

547.758
Sus
→ 9



LAPORAN KEGIATAN

JUDUL KEGIATAN

Amobilisasi Enzim dengan Menggunakan Membran Mikrofiltrasi

Oleh :

Heru Susanto,ST,MT

Ir. Budiyo, M.Si

Ir. Indro Sumantri, MEng

Nita Aryanti, ST, MT

Dibiayai oleh Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional,
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Dasar
Nomor :16/P2IPT/DPPM/PID/III/2003 tanggal 27 (Dua puluh tujuh) bulan Maret tahun 2003

FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS DIPONEGORO
NOVEMBER, TAHUN 2003

UPT-PUSTAK-UNDIP

No. Daft: 582/KI/ET/01.....

Tgl: 11 Maret 2004

**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR
HASIL PENELITIAN DASAR**

1. Judul Penelitian :
Amobilisasi Enzim dengan Menggunakan Membran Mikrofiltrasi
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap dan Gelar : Heru Susanto, ST, MT
 - b. Jenis Kelamin : L / P
 - c. Pangkat/Golongan/NIP : Penata Muda /III a /132 205 675
 - d. Jabatan Fungsional : Asisten ahli
 - e. Jurusan/Fakultas : Teknik Kimia/Teknik
 - f. Perguruan Tinggi : Universitas Diponegoro
 - g. Pusat Penelitian : Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro
3. Jumlah Tim Peneliti : 4 Orang
4. Lokasi Penelitian : Laboratorium Penelitian Teknik Kimia Undip
5. Kerjasama dengan institusi lain : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 8 bulan
6. Biaya yang diperlukan : Rp 15.000.000,00
(Lima belas juta rupiah)

Semarang, 7 November 2003

Ketua Peneliti



Dekan Fakultas Teknik UNDIP

K. H. Sri Eko Wahyuni, MS
NIP. 130 898 929

Heru Susanto, ST, MT
NIP. 132 205 675



Menyetujui
Ketua Lembaga Penelitian

Prof. Dr. Ir. H. Riwanto, Sp. Bd.
NIP. 130 529 454

RINGKASAN

AMOBILISASI ENZIM DENGAN MENGGUNAKAN MEMBRAN MIKROFILTRASI

Heru Susanto, Budiyo, Indro Sumantri dan Nita Aryanti

Tahun penulisan laporan: 2003, Jumlah halaman laporan penelitian:35

Reaksi enzimatik dengan enzim teramobilisasi telah terbukti sebagai teknik yang efisien dalam beberapa aplikasi industri. Sampai saat ini banyak metode amobilisasi yang telah dikembangkan. Namun demikian, teknik konvensional mempunyai kendala yang sangat mengganggu, yaitu tidak dapat mereduksi efek inhibisi. Teknik amobilisasi secara fisik menggunakan media berpori menawarkan beberapa keuntungan dibandingkan dengan teknik amobilisasi konvensional seperti aktivitas enzim tetap tinggi (tidak terjadi konformasi enzim, media dapat diregenerasi, dan sesuai untuk kasus yang melibatkan substrat dan produk dengan berat molekul yang hampir sama. Penyisihan satu atau lebih jenis produk inhibitor secara sinambung merupakan keunggulan menarik lain dari teknik ini. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk : mempelajari mekanisme penjerapan enzim pada media mikroporous dan mempelajari pengaruh berbagai parameter operasi terhadap perolehan amobilisasi (%) dan densitas amobilisasi (unit aktivitas enzim per satuan volume media).

Tahapan penelitian yang telah dilaksanakan meliputi karakterisasi enzim, karakterisasi membran, studi stabilitas membran, desain modul dan amobilisasi enzim. Karakterisasi enzim dilakukan untuk mengetahui berat molekul dan aktivitas enzim. Sedangkan karakterisasi membran yang diuji adalah ukuran pori dan struktur pori. Penentuan ukuran pori dilakukan dengan Metode Bubble Point, sedangkan struktur pori diketahui menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM). Dalam penelitian ini digunakan enzim pemecah pati (α -amilase dan β -amilase) dan membran Polietersulfon (PES). Hasil karakterisasi membran menunjukkan bahwa PES memiliki ukuran pori 0,2 μm dan struktur pori reverse asymmetric sehingga sesuai dengan spesifikasi yang diharapkan sebagai membran mikrofiltrasi dengan permeabilitas awal membran sebesar 46,88 L/m², jam. Desain modul membran telah dilakukan dengan spesifikasi: diameter fiber 1,7 mm; panjang efektif 20 cm; jumlah fiber setiap modul 4 buah; dan luas membran 42 cm².

Mekanisme penjerapan enzim dengan membandingkan permeabilitas air murni sebelum dan setelah penjerapan enzim menunjukkan bahwa penurunan fluks setelah penjerapan berkisar 78-80 % dari fluks awal. Sedangkan mekanisme penjerapan enzim dengan pengontakan larutan enzim ke permukaan membran menunjukkan bahwa adsorpsi amilase pada permukaan membran terhadap penurunan kinerja membran sekitar 8-9 %. Pengaruh tekanan terhadap amobilisasi enzim dilakukan pada tekanan 0,4; 0,8; dan 1,2 kg/cm². Hasil penelitian menunjukkan bahwa penurunan fluks pada menit-menit awal

semakin tajam dengan meningkatnya TMP, semakin tinggi TMP kemungkinan terjadinya konsolidasi protein semakin besar. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap beban penjebaran / perolehan amobilisasi dan aktivitas dilakukan dengan cara memvariasikan konsentrasi enzim. Hasil penelitian menunjukkan bahwa prosentase perolehan amobilisasi maksimum dicapai pada konsentrasi enzim 1300 UA/L sebesar 85%.

SUMMARY

IMMOBILIZATION OF ENZYME BY MICROFILTRATION MEMBRANE

Heru Susanto, Budiyono, Indro Sumantri dan Nita Aryanti

Year of report writing: 2003, Number of pages: 35

Enzymatic reaction using immobilized enzyme has been proven as an efficient technique for several industrial application. Many conventional immobilize methods have been developed. However, these conventional methods have significance disadvantage i.e. inhibition effect could not be reduced. Physical immobilize technique using porous media has more advantages than conventional immobilize method such as high enzyme activity (no enzyme conformation), regenerated media, and suitable for product and substrate with equal molecular weight. Moreover, the continuous removal of one or more inhibitor products immediately is another attractive feature of this technique. The objectives of the research are to study enzyme entrapment mechanism in micro porous media and to study the effect of operation parameters on immobilize product (%) and immobilize density (unit of enzyme activity per media volume).

In order to obtain the objective, the research were divided into enzyme characterization, membrane characterization, study of membrane stability, module design and enzyme immobilize. Enzyme characterization was conducted to determine enzyme molecular weight and enzyme activity. On the other hand, the outcomes of membrane characterization are pore diameter and pore structure. The determination of pore diameter was carried out using Bubble Point Method, while pore structure was determined by Scanning Electron Microscopy. In this research, α -amylase, β -amylase and hollow fiber Polietersulfone microfiltration membrane have been used. The membrane characterization result shows that PES has pore diameter of $0,2\mu\text{m}$ with reverse asymmetric pore structure while membrane permeability is $46,88 \text{ L/m}^2\text{hr}$. This membrane characterization is suitable for microfiltration specification. Membrane module design was conducted with specification of fiber diameter, effective fiber length, number of fiber, and membrane area are 1.7 mm, 20 cm, 4, and 42, respectively.

Enzyme entrapment mechanism by comparing pure water permeability before and after entrapment indicates the flux decline of 70-80%. In addition, enzyme entrapment mechanism by contacting enzyme solution to membrane surface results

on membrane performance decrease of 8-9 % due to amylase absorption. The effects of pressure on enzyme immobilize were carried out at pressure of 0.4, 0.8, and 1.2 kg/cm². The flux in the first few minutes were found to decrease sharply with increasing TMP because higher TMP, higher protein consolidation. The impacts of enzyme concentration on entrapment loading/ immobilized result and activity were conducted by varying enzyme concentration. The experimental outcome shows that the immobilize result is 85%, achieved at enzyme concentration of 1300 UA/L.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas terselesaikannya penulisan laporan penelitian ini. Penelitian ini berjudul "**Amobilisasi Enzim dengan Menggunakan Membran Mikrofiltrasi**". Secara umum penelitian ini bertujuan mempelajari mekanisme penjerapan enzim pada media mikroporous dan pengaruh berbagai parameter operasi terhadap perolehan amobilisasi.

Ucapan terimakasih disampaikan pada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional yang telah membiaya penelitian ini dan semua pihak yang membantu pelaksanaan penelitian ini.

Kritik dan saran untuk perbaikan laporan ini sangat diharapkan. Akhir kata semoga penelitian ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Peneliti

DAFTAR ISI

	hal.
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY	iii
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR/ILUSTRASI	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	8
IV. METODE PENELITIAN	9
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	20
DAFTAR PUSTAKA	21
LAMPIRAN	22

DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel 4.1. Parameter yang diukur, cara, dan instrumen pengumpul data	11
Tabel 4.2. Jadwal Kegiatan	11

DAFTAR GAMBAR/ILUSTRASI

	hal.
Gambar 2.1 . Adsorpsi enzim (E) terikat pada carrier	5
Gambar 2.2. Amobilisasi enzim (E) berdasarkan ikatan ion	5
Gambar 2.3. Amobilisasi enzim (E) berdasarkan ikatan kovalen	6
Gambar 2.4. Amobilisasi enzim : (a) cross linking (b) co-cross linking	6
Gambar 2.5. Amobilisasi enzim pada matriks polimer	7
Gambar 2.6. Amobilisasi enzim pada media porous	7
Gambar 4.1. Diagram Skematik Percobaan	11
Gambar 5.1. Struktur membran PES dengan menggunakan SEM	12
Gambar 5.2. Pengaluran fluks terhadap tekanan pada air murni	13
Gambar 5.3. Hasil rancangan modul hollow fiber	14
Gambar 5.4. Rangkaian alat percobaan yang telah dibuat	15
Gambar 5.5. Perbandingan fluks air (SP:sebelum penjebakan, SA=sesudah penjebakan, SC=setelah pencucian)	16
Gambar 5.6. Perbandingan fluks air (SP:sebelum penjebakan, S-ad=sesudah adsorpsi)	16
Gambar 5.7. Pengaruh tekanan terhadap fluks	17
Gambar 5.8. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap beban penjebakan	18
Gambar 5.9. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas enzim	18

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Karakterisasi Enzim	hal. 22
Lampiran 2. Dokumentasi Rangkaian Alat Percobaan	23
Lampiran 3. Biodata Peneliti	24

BAB I. PENDAHULUAN

Kemajuan yang telah dicapai dalam bidang bioteknologi telah membuka harapan baru untuk menggantikan proses-proses konvensional atau menggantikan proses-proses baru. Sampai saat ini lebih dari 1500 jenis enzim telah teridentifikasi. Ketersediaan enzim yang hampir murni memungkinkan untuk melakukan reaksi yang spesifik dan selektif pada kondisi reaksi (pH, tekanan, dan temperatur) tidak ekstrim. Oleh karena itu penggunaan enzim sebagai biokatalis memberikan keuntungan [1] : (i) tidak terbentuk produk samping, (ii) konsumsi energi lebih rendah, (iii) keselamatan kerja lebih terjamin, (iv) pencegahan pencemaran dan (v) memungkinkan daur ulang material. Namun, penggunaan enzim secara tradisional dalam reaktor curah atau yang sejenis sangat terbatas karena biaya pemurnian enzim tinggi, produktivitas reaktor rendah serta pengambilan kembali enzim sangat mahal dan rumit.

Reaksi enzimatik dengan enzim teramobilisasi telah terbukti sebagai teknik yang efisien dalam beberapa aplikasi industri. Suatu biokatalis dapat dikatakan teramobilisasi jika mobilitasnya dibatasi dengan perlakuan fisik atau kimia. Beberapa keuntungan yang dapat diperoleh dengan menggunakan enzim teramobilisasi antara lain : pemulihan (*recovery*) enzim, pemisahan produk, peningkatan stabilitas enzim dan penurunan biaya operasi [2-3]. Banyak metode amobilisasi yang sudah dikembangkan seperti *crosslinking*, pengikatan pada *carrier* (adsorpsi fisik, ikatan ion, ikatan kovalen), dan penjebakan secara fisik (*matrix entrapment*, *membrane enclosure*). Masing-masing teknik tersebut mempunyai keunggulan dan kelemahan [2-3]. Secara umum, teknik-teknik tersebut hanya memudahkan pemisahan enzim, tetapi tidak dapat mereduksi efek inhibisi.

Kriteria esensial untuk mendefinisikan bahwa sistem dikatakan teramobilisasi adalah intervensi manusia harus terlibat. Untuk mendapatkan teknik amobilisasi yang tepat, perlu diperhatikan jenis enzimnya dan parameter-parameter lain yang menentukan efisiensi proses secara keseluruhan. Sistem dengan biokatalis teramobilisasi dapat mengurangi jumlah enzim yang terbawa bersama produk, akan tetapi memiliki aktivitas enzim dan laju reaksi lebih rendah daripada sistem dengan enzim terlarut (*mobile*) [4]. Oleh karena itu, biokatalis teramobilisasi akan selalu bersaing dengan biokatalis terlarut sehingga perlu dipertimbangkan secara seksama dalam memilih metode yang lebih menguntungkan. Berdasarkan hal di atas, sarana dan teknik amobilisasi memegang peranan yang sangat penting dalam sistem reaksi enzimatik. Untuk mengurangi inhibisi, Suga dkk. [5] mengkombinasikan reaktor enzim teramobilisasi dan sistem elektrodialisis.

Teknik amobilisasi secara fisik pada media berpori menawarkan beberapa keuntungan dibandingkan dengan dengan teknik amobilisasi konvensional seperti aktivitas

enzim tetap tinggi (tidak terjadi konformasi enzim), media dapat diregenerasi, dan sesuai untuk kasus yang melibatkan substrat dan produk dengan berat molekul yang hampir sama [6]. Penyisihan satu atau lebih jenis produk inhibitor secara sinambung merupakan keunggulan menarik lain dari teknik ini. Oleh karena itu pengetahuan yang bersifat fundamental dan komprehensif tentang teknik amobilisasi enzim dengan menggunakan media berpori (membran mikrofiltrasi) sangat diperlukan.

Karakteristik substrat juga menentukan dalam memutuskan apakah biokatalis teramobilisasi atau terlarut yang sebaiknya digunakan. Biokatalis teramobilisasi dengan metode pengikatan pada *carrier* efektif hanya jika substrat berupa larutan jernih dan memiliki berat molekul rendah. Kekeakuan menyebabkan pemisahan biokatalis dan partikel substrat menjadi sangat kompleks sehingga molekul substrat seperti ini akan lebih mudah dikonversi dengan biokatalis terlarut. Untuk kasus yang demikian, ada kemungkinan konversi dilakukan dengan biokatalis teramobilisasi secara fisik pada suatu matrik polimer yang mana biokatalis tidak ikut dalam sirkulasi sehingga pemisahan substrat dapat dilakukan dengan mudah.

Kemajuan dalam bidang polimer saat ini memungkinkan untuk membuat matriks-matriks dengan struktur pori tertentu. Hal ini membuka peluang untuk memanfaatkan matriks tersebut sebagai sarana amobilisasi enzim. Amobilisasi enzim pada matriks mikroporous terjadi secara fisik sehingga tidak terjadi konformasi enzim. Untuk pengembangan teknik amobilisasi ini, penelitian yang mendasar dan komprehensif mutlak diperlukan. Kebaruan penelitian ini terletak pada pemanfaatan struktur pori asimetri hollow fiber sebagai sarana amobilisasi enzim. Keuntungan teknik ini dibandingkan dengan dengan teknik amobilisasi konvensional adalah aktivitas enzim tetap tinggi (tidak terjadi konformasi enzim), media dapat diregenerasi, dan sesuai untuk kasus yang melibatkan substrat dan produk dengan berat molekul yang hampir sama. Penyisihan satu atau lebih jenis produk inhibitor secara sinambung merupakan keunggulan menarik lain dari teknik ini. Penelitian ini dilakukan dengan maksud: (1) mempelajari mekanisme penjerapan enzim pada media mikroporous, (2) mempelajari pengaruh berbagai parameter operasi terhadap perolehan amobilisasi (%) dan densitas amobilisasi (unit aktivitas enzim per satuan volume media).

Target yang diharapkan dari penelitian ini adalah mencapai perolehan amobilisasi dan densitas amobilisasi dengan tahanan perpindahan massa minimal. Seperti dijelaskan oleh Guit dkk [7] dan Drioli dkk [8] bahwa pembebanan enzim yang terlalu tinggi menyebabkan tahanan perpindahan massa tinggi yang akan mengurangi aktivitas katalitik spesifik enzim. Perolehan amobilisasi (jumlah yang teramobilisasi / jumlah enzim yang digunakan) sebagai ukuran tingkat efisiensi, sedangkan densitas amobilisasi (jumlah enzim termobilisasi per volume media) menunjukkan unjuk kerja sistem teramobilisasi. Pada penelitian ini akan dipelajari pengaruh parameter operasi yang meliputi konsentrasi enzim,

waktu amobilisasi, laju air, tekanan, dan pola aliran terhadap perolehan amobilisasi (%) dan densitas amobilisasi. Sebagai media berpori digunakan modul membran hollow fiber. Dengan demikian keberhasilan penelitian ini akan memberikan kontribusi terhadap pengembangan teknik amobilisasi berbasis membran dan sumbangan dasar IPTEK penggunaan bioreaktor membran untuk pembentukan suatu produk secara enzimatik.