

IMOBILISASI ENZIM LAKASE *Phellinus noxius* BRB 11 PADA HALLOYSITE NANOTUBES – ASAM AMINO UNTUK DEKOLORISASI PEWARNA *ACID BLUE 129*

INDA HASTUTI N NASER



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Imobilisasi Enzim Lakase *Phellinus noxius* BRB 11 Pada *Halloysite Nanotubes* – Asam Amino Untuk Dekolorisasi Pewarna *Acid Blue 129*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Januari 2025

Inda Hastuti N Naser
G4501211011

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



RINGKASAN

INDA HASTUTI N NASER. Imobilisasi Enzim Lakase *Phellinus noxius* BRB 11 Pada *Halloysite Nanotubes* – Asam Amino Untuk Dekolorisasi Pewarna *Acid Blue* 129. Dibimbing oleh TETTY KEMALA, DEDE HERI YULI YANTO, dan HENNY PURWANINGSIH.

Pewarna sintetis diketahui bersifat toksik dan karsinogenik. Salah satu pewarna sintetis yang beracun adalah *Acid Blue* 129 (AB129). Hanya 30% pewarna sintetis terserap oleh kain, sehingga diperlukan teknik pengolahan limbah yang efektif untuk mencegah dampak negatif terhadap lingkungan. Kombinasi metode biologis dan fisika, seperti pemanfaatan enzim lakase dan *Halloysite nanotube* (HNTs) menjadi langkah strategis yang relevan. Enzim lakase dari *Phellinus noxius* BRB 11 berpotensi digunakan untuk dekolourisasi AB129, namun efisiensinya perlu ditingkatkan. Teknik imobilisasi menggunakan HNTs dan penambahan Asam Amino (AA) berpotensi dapat meningkatkan stabilitas dan kinerja enzim untuk dekolourisasi pewarna AB129. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh imobilisasi enzim lakase *Phellinus noxius* BRB 11 pada HNTs yang dimodifikasi dengan asam amino terhadap efektivitas dekolourisasi AB129, menganalisis karakteristik HNTs-AA terbaik setelah imobilisasi enzim, mengidentifikasi efektivitas enzim lakase pada imobilisasi HNTs-AA, serta mengevaluasi mekanisme dekolourisasi enzim lakase sebelum dan sesudah imobilisasi.

Enzim lakase terbuat dari hasil fermentasi *solid-state* isolat jamur pelapuk putih *Phellinus noxius* BRB 11, dan dilakukan pengujian aktivitas enzim dengan *spektrofotometri*. Bahan pendukung HNTs dimodifikasi melalui proses kimia yang melibatkan larutan asam amino (*Glycine*, *L-Valine*, *L-Aspartic acid*, *L-Glutamic acid*, *L-Arginine*, dan *L-Phenylalanine*) 0,6 M, serta H_2SO_4 pekat sebagai katalis. Imobilisasi enzim terhadap HNTs-Asam Amino menggunakan *cross-linking*. Dekolourisasi pewarna AB129 dievaluasi dari HNTs/AA-*Lac*, serta pengujian toksisitas dan *resorbability* terhadap asam HNTs/AA terbaik. Analisis gugus fungsi dan morfologi permukaan HNTs murni, HNTs/AA, dan HNTs/AA-*Lac*.

HNTs/*Gly-Lac* mencapai tingkat imobilisasi sebesar $98,45\% \pm 0,19$. Sebanyak 0,11 U/g enzim yang terimobilisasi mampu mendekolorisasi 94,60% warna AB129 dalam kurun waktu 2 jam pada pH 4,5 dan suhu 40 °C. Analisis FTIR menunjukkan identifikasi keberhasilan imobilisasi dengan munculnya puncak pada 1640 cm^{-1} (ikatan imina, $-C=N-$). Berdasarkan FESEM-EDS dan HR-TEM, permukaan HNTs setelah imobilisasi terlihat kasar dan menebal sekitar 20 nm dengan lapisan tipis abu-abu muda. Hal ini menunjukkan bahwa enzim lakase berhasil menempel pada permukaan HNTs. HNTs/*Gly-Lac* menghasilkan toksisitas lebih rendah dibandingkan pewarna sintetis AB129. Penggunaan ulang HNTs/*Gly-Lac* mempertahankan aktivitas sebesar $45 \pm 0,4\%$ pada siklus keempat. HNTs/*Gly-Lac* memiliki potensi sebagai bahan pendukung dekolourisasi yang praktis, sederhana, dan ramah lingkungan untuk pengolahan limbah pewarna sintetis.

Kata kunci: *acid blue* 129, *cross-linking*, dekolourisasi, glisina, *halloysite nanotube*.

SUMMARY

INDA HASTUTI N NASER. Imobilisasi Enzim Lakase *Phellinus noxius* BRB 11 Pada *Halloysite Nanotubes* – Asam Amino Untuk Dekolorisasi Pewarna *Acid Blue* 129. Supervised by TETTY KEMALA, DEDE HERI YULI YANTO, and HENNY PURWANINGSIH.

Synthetic dyes are known to be toxic and carcinogenic. One such hazardous synthetic dye is Acid Blue 129 (AB129). Only 30% of synthetic dyes are absorbed by fabrics, necessitating effective wastewater treatment techniques to prevent negative environmental impacts. The combination of biological and physical methods, such as the utilization of laccase enzymes and *Halloysite* nanotubes (HNTs), represents a relevant strategic approach. The laccase enzyme derived from *Phellinus noxius* BRB 11 shows potential for decolorizing AB129. However, its efficiency requires enhancement. Immobilization techniques utilizing HNTs and the addition of amino acids (AAs) have the potential to improve the stability and performance of the enzyme for AB129 decolorization. This study aims to investigate the effect of immobilizing the laccase enzyme from *Phellinus noxius* BRB 11 on HNTs modified with amino acids on the decolorization effectiveness of AB129, analyze the characteristics of the optimal HNTs-AA after enzyme immobilization, evaluate the effectiveness of the immobilized laccase enzyme on HNTs-AA, and explore the decolorization mechanism before and after immobilization.

The laccase enzyme was produced through solid-state fermentation of the white-rot fungal isolate *Phellinus noxius* BRB 11 and its activity was tested spectrophotometrically. HNTs were chemically modified using a 0.6 M amino acid solution (Glycine, L-Valine, L-Aspartic acid, L-Glutamic acid, L-Arginine, and L-Phenylalanine) and concentrated H_2SO_4 as a catalyst. Enzyme immobilization on HNTs-amino acids was carried out using a cross-linking method. Decolorization of AB129 dye was evaluated using HNTs/AA-Lac, followed by toxicity and reusability testing of the optimal HNTs/AA. Functional group and surface morphology analyses were performed on pure HNTs, HNTs/AA, and HNTs/AA-Lac.

HNTs/Gly-Lac achieved an immobilization efficiency of $98.45\% \pm 0.19$, with 0.11 U/g of immobilized enzyme capable of decolorizing 94.60% of AB129 dye within 2 hours at pH 4.5 and 40 °C. FTIR analysis confirmed successful immobilization through the presence of a peak at 1640 cm^{-1} (imine bond, $-\text{C}=\text{N}-$). FESEM-EDS and HR-TEM analyses revealed that the HNTs surface after immobilization appeared rough and thickened by approximately 20 nm, with a thin light-gray coating, indicating successful enzyme attachment to the HNTs surface. The HNTs/Gly-Lac exhibited lower toxicity compared to the synthetic dye AB129. Reusability tests showed that HNTs/Gly-Lac retained $45 \pm 0.4\%$ of its activity after four cycles. HNTs/Gly-Lac demonstrated potential as a practical, simple, and eco-friendly support material for decolorization processes, offering a promising approach for treating synthetic dye wastewater.

Keywords: acid blue 129, cross-linking, decolorization, glycine, halloysite nanotube.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



IMOBILISASI ENZIM LAKASE *Phellinus noxius* BRB 11 PADA HALLOYSITE NANOTUBES – ASAM AMINO UNTUK DEKOLORISASI PEWARNA *ACID BLUE* 129

INDA HASTUTI N NASER

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Magister Kimia

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**

Penguji pada Ujian Tesis:
1. Ade Andriani, PhD

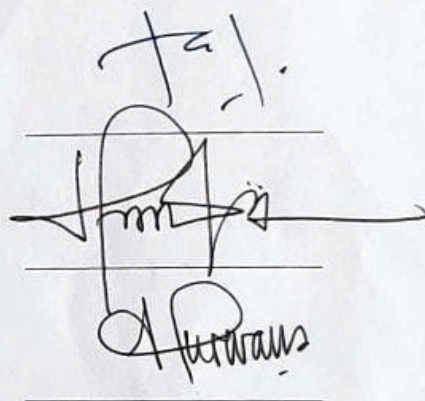
Judul Tesis : Imobilisasi Enzim Lakase *Phellinus noxius* BRB 11 Pada
Halloysite Nanotubes – Asam Amino Untuk Dekolorisasi
Pewarna *Acid Blue 129*
Nama : Inda Hastuti N Naser
NIM : G4501211011

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Tetty Kemala, M.Si.

Pembimbing 2:
Dr. Dede Heri Yuli Yanto, S.Si., M.Agr.

Pembimbing 3:
Dr. Henny Purwaningsih, S.Si., M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi Pascasarjana Kimia:
Prof. Dr. Irmanida Batubara, S.Si., M.Si.
NIP 197508072005012001

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam:
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si.
NIP 197807232007011001



Digitally signed by:
Berry Juliandi

Date: 31 Jan 2025 13:23:30 WIB
Verify at disign.ipb.ac.id

Tanggal Ujian:
03 Januari 2025

Tanggal Lulus:



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Juni 2022 sampai bulan Desember 2024 ini dengan judul “Imobilisasi Enzim Lakase *Phellinus noxius* BRB 11 Pada *Halloysite Nanotubes* – Asam Amino Untuk Dekolorisasi Pewarna *Acid Blue 129*”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Dr. Tetty Kemala, M.Si., Dr. Dede Heri Yuli Yanto, S.Si., M.Agr., dan Dr. Henny Purwaningsih, M.Si., yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada moderator seminar dan penguji luar komisi pembimbing. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Kepala Pusat Riset Biomassa dan Bioproduk, Dr. Akbar Hanif Dawam A., MT. yang telah memberi izin penelitian, pembimbing teknis Lab Oktan Dwi Nurhayat M.Si, Fenny Clara Ardiati, M.Si, dan Bapak/Ibu tim kelompok riset Mikrobiologi Terapan serta staf *Integrated Laboratory of Bioproduct* (ILab)–BRIN Cibinong. Penulis berterima kasih kepada Silvi, Azizah, Ike, teman–teman seperjuangan Kimia 2021, teman–teman Forum Wacana Pascasarjana 2022–2023, Dormitory Mutiara, Hero Group, Basecamp Dramaga Cantik yang telah membantu selama pengumpulan data, serta memberi dukungan dan masukan pada pelaksanaan penelitian maupun penulisan karya ilmiah. Ungkapan terima kasih dan sayang juga disampaikan kepada Bapak Nasrudin Naser, Ibu Yusdiati, S.Pd serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Januari 2025

Inda Hastuti N Naser

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.





DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
METODE	4
2.1 Waktu dan Tempat Penelitian	4
2.2 Alat dan Bahan	4
2.3 Prosedur Kerja	4
2.4 Analisis Data	8
III HASIL DAN PEMBAHASAN	9
3.1 Produksi dan Ekstraksi Enzim	9
3.2 Modifikasi HNTs–Asam amino	9
3.3 Imobilisasi dan Pemuatan Enzim	10
3.4 Dekolorisasi Pewarna Sintetis AB129	11
3.5 Optimasi Dekolorisasi pH dan Suhu	13
3.6 FTIR	14
3.7 FESEM–EDS	15
3.8 HR-TEM	16
3.9 Toksisitas HNTs, Lakase, HNTs/Gly–Lac	17
3.10 Penggunaan Ulang HNTs/ <i>Gly–Lac</i>	19
IV SIMPULAN DAN SARAN	21
4.1 Simpulan	21
4.2 Saran	21
DAFTAR PUSTAKA	22
LAMPIRAN	28
RIWAYAT HIDUP	33

DAFTAR TABEL

1	Hasil imobilisasi dan pemuatan enzim	10
2	Data persentase rerata mortalitas, nilai probit, dan LC ₅₀ sebelum dan setelah imobilisasi terhadap dekolorisasi AB129	19

DAFTAR GAMBAR

1	Hasil ekstrak enzim lakase	9
2	Mekanisme imobilisasi HNTs/AA-Lac	10
3	Hasil imobilisasi HNTs-AA/Lac	11
4	Optimasi dekolorisasi AB129 (a) pH (b) suhu	14
5	Hasil dekolorisasi selama 2 Jam	12
6	(a) Gly (b) HNTs (c) Lakase (d) HNTs/Gly-Lac	15
7	Hasil FESEM (a) HNTs murni (b) HNTs/AB129 (c) HNTs/Gly (d) HNTs/Gly-Lac (e) HNTs/Gly-Lac-AB129	16
8	Hasil EDS (a) HNTs murni (b) HNTs/AB129 (c) HNTs/Gly (d) HNTs/Gly-Lac (e) HNTs/Gly-Lac-AB129	16
9	Hasil HRTEM (a) HNTs (b) HNTs/AB129 (c) HNTs/Gly (d) HNTs/Gly-Lac (e) HNTs/Gly-Lac/AB129	17
10	Grafik regresi linier log konsentrasi dan mortalitas probit sebelum imobilisasi	18
11	Grafik regresi linier log konsentrasi dan mortalitas probit sesudah imobilisasi	18
12	Penggunaan berulang AB129	20

DAFTAR LAMPIRAN

1	Diagram Alir Penelitian	29
2	Enam Asam Amino yang Digunakan	30
3	Kategori Toksisitas Uji BSLT dalam Satuan µg/mL (ppm)	30
4	Alur degradasi pewarna AB129	30
5	Penggunaan Kembali Dekolorisasi dengan Bahan Lain	31

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.