpsi pada bentonit dibanding fungal  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase. Hal lain yang menunjang adalah berat molekul enzim  $\alpha$ -amylase lebih kecil dibanding amyloglucosidase.

Dibanding enzim bebas, aktifitas enzim amobil sangat kecil. Hal ini mungkin disebabkan enzim yang telah diadsorpsi bentonit ikatannya lemah, sehingga ketika dilakukan pembilasan dan pengadukan enzim mudah lepas. Meskipun demikian dari lima kali pembilasan dan pengadukan ternyata enzim masih menunjukkan aktifitasnya. Berarti masih ada enzim amobil yang terikat pada bentonit.

Karena dengan cara adsorpsi fisik ini amobilisasi enzim dengan fasa pendukung bentonit kurang optimal hasilnya, maka perlu diupayakan cara lain untuk amobilisasi enzim supaya diperoleh bentuk enzim amobil yang lebih stabil. Masih banyak cara yang dapat dilakukan untuk amobilisasi enzim yaitu : dengan cara pengikatan ion, pengikatan logam, pengikatan kovalen atau dengan cara yang lain.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan disimpulkan :

Enzim Fungal  $\alpha$ -amylase, Bacterial  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase dapat diamobilisasi menggunakan padatan pendukung bentonit secara adsorpsi fisik.

Enzim Fungal  $\alpha$ -amilase, Bacterial  $\alpha$ -amylase dan amyloglucosidase terikat lemah pada bentonit secara adsorpsi fisik. Enzim Bacterial  $\alpha$ -amylase lebih banyak teradsorpsi pada bentonit sebagai enzim amobil dan mempunyai aktifitas yang lebih besar dibanding fungal  $\alpha$ -amylase dan amylogluco- sidase.

#### 5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian maka disarankan untuk melakukan penelitian penggunaan bentonit sebagai padatan pendukung proses amobilisasi enzim dengan metode yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

Burhanudin., 1986, *Status Pengembangan Tanah Lempung BPPT*, 1 - 13.

Briendley .,1961, *The X-ray Identification and Cristal Structure Clay Minerals*, Mineralogy Siciety London.

Cibata, I., 1978, *Immobilized Enzym*, Kodhansha ltd, Tokyo p.9 - 11, 50 - 54.

Crueger, W., dan Crueger, A. 1984, *Biotechnology* , 2<sup>nd</sup> Ed, Ellis Horwdbook Limited, England, p. 145 - 201.

Endelman, c.h., and Favajee, J.C.L., 1940, *On The Cristal Structure of Monmorillonit and Halloysite*, 2 krist., Marshal, Ce, 102, 417-431.

Grim, RE., 1968, *Clay Mineralogy*, 2<sup>nd</sup> Ed., Mc. Graw Hill Book Company, New York.

Hartanto, D., 1993, *Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Organokobalt (II) Pada Permukaan Intercamelar Bentonit*, Tesis S2 Universitas Gajah Mada.

Hofman dkk, U.A., Weis, G.G. Koch, A., and Scholz, 1956, *Intercrystalline Swelling, Cation Exchange and anion exchange of Mineral of the Monmorillonit Group and Kaolonit*, Nat I, acad, Sci. Pub., 465. 273-287.

Jackson dkk., 1969. *Monmorillonit*, University of Wisconsin Press. Wisconsin USA.

Kasmadi, Alim,. Wahid dan Setiaji, 1989, *Tanah Lempung Aktif Sebagai Renin Penukar Ion*, Berkala Penelitian Pasca Sarjana UGM Yogyakarta.

Knight, W.C., 1898, *Bentonit*, Eng. Ming, 66, 491-493.

Siddiqui, M.K.H, 1968, *Bleaching Earth*, 1<sup>rd</sup>. A. Wheaton and Co. Great Britain.

Setiaji, A.H.B. 1986, *Tanah Pemucat Aktif Sebagai Penganti Zeolit untuk Katalis pada Kilang Minyak*, Laporan Penelitian, FMIPA UGM, 11, 12, 36, 37.

Smith, J.E., 1985, *Prinsip Bioteknologi*, Terjemahan Sumo, U.F. dkk. Gramedia, Jakarta, 193-153.

Weisman, A, 1979, *Topics in Enzyme and Fermentation*

*Biotechnology*, Volume 3, Ellis Horwood Limited,  
Englan.p 47-55.

Weisman, A, 1985, *Handbook of Enzyme Biotechnology*,  
Edisi II, Ellis Horwood Limited, England, p 145-201.

Wirdayanti B., 1992, *Penentuan Derajat Keasaman pada  
Permukaan Bentonit Dengan Pertukaran Asam Asetat  
Glaksia*, Kapita Selekta, Jurusan Kimia, FMIPA-ITS.



## Lampiran I

## Data uji aktivitas enzim bebas

No	Enzim	Serapan pada $\lambda$ 615 nm	amilum sisa (mg/ml)	amilum yang dihidrolisis (mg/ml)	aktivitas U/ml
1.	E 1	0,146 (500p)	0,150	0,850	425,0
2.	E 2	0,086 (500p)	0,085	0,915	457,5
3.	E 3	0,086 (500p)	0,555	0,445	222,5

Keterangan 500p merupakan faktor pengenceran 500 kali

## Lampiran II

Data serapan penentuan suhu dan waktu kontak optimum

No	Kondisi yang divariasasi	Serapan pada $\lambda_n$ 280	Kadar tirosin yg lolos (mg/ml)
	Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )		
1	25	0,370 (10 p)	0,490
2	35	0,375 (10 p)	0,495
3	45	0,379 (10 p)	0,502
4	55	0,380 (10 p)	0,505
	waktu (menit)		
1	10	0,378 (10 p)	0,500
2	20	0,372 (10 p)	0,490
3	30	0,365 (10 p)	0,475
4	40	0,377 (10 p)	0,499

Keterangan : 10 p merupakan faktor pengeceran 10 kali.

## Lampiran III

Data serapan dan kadar tirosin enzim

No	Enzim-Bentonit (amobil)	bilasan ke	Serapan pada $\lambda$ 280 nm	Kadar tirosin yg lolos (mg/ml)
1	E <sub>1</sub> -B	I	0,294 (10 p)	0,375
2		II	0,152 (10 p)	0,150
3		III	0,127	0,011
4		IV	0,071	0,003
5		V	0,064	0,001
1	E <sub>2</sub> -B	I	0,142 (10 p)	0,130
2		II	0,407	0,053
3		III	0,356	0,046
4		IV	0,331	0,043
5		V	0,216	0,025
1	E <sub>3</sub> -B	I	0,540 (10 p)	0,750
2		II	0,104 (10 p)	0,075
3		III	0,422	0,056
4		IV	0,083	0,005
5		V	0,074	0,003

Keterangan : 10 p merupakan faktor pengenceran 10 kali

## Lampiran IV

## Data uji aktifitas enzim amobil

No	Enzim amobil	Serapan pada $\lambda$ 615 nm	amilum sisa (mg/ml)	amilum yang dihidrolisis (mg/ml)	aktivitas U/ml
1.	E1-B	0,433 (10p)	0,455	0,545	5,450
2.	E2-B	0,050 (10p)	0,045	0,955	9,550
3.	E3-B	0,450 (10p)	0,475	0,525	5,250

Keterangan : 10 p merupakan faktor pengenceran 10 kali