

BAB III

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu:

1. Tahap pembuatan material berpori yang dilakukan di laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Kimia Fisik Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
2. Tahap Amobilisasi yang dilakukan di laboratorium Biokimia dan laboratorium Kimia Fisik Universitas Diponegoro Semarang

3.1. Alat

Alat-alat yang dipakai dalam penelitian ini adalah, alat-alat gelas, cawan teflon, krus nikel, pengaduk magnetik, neraca analitis, autoklaf hidrotermal, furnace, tungku kalsinasi, Atomic Absorption Spectrometri, IR Shimadzhu FTIR-8201PC, gas sorption analyzer Quantachrome Corporation NOVA-1000, dan spektrofotometer UV model 390.

3.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah zeolit alam asal Wonosari, HF 1%, NaOH (MERCK), n-CTMABr (MERCK), TMACl (MERCK), larutan Natrium silikat (MERCK), enzim α -amilase, Na₂CO₃, KNa-tartrat, CuSO₄. 5H₂O, folin, Bovin Serum Albumin (BSA), glukosa, amilum, NaHCO₃, Na₂HCO₃, Na₂SO₄ anhidrat, Ba(OH)₂. 8H₂O, ZnSO₄. 7H₂O, ammonium molibdat, H₂SO₄, Na-arsenat dan akuades.

3.3. Variabel Penelitian

3.3.1. Variabel tetap

Variabel yang dikonstakan dalam penelitian ini adalah berat zeolit, berat NaOH, konsentrasi n-CTMABr, volume n-CTMABr, konsentrasi TMACl, volume TMACl, volume Natrium silikat, volume enzim α -amilase, temperatur hidrotermal, temperatur kalsinasi, dan waktu agitasi.

3.3.2. Variabel berubah

Variabel yang divariasi dalam penelitian ini adalah waktu kalsinasi.

3.3.3. Variabel yang dinilai

Variabel yang dinilai adalah ukuran pori, kadar protein, dan kadar glukosa

3.4. Metode Modifikasi zeolit alam

3.4.1. Destruksi zeolit alam

Destruksi zeolit alam dilakukan dengan mereaksikan 10 g zeolit alam yang telah direndam dengan HF 1%, dicampur dengan 20 g NaOH kemudian dipanaskan dalam furnace dengan suhu 500 °C selama 1 jam. Hasil destruksi ditambah 25 mL akuades dan disentrifuse pada 4000 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh filtrat yang digunakan untuk membuat material berpori.

3.4.2. Hidrotermal

Proses hidrotermal dilakukan dengan mencampur 17 mL filtrat, 20 mL n-CTMABr 0,4 M, 5 mL TMACl 2 M, dan 5 mL Natrium Silikat (1:1). Larutan distirer selama 1 jam dan ditambah H₂SO₄ (1:1) sampai pH 11 kemudian dimasukkan dalam autoklaf hidrotermal pada suhu 120 °C, tekanan 1 atm, selama 24 jam.

3.4.3. Kalsinasi

Material hasil hidrotermal dikeringkan dan dimasukkan dalam tungku kalsinasi menggunakan aliran gas N₂ pada suhu 500 °C selama 5 jam dilanjutkan oksidasi menggunakan aliran gas O₂ dengan variasi waktu 2, 4, 6, 8, dan 10 jam.

3.5 Karakterisasi hasil

Material hasil modifikasi dikarakterisasi dengan Spektroskopi IR dan difraksi sinar-X yang dilakukan di UGM Yogyakarta. Metode penentuan ukuran pori menggunakan adsorpsi gas, yaitu BET yang dilakukan di BATAN Yogyakarta. Uji aktivitas enzim teramobilisasi pada material berpori hasil modifikasi ditentukan menggunakan spektrofotometer UV

Penetapan Kode

Tabel 3.1. Penetapan kode sampel

Sampel	Kode
Zeolit alam	ZA
Material dengan waktu kalsinasi 2 jam	MO-2
Material dengan waktu kalsinasi 4 jam	MO-4
Material dengan waktu kalsinasi 6 jam	MO-6
Material dengan waktu kalsinasi 8 jam	MO-8
Material dengan waktu kalsinasi 10 jam	MO-10

3.6.Amobilisasi enzim α -amilase pada material hasil modifikasi

3.6.1. Tahap amobilisasi

Material hasil modifikasi sebanyak 0,15 g dilarutkan dalam 3 mL enzim α -amilase (tidak murni) dan diagitasi pada suhu 4 °C selama 24 jam. Campuran disaring hingga diperoleh filtrat dan endapan (zeolit). Filtrat yang diperoleh ditentukan kadar protein menggunakan metode lowry. Kadar protein yang terukur adalah kadar protein enzim α -amilase dan enzim-enzim lainnya yang terdapat pada larutan enzim.

3.6.2. Penentuan kadar protein

Sebanyak 0,1 mL filtrat ditambah 3 mL reagen lowry C dan diinkubasi pada suhu kamar selama 20 menit. Sampel ditambah 0,3 mL lowry D kemudian ditentukan panjang gelombang maksimum. Sebagai larutan standar digunakan larutan BSA dengan berbagai konsentrasi (0,06; 0,12; 0,18; 0,24; dan 0,30 mg/mL).

3.6.3. Penentuan aktivitas enzim yang teramobilisasi

3.5.3.1.Persiapan sampel

Material (endapan) yang telah dicuci dengan buffer fosfat 0,2 M, ditambah larutan amilum 1 % selanjutnya ditambah 1 mL buffer fosfat 0,2 M. campuran diinkubasi pada suhu 65 °C selama 30 menit. Sampel disaring, filtrat yang diperoleh ditentukan kadar glukosa menggunakan metode Nelson-Soumogyi.

3.5.3.2.Penentuan kadar glukosa

Sebanyak 0,1 mL filtrat ditambahkan 0,2 mL larutan $Ba(OH)_2$ 0,01 M, dan ditambahkan 0,2 mL larutan $ZnSO_4$ 0,01 M. Campuran digojog kemudian

dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 15 menit. Sampel didinginkan kemudian ditambah 1 mL reagen Nelson-Soumogyi sampai terbentuk endapan merah bata. Endapan dilarutkan dengan reagen arsemolibdat kemudian ditentukan absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Sebagai larutan standar digunakan larutan glukosa dengan berbagai konsentrasi (0,2; 0,6; 1,0; 1,2; 1,4; 1,8 g/100mL).

