

PENGARUH KONSENTRASI SUBSTRAT, LAMA INKUBASI DAN pH DALAM PROSES ISOLASI ENZIM XYLANASE DENGAN MENGGUNAKAN MEDIA JERAMI PADI

Albar Budiman, Sigit Setyawan

Pembimbing : Dr. Ir. Abdullah, MS

Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro
Jln. Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang, 50239, Telp/Fax: (024)7460058

Abstrak

*Di sejumlah besar daerah di Indonesia jerami masih dianggap sebagai sampah dan pada akhirnya hanya akan dibakar begitu saja tanpa ada pemanfaatan lebih lanjut, padahal Indonesia sebagai negara agraris merupakan penghasil jerami yang sangat besar dengan jumlah 230 juta ton jerami per tahun. Selama ini pemanfaatan jerami masih sebatas sebagai makanan ternak dan bahan bakar rumah tangga untuk memasak, selain itu belum ada pemanfaatan lain yang dapat secara optimal memanfaatkan kandungan jerami padi. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan limbah jerami padi tersebut sebagai bahan baku untuk memproduksi enzim xylanase. Enzim xylanase dalam penelitian menggunakan strain jamur *Aspergillus Niger*. Penelitian ini dibagi menjadi tiga tahap, yaitu tahap persiapan, tahap produksi enzim dan tahap pengujian. Pada tahap persiapan meliputi pembiakan strain dan persiapan media fermentasi yang terdiri dari larutan garam mineral dan ekstrak yeast sebagai sumber nitrogen organik. Pada media fermentasi inilah dilakukan variasi konsentrasi substrat yaitu 1%, 2%, 3% dan 4% serta dilakukan variasi inkubasi 2, 3, 4, 5 dan 6 hari. Kemudian dilakukan tahap produksi enzim dengan metode solid state fermentation. Dan kemudian dilakukan pengujian pada substrat untuk mendapatkan aktivitas enzim yang telah diproduksi. Setelah diketahui konsentrasi substrat terbaik penelitian dilanjutkan dengan variabel pH yang berbeda yaitu pH 5, 5.5, 6 dan 6.5 dengan poses produksi enzim dan pengujian yang sama seperti penelitian sebelumnya. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa masing-masing medium dengan konsentrasi substrat yang berbeda mempunyai waktu inkubasi optimum yang sama yaitu pada hari ke 4 sedangkan untuk konsentrasi substrat terbaik dalam menghasilkan aktivitas enzim xylanase adalah pada konsentrasi substrat 1% dengan aktivitas enzim sebesar 15.14 UI/ml pada hari ke 4 inkubasi. Sedangkan untuk pH optimum didapatkan pada pH 6 dengan waktu inkubasi 4 hari dengan aktivitas enzim sebesar 15.33 UI/ml.*

Kata kunci: Xylanase, Aspergillus Niger, jerami padi, isolasi enzim.

Abstract

*The purpose of this research is to produce xylanase which is a degrading agent of component of hemicelluloses. Hemicelluloses just like an adhesive between lignin and cellulose. Then, due to hemicelluloses degradation, lignin can be released easily with small addition of chlorine or even without any addition of it. *Aspergillus Niger* mold strain is used to produce xylanase. This research is divided into three steps. First, preparation step consists of strain cultivation and preparation of fermentation medium. Fermentation medium contains mineral salt and yeast extract as an organic nitrogen source. In this medium, variations of substrate concentration where is 1%, 2%, 3% and 4% and time of incubations are conducted in 2, 3, 4, 5 and 6 days. Second, enzyme production step by Solid State Fermentation method. The last is test step to calculate enzyme activities. After we know the optimum of substrate concentration the research continues with different pH of medium with same*

variation of time of incubation. This second research for this variation of pH is same like the research before.

Based on result of the research, it can be concluded that each medium with different substrate concentration have a different result in enzyme activity, the highest value of this variable is medium with 1% substrate concentration and incubation in 4 days, where it's have 15.14 UI/ml of enzyme activity. For the variable of pH, pH optimum to produce enzyme xylanase is pH 6 with 4 day incubation and the result of enzyme activity is 15.33 UI/ml.

Keyword: Xylanase, Aspergillus Niger, Rice straw, Immobilized enzyme.

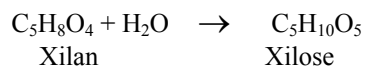
PENDAHULUAN

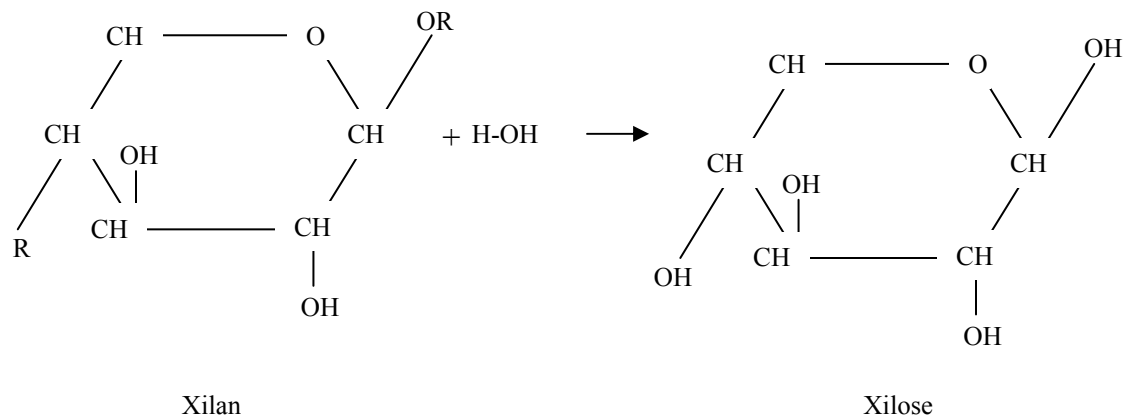
Di sejumlah besar daerah di Indonesia jerami masih dianggap sebagai sampah dan pada akhirnya hanya akan dibakar begitu saja tanpa ada pemanfaatan lebih lanjut, padahal Indonesia sebagai negara agraris merupakan penghasil jerami yang sangat besar dengan jumlah 230 juta ton jerami per tahun. Selama ini pemanfaatan jerami masih sebatas sebagai makanan ternak dan bahan bakar rumah tangga untuk memasak, selain itu belum ada pemanfaatan lain yang dapat secara optimal memanfaatkan kandungan jerami padi. Jerami padi sebagai limbah tanaman tua, dinding selnya telah mengalami lignifikasi lanjut membentuk ikatan kompleks, termasuk selulosa dan hemiselulosa. Pemanfaatan limbah berlignoselulosa dengan menggunakan jasa mikroorganisme dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yang mampu mendegradasi bahan berlignoselulosa menjadi fraksi penyusunnya. Dan salah satunya adalah dengan memanfaatkan jerami padi untuk produksi enzim xylanase.

Jerami Padi Sebagai Limbah Berlignoselulose

Perkembangan dan kemajuan bidang pertanian di Indonesia telah menimbulkan peningkatan limbah pertanian yang sebagian besar merupakan limbah berlignoselulosa. Limbah berlignoselulosa yang tinggi potensinya di Indonesia antara lain jerami. Di sejumlah besar daerah di Indonesia jerami masih dianggap sebagai sampah dan pada akhirnya hanya akan dibakar begitu saja tanpa ada pemanfaatan lebih lanjut, padahal Indonesia sebagai negara agraris merupakan penghasil jerami yang sangat besar dengan jumlah 230 juta ton jerami per tahun. Selama ini pemanfaatan jerami masih sebatas sebagai makanan ternak dan bahan bakar rumah tangga untuk memasak, selain itu belum ada pemanfaatan lain yang dapat secara optimal memanfaatkan kandungan jerami padi. Jerami padi sebagai limbah tanaman tua, dinding selnya telah mengalami lignifikasi lanjut membentuk ikatan kompleks, termasuk selulosa dan hemiselulosa. Pemanfaatan limbah berlignoselulosa dengan menggunakan jasa mikroorganisme dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yang mampu mendegradasi bahan berlignoselulosa menjadi fraksi penyusunnya.

Substrat yang digunakan dalam proses fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas dan produktivitas enzim. Adanya substrat tertentu didalam medium produksi dapat memacu mikroorganisme untuk mensekresi metabolit selnya. Zat makanan utama bagi pertumbuhan mikroorganisme adalah sumber karbon, nitrogen, dan komponen mineral terutama fosfat. Formulasi media dalam pertumbuhan dan produksi hasil fermentasi merupakan suatu tahap penting dalam mendesain percobaan dalam skala kerja (Stanbury dan Whitaker, 1984).





Gambar diatas adalah reaksi hidrolisa xylan beberapa sumber karbon yang sering digunakan adalah molases, serealia, pati, glukosa, sukrosa dan laktosa. Produksi enzim xilanase sebagai sumber karbon adalah xilan. Xilan dengan aktivitas xilanase yang dihasilkan oleh mikroorganisme akan terhidrolisis menjadi xilosa. Hemiselulosa xilan merupakan polimer xilosa yang berikatan β -1,4 dengan jumlah monomer 150-200 unit (Sunna dan Antraniklan, 1997). Rantai xilan bercabang dan strukturnya tidak terbentuk kristal sehingga lebih mudah dimasuki pelarut dibandingkan dengan selulosa. Sebagian besar xilan terdiri atas 2-4 heteroglikan. Heteroglikan yang umum dijumpai adalah arabino-Dxilan, L-arabino-D-glukurono-Dxilan, 4-o-metil-D-glukorono-Dxilan, L-arabino-D-xilan, D-gluko-Dmannan, D-galakto-D-gluko-Dmannan, dan L-arabino-D-galaktan. Penggunaan xilan dalam produksi xilanase skala besar terlalu mahal. Park *et al.* (1992)

Produksi Enzim Xilanase dari Mikroorganisme.

Jenis mikroorganisme yang sudah umum menghasilkan xilanase ialah jamur dan bakteri. Contoh beberapa mikroorganisme penghasil endoxilanase disajikan pada Tabel 2.7. Beberapa jenis bakteri dan jamur

Diketahui mampu menghasilkan xilanase secara ekstraseluler. Xilanase dari *Clostridium acetobutylicum* telah diteliti oleh Lee *et al.* (1985), yaitu dari 20 strain *Clostridium* sp. ternyata *C. acetobutylicum* NRRL B527 dan ATCC 824 menghasilkan xilanase terbanyak. Strain NRRL B527 menghasilkan xilanase pada pH 5,2, sedangkan strain ATCC 824 menghasilkan xilanase, xilopiranosidase, dan arabinofuranosidase pada kultur anaerob. *Bacillus* sp. penghasil xilanase bersifat alkalofilik yang telah diteliti adalah *Bacillus* sp. YC 335 (Park *et al.*, 1992), *Bacillus* sp. 41M-1 (Nakamura *et al.*, 1993), dan *Bacillus* sp. TAR-1 yang juga bersifat termofilik (Nakamura *et al.*, 1994). Kubata *et al.* (1992) telah mengisolasi *Aeromonascaviae* ME-1 penghasil xilanase I dari usus *herbivorous insect*, sedangkan Dung *et al.* (1993) melakukan penelitian β -1,4-xilanase 2 dan 3 dari *A. caviae* W-61. Irawadi (1992) berhasil memproduksi selulase dan xilanase dari *Neurospora sitophila* pada substrat padat limbah kelapa sawit. Richana *et al.* (2000) telah melakukan isolasi bakteri penghasil xilanase alkalofilik yang berasal dari tanah berkapur pH 7,9.

Dalam memproduksi enzim dari mikroorganisme, hal yang penting untuk dikerjakan adalah mulai menggunakan strain mikroorganisme yang paling aktif yang tersedia. Suatu program seleksi strain harus dilakukan dengan mengambil kultur dari alam atau koleksi kultur, dan melakukan pengujian-pengujian aktivitas enzim. Persyaratan utama dalam seleksi adalah kemudahan metodologi, sehingga pengujian yang cepat untuk sejumlah besar strain dapat dikerjakan.

Jenis mikroorganisme yang sudah umum menghasilkan xylanase ialah dari golongan jamur dan bakteri. Meskipun enzim yang dihasilkan oleh golongan bakteri memiliki ketahanan pada temperatur yang lebih tinggi dibanding jamur, namun aktifitas xylanase dari golongan jamur jauh lebih tinggi dari bakteri. Disamping itu, level produksi yang tinggi dan kemudahan dalam kultivikasi membuat jamur lebih banyak digunakan dalam produksi enzim skala industri (Bergquist *et al.*, 2002).

Adapun jenis jamur yang berpotensi menghasilkan enzim xylanase yaitu jamur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*.

Aspergillus niger adalah mould dari klas fungi imperfecti, tersebar dimana-mana pada bermacam substrat antara lain terdapat pada buah-buahan, sayur-sayuran dan makanan lain yang telah busuk. Jamur ini berperan dalam mendekomposisi polisakarida di dalam kayu, mempunyai suhu pertumbuhan 30⁰C - 37⁰C, pH : 4 – 6 dan aerob.

Menurut tinjauan umum *A.niger* diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : *Fungi imperfecti*
Sub kelas : *Hyphomyces*
Ordo : *Monoliales*
Famili : *Monoleaceae*
Genus : *Aspergillus*
Spesies : *Niger*
(Dwijoseputro, 1984)

Pemanfaatan lanase Pada Proses Pembuatan Kertas

Pada pembuatan kertas, xilanase digunakan untuk menghilangkan hemiselulosa dalam proses *bleaching*. Enzim ini sebagai pengganti cara kimia sehingga pencemaran racun limbah kimia akan dihindari dan lebih murah (Ruiz Arribas *et al.*, 1995).

Bahan baku kayu pembuat kertas setelah melalui proses digester dan pencucian, sebenarnya masih dalam keadaan kotor (derajat putihnya rendah). Untuk menghasilkan kertas yang bermutu tinggi perlu dilakukan proses pemutihan. Proses pemutihan bertujuan untuk menghilangkan lignin, hemiselulosa penyebab warna coklat dan zat ekstraktif yang dikandung dari hasil pencucian dan penyaringan. Proses pemutihan biasanya dilakukan bertahap, karena mempunyai kelebihan di antaranya adalah nilai derajat putihnya tinggi. Proses bertahap ini terdiri atas tahap khlorinasi, ekstraksi, dan penambahan khlorin dioksida. Khlorin adalah bahan beracun, sehingga khlorin sisa proses yang dibuang ke perairan sungai akan membuat polusi yang tinggi. Ternyata polusi terbesar di Negara kita adalah polusi dari pabrik kertas. Penggantian penggunaan khlorin untuk pemutihan kertas telah memberikan peluang untuk aplikasi bioteknologi. Xilanase merupakan enzim yang pertama kali dilaporkan untuk pemutihan kertas dan sekarang telah digunakan pada beberapa pabrik kertas (Bourbonnais *et al.*, 1997; Viikari *et al.*, 1991; 1994; Coughlan dan Hazlewood, 1993).

Jumlah pabrik kertas yang sudah beroperasi di Indonesia saat ini lebih dari 14 perusahaan dan belum satu pun menggunakan proses enzimatik dalam proses pemutihan. Dengan demikian, untuk mendukung pelestarian lingkungan maka perlu segera diaplikasikan proses ramah lingkungan (*clean processing*) di Indonesia. Untuk proses pembuatan kertas diharapkan xilanase yang digunakan adalah yang termostabil dan tahan pada pH alkali (Nakamura *et al.*, 1993)

Jenis enzimnya adalah endoxilanase

(Kantelinen *et al.*, 1988; Paice *et al.*, 1988; Viikari *et al.*, 1994).

Namun demikian, kombinasi xilanolitik lain dan hemiselulolitik dengan endoxilanase telah menunjukkan efektif pada perbaikan mutu kertas. Penggunaan xilanase dan enzim sejenisnya pada proses pemutihan kertas membantu pengurangan jumlah *kappa* dan meningkatkan derajat putih kertas. Sejumlah kajian pengaruh xilanase pada pemutihan kertas yang dilakukan dengan enzim berasal dari *Trichoderma* sp. dan ternyata pengurangan penggunaan khlorin mencapai 20-30% (Viikari *et al.*, 1991; 1994).

Pemanfaatan Xilanase Sebagai Gula Xilosa

Xilanase juga dapat digunakan untuk menghidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi gula xilosa. Xilan banyak diperoleh dari limbah pertanian dan industri makanan. Pengembangan proses hidrolisis

secara enzimatik merupakan prospek baru untuk penanganan limbah hemiselulosa (Biely, 1985; Rani dan Nand, 1996; Beg *et al.*, 2001).

Gula xilosa banyak digunakan untuk konsumsi penderita diabetes. Di Malaysia gula xilosa banyak digunakan untuk campuran pasta gigi karena dapat berfungsi memperkuat gusi. Dengan beragamnya kegunaan gula xilosa maka perlu adanya inovasi ke arah produksi xilosa tersebut. Inovasi tersebut muncul diantaranya apabila enzim penghidrolisis lignoselulosa tersebut sudah tersedia. Adakalanya untuk memproses gula xilosa belum diminati karena kurang ekonomis mengingat kandungan xilan sangat rendah dibandingkan dengan selulosa. Namun demikian, perlu dipertimbangkan untuk melakukan proses multienzim sehingga hasilnya tidak hanya xilosa saja (dari xilan) tetapi juga glukosa (dari selulosa dan oligo sakarida lainnya). Sedangkan adanya teknologi baru seperti teknologi membran, di mana dapat memisahkan komponen sesuai ukuran molekul maupun berat molekul maka dapat dilakukan fraksinasi glukosa dan xilosa dengan mudah.

Pemanfaatan Xilanase untuk Makanan Ternak

Van Paridon *et al.* (1992) telah melakukan penelitian pemanfaatan xilanase untuk campuran makanan ayam boiler, dengan melihat pengaruhnya terhadap berat yang dicapai dan efisiensi konversi makanan serta hubungannya dengan viskositas pencernaan. Hal yang sama juga dilakukan oleh Bedford dan Classen (1992), yang melaporkan bahwa campuran makanan ayam boiler dengan xilanase yang berasal dari *T.longibrachiatum* ternyata mampu mengurangi viskositas pencernaan, sehingga meningkatkan pencapaian berat dan efisiensi konversi makanan.

Pemanfaatan Xilanase untuk Makanan dan Minuman

Xilanase dapat juga digunakan untuk menjernihkan *juice*, ekstraksi kopi, minyak nabati, dan pati (Wong dan Saddler, 1993). Kombinasi dengan selulase dan pektinase dapat untuk penjernihan *juice* dan likuifikasi buah dan sayuran (Beg *et al.*, 2001).

Efisiensi xilanase dalam perbaikan kualitas roti yang telah dilakukan, yaitu xilanase yang berasal dari *Aspergillus niger var awamori* yang ditambahkan ke dalam adonan roti menghasilkan kenaikan volume spesifik roti dan untuk lebih meningkatkan kualitas roti maka perlu dilakukan kombinasi penambahan amilase dan xilanase (Maat *et al.*, 1992). Sekalipun potensi penggunaan enzim xilanase cukup beragam tetapi untuk memproduksi juga masih menghadapi beberapa kendala, antara lain tidak tersedianya strain mikroorganisme unggul dan kurangnya pengetahuan tentang teknologi produksi enzim. Di lain pihak, pakar dari negara maju mengakui bahwa negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, termasuk Indonesia, merupakan sumber mikroorganisme maupun tanaman yang potensial untuk bioproses (Fox, 1994).

Melihat potensi bahan limbah berlignoselulosa yang melimpah, serta kekayaan sumber keanekaragaman hayati mikroorganisme di Indonesia, maka perlu dilakukan inovasi ke arah industri enzim. Xilanase yang sangat beragam penggunaannya dapat diproduksi sendiri di Indonesia seandainya memiliki strain mikroorganisme unggul penghasil xilanase dan menguasai teknologi produksinya.

METODE PENELITIAN

Pada penelitian tentang pengaruh konsentrasi substrat, pH dan lama inkubasi dan Variasinya dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase Dengan Menggunakan Media Jerami Padi. Penelitian ini dibagi menjadi tiga tahap yaitu, tahap persiapan, tahap produksi enzim dan tahap pengujian.

Adapun variabel yang digunakan adalah sebagai berikut

- Jenis mikroorganisme *Aspergillus Niger*
- Media yang digunakan jerami padi

Sedangkan Variabel Berubahnya adalah

- Konsentrasi Subtrat : 1 %, 2 %, 3 %, dan 4 %
- Lama Inkubasi yaitu 2, 3, 4, 5 dan 6 hari
- pH medium fermentasi : 5, 5.5, 6, 6.5

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Beaker glass
2. Centrifuge
3. Erlenmeyer
4. Gelas Ukur
5. Autoclave
6. Hot Plate dan Stirer
7. Kawat Ose
8. Pipet ukur
9. Pipet mata
10. Shaker Inkubator
11. Spektrofotometer
12. Tabung Reaksi
13. Timbangan

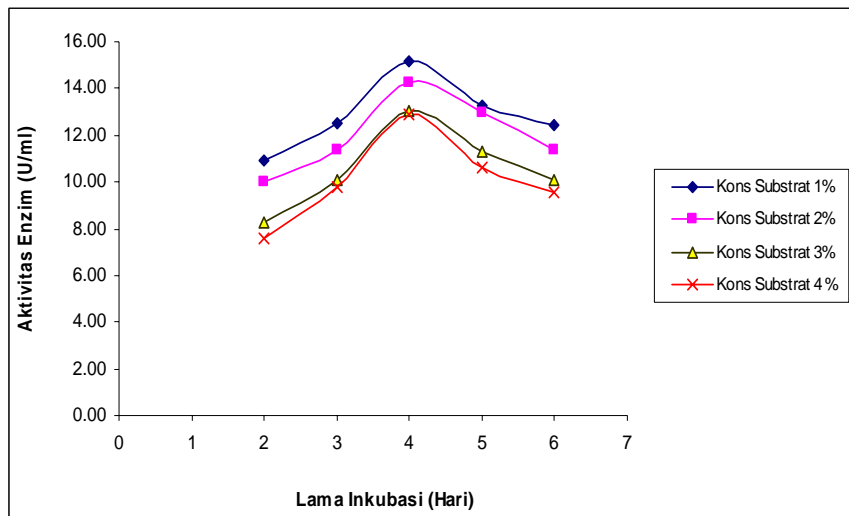
Pada tahap persiapan dilakukan pembiakan jamur yaitu *Aspergillus Niger* pada media Potato Dextrose Agar (PDA) kemudian dilakukan pembuatan subtrat untuk pertumbuhan jamur serta pembuatan media fermentasi. Pada tahap produksi enzim, jamur yang telah dibiakkan yaitu *Aspergillus Niger* akan diinokulasikan pada media fermentasi dengan konsentrasi subtrat yang berbeda-beda yaitu 1%, 2%, 3%, 4%, dan kemudian diinkubasi selama 2, 3, 4, 5 dan 6 hari. Pada tahap pengujian, enzim yang telah didapatkan dari tahap produksi enzim akan diuji kadar protein dan aktivitas enzimnya, setelah diketahui konsentrasi subtrat terbaik untuk produksi enzyme xylanase, penelitian dilanjutkan dengan variasi pH medium yang berbeda yaitu 5, 5.5, 6, dan 6.5 dengan langkah dan pengujian yang sama seperti penelitian sebelumnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Aktifitas Enzim Xylanase.

Aktifitas Enzim Xylanase menyatakan seberapa besar kemampuan enzim xylanase dalam menguraikan atau mengkonversi xylan menjadi produknya yaitu xylose. Aktifitas ini dihitung dalam satuan *International Unit* (IU), berdasarkan jumlah mikromol xylose yang dibebaskan permenit pada kondisi pengujian. Metode yang digunakan adalah metode DNS (Miller, 1959).

Pengujian ini dilakukan pada masing-masing enzim yang dihasilkan pada berbagai macam lama waktu inkubasi. Dari uji ini dapat diketahui pengaruh lama inkubasi terhadap aktifitas enzim xylanase. Grafik hubungan antara waktu inkubasi terhadap aktifitas enzim xylanase ditunjukkan pada grafik 4.1.



Grafik 4.1 Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Aktifitas Enzym Xylanase

Dari grafik 4.1 diketahui bahwa untuk masing-masing konsentrasi substrat ternyata memiliki waktu inkubasi optimal yang hampir sama atau bahkan dapat dikatakan sama yaitu pada hari keempat, pada konsentrasi substrat 1% menunjukkan bahwa aktifitas enzim terbesar terdapat pada hari keempat begitu juga pada konsentrasi substrat 2%, 3% dan 4%. Pada media dengan konsentrasi substrat 1% untuk inkubasi hari kedua hingga inkubasi hari keempat terjadi peningkatan aktifitas enzim yang sangat signifikan, pada hari 2 aktifitas enzim menapai nilai sebesar 10.93 UI/ml dan mengalami kenaikan pada hari ketiga sebesar 12.50 UI/ml. Kemudian pada hari keempat tercapai titik maksimum aktifitas enzim yaitu sebesar 15.14 UI/ml, setelah melewati hari keempat dan memasuki inkubasi hari kelima dan keenam, aktifitas enzim xylanase mengalami penurunan tapi tidak terlalu signifikan penurunan itu terjadi pada aktifitas enzim sebesar 13.29 UI/ml menjadi 12.45 UI/ml. Dan hal yang sama juga terjadi pada media dengan konsentrasi substrat 2%, 3% dan 4%.

Sedangkan untuk pengaruh konsentrasi substrat dalam media terhadap aktifitas enzim xylanase juga dapat dilihat pada grafik 4.1 dimana pada media dengan konsentrasi substrat 1% aktifitas enzyme xylanase mencapai titik tertinggi dan kemudian menurun pada konsentrasi substrat 2% dan terus menurun pada konsentrasi substrat 3% dan 4%.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh *Diah-Kristin, Gideon-Deddy, (2005)* dengan menggunakan strain jamur *Trichoderma reesei* dengan temperatur inkubasi 30°C, dan waktu inkubasi dilakukan selama 7 hari untuk *T.reesei*. Pemilihan kondisi ini didasarkan pada penelitian-penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa pada kondisi tersebut aktifitas enzim xylanase yang dihasilkan dapat maksimal. Sedangkan sebagai variabel penelitian adalah kondisi keasaman dari media fermentasi yaitu pada pH 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; 8; 8,5; dan 9.

Mikroorganisme mempunyai masa pertumbuhan yang bervariasi dimana dalam aktifitas metabolisme tersebut mikroorganisme memiliki beberapa fase dalam pertumbuhannya. Pada awal pertumbuhan fase yang dilalui adalah fase pertumbuhan kemudian aktifitas metabolisme akan menurun setelah mikroorganisme melewati fase puncak pertumbuhannya, fase penurunan ini disebut death phase. Fase –fase pertumbuhan tersebut sangat berpengaruh terhadap enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme untuk membantu pencernaan makanannya.

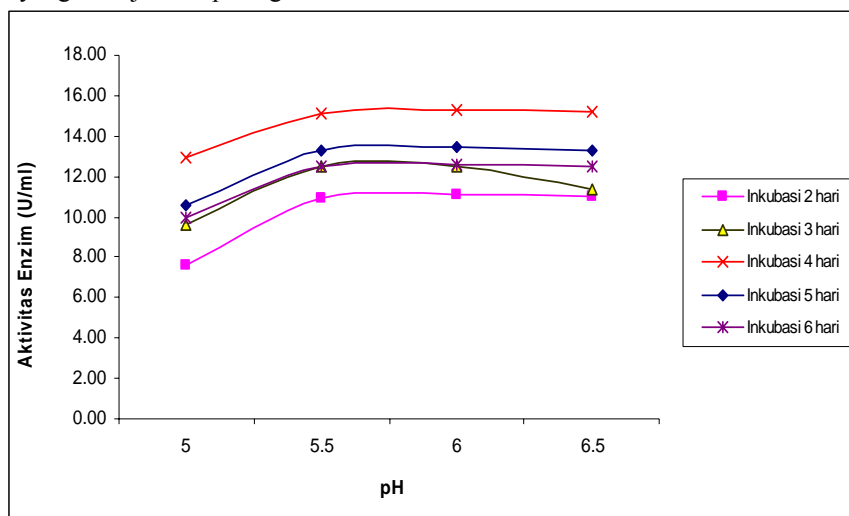
Dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa waktu optimum untuk inkubasi adalah empat hari, karena pada hari keempat inkubasi dapat dilihat bahwa aktifitas enzyme mengalami aktifitas tertinggi dibandingkan dengan hari yang lain yaitu hari ke 2, 3, 5 dan 6. hal ini terjadi karena waktu pertumbuhan optimum bagi *Aspergillus Niger* adalah 3 dan 4 hari, hal ini ditandai dengan

meningkatnya viscositas broth dan menurunnya viscositas medium saat melewati fase pertumbuhan optimal (Prosetsa and Oi, 1997).

Sedangkan pada variasi konsentrasi substrat, aktivitas enzyme menurun seiring dengan bertambahnya konsentrasi substrat. Pada konsentrasi substrat 1 % aktivitas enzyme mencapai nilai tertinggi kemudian aktivitas enzyme mulai menurun pada konsentrasi substrat 2 % dan terus menurun pada konsentrasi substrat 3 % dan 4 %. Konsentrasi substrat 1 % merupakan kondisi ideal bagi *Aspergillus Niger* untuk menghasilkan enzyme xylanase karena substrat 1 % merupakan kondisi ideal pada fermentasi terendam karena pada konsentrasi tersebut adsorpsi enzim terhadap substrat berjalan dengan baik. Substrat yang tidak terlalu tinggi adalah keadaan optimum pada fermentasi terendam, hal ini terjadi karena pada konsentrasi tersebut difusi oksigen dan adsorpsi enzyme terhadap substrat akan berjalan optimal (Stewart and Parry, 1981).

Pengaruh pH Terhadap Aktifitas Enzym Xylanase.

Pengujian pengaruh pH ini dilakukan setelah dilakukannya pengujian pertama yaitu pengujian pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzyme xylanase, pada pengujian pertama didapatkan bahwa konsentrasi substrat yang paling baik untuk media pertumbuhan adalah substrat 1 %, sehingga pengujian untuk pengaruh pH dilakukan pada media dengan substrat 1 % dengan lama inkubasi 2, 3, 4, 5 dan 6 hari yang ditunjukkan pada grafik 4.2.



Grafik 4.2 Pengaruh pH Terhadap Aktifitas Enzym Xylanase

Dari grafik 4.2 ditunjukkan hubungan antara pH dengan aktivitas enzyme dengan variasi waktu inkubasi pada grafik 4.2 dapat dilihat bahwa aktivitas enzyme tertinggi terjadi pada pH 6, pada pH 5 aktivitas enzim tidak terlalu tinggi bahkan paling kecil, kemudian pada pH 5.5 terjadi kenaikan aktivitas enzyme yang puncaknya terjadi pada pH 6 dan kemudian menurun pada pH 6.5. Aktitas tertinggi pada pH 6 dan waktu inkubasi hari ke4 menghasilkan aktivitas enzim sebesar 15.33 UI/ml kemudian pada pH 6.5 menurun menjadi 15.19 UI/ml. sedangkan untuk pH 5 dan 5.5 aktivitas enzyme berturut-turut sebesar 12.90 UI/ml dan 15.14 UI/ml.

Enzim merupakan suatu protein yang memiliki aktifitas biokimiawi sebagai katalis suatu reaksi. Karena merupakan suatu protein, enzim ini sangat rentan terhadap kondisi lingkungan. Adanya perubahan Konsentrasi substrat atau pH lingkungan akan mengakibatkan aktivitas enzim ikut mengalami perubahan meskipun masih banyak juga hal lain yang dapat mempengaruhi aktivitas enzyme misalnya temperature atau komposisi media. Karena itu tiap enzim yang mempunyai pH dan temperatur tertentu yang menyebabkan aktifitasnya mencapai keadaan optimum. Kondisi pH dan temperatur yang optimum akan mendukung enzim dalam melakukan katalisa suatu reaksi dengan baik. Sedangkan

temperatur dan pH yang kurang sesuai akan mengakibatkan kerusakan atau tidak aktifnya protein dalam suatu enzim sehingga menyebabkan fungsi dan aktifitas dari enzim tersebut berkurang.

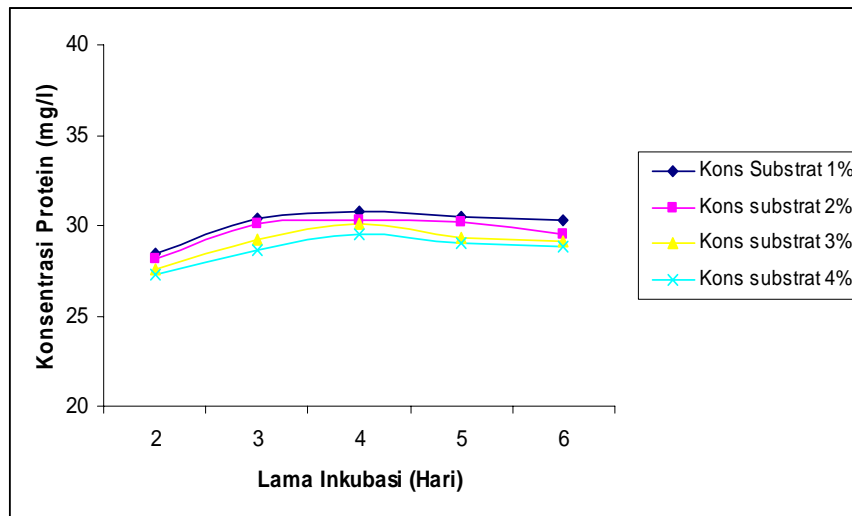
Pada penelitian ini didapatkan kondisi optimum pada konsentrasi substrat 1 % dan untuk waktu inkubasi didapatkan waktu inkubasi yang optimum pada hari ke 4. Pada uji pH diperoleh aktivitas enzyme yang tinggi pada pH 6.

Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Konsentrasi Protein

Tujuan dari pengujian protein ini adalah untuk mengetahui jumlah protein yang terkandung dalam crude enzim xylanase dan menghitung aktifitas spesifik enzim tersebut. Dengan mengetahui aktifitas spesifik enzim dapat diketahui besarnya aktifitas enzim dalam protein.

Protein yang terlarut dalam media fermentasi perlu diukur untuk mengetahui jumlah protein enzim yang disintesis oleh mikroba dan untuk menghitung aktifitas spesifik enzim. Namun protein terlarut yang terukur tidak mutlak mencerminkan bahwa yang terukur semuanya enzim yang disintesis oleh mikroorganisme, karena di dalam media juga mengandung protein terlarut berupa sisa media (yeast ekstrak) atau hasil metabolisme protein mikroorganisme yang disekresikan. Selain itu tidak semua protein enzim adalah kelompok dari xylanase.

Berikut ini adalah grafik hubungan konsentrasi protein yang dihasilkan oleh *Aspergillus Niger* dengan konsentrasi substrat dan lama waktu inkubasi yang ditunjukkan pada grafik 4.3

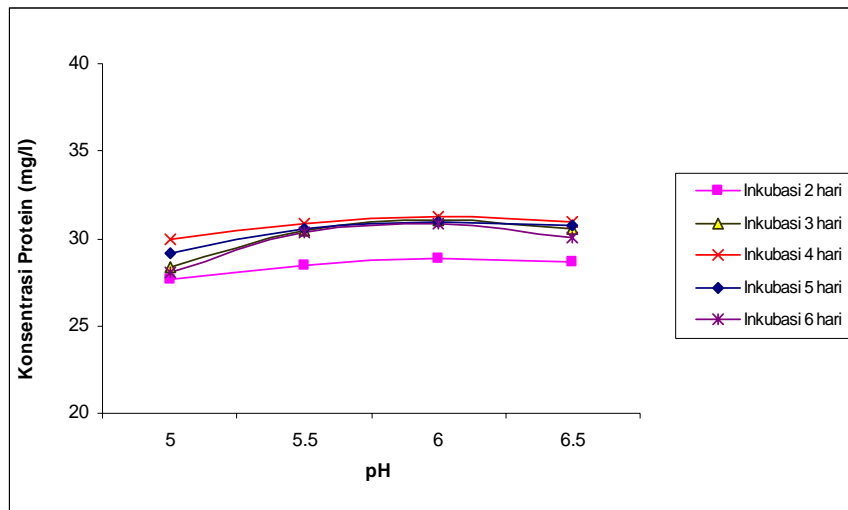


Grafik 4.3 Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Konsentrasi Protein

Penentuan kadar protein pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode Lowry. Dari Grafik 4.3 dijelaskan dengan bertambahnya lama inkubasi, kadar protein akan naik sampai waktu 4 hari. Setelah 4 hari kadar protein cenderung konstan. Kadar protein yang tertinggi didapatkan pada konsentrasi substrat 1% dengan lama inkubasi 4 hari.

Pengaruh pH Terhadap Konsentrasi Protein

Pengaruh pH terhadap konsentrasi protein dengan berbagai lama waktu inkubasi ditunjukkan pada grafik 4.4.



Grafik 4.4 Pengaruh pH dan waktu inkubasi Terhadap Konsentrasi Protein

Pada grafik 4.4 dijelaskan bahwa pengaruh pH terhadap kadar protein tidak terlalu signifikan. Sedangkan terhadap waktu inkubasi pengaruh pH cukup signifikan. Dalam penelitian ini pH 6 merupakan pH optimum sehingga didapatkan kadar protein yang tertinggi dengan lama inkubasi 4 hari.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Kandungan lignoselulosa pada jerami padi dapat dimanfaatkan menjadi enzim xilanase.
2. Pada variasi konsentrasi substrat didapatkan bahwa konsentrasi substrat 1% mempunyai nilai aktivitas enzim tertinggi saat media diinkubasikan selama 4 hari, dengan nilai aktivitas enzim sebesar 15.14 UI/ml. Pada variasi pH media, didapatkan pH optimum untuk aktivitas enzim adalah pH 6, dengan waktu inkubasi selama 4 hari dan nilai aktivitas enzimnya sebesar 15.33 UI/ml.
3. Kondisi optimum untuk produksi enzim xilanase dapat dicapai saat konsentrasi substrat 1% dengan pH media 6 dan waktu inkubasi selama 4 hari.

Saran

1. Untuk penelitian lebih lanjut, perlu dilakukan aplikasi enzim xylanase dalam degradasi hemiselulosa, dan perlu dilakukan juga penelitian mengenai konversi xylose menjadi ethanol sehingga dapat dijadikan suatu alternatif dalam produksi bahan bakar.
2. Perlu dilakukan pemilihan jenis strain lain yang benar-benar spesifik dalam menghasilkan enzim xylanase yang bebas enzim selulase

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa atas petunjuk yang telah diberikan – Nya, Bapak Dr.Ir.Abdullah, MS selaku dosen pembimbing atas bimbingan selama ini yang telah diberikan serta semua pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bailey, M.J., and Poutanen, K. 1989 . “Production of Xylanolytic Enzymes by Strains *Aspergillus*” ,Applied Microbiology and Biotechnology.30. 5-10.
- Bajpai, P. 1999. “Application of Enzyme in The Pulp and Paper Industri”. J. Biotechnol. Prog. 15, 147-155.
- Bapedal. 1995. Keputusan Kepala Bapedal No: Kep-03/BAPEDAL/09/1995 Tentang Persyaratan Teknis Pengolahan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun. Jakarta.
- Biely, Peter. 1985. Microbial Xylanolytic Systems. Trends in Biotechnology. Vol.3, No.11. Amsterdam : ElsevierScience publisher B.V.
- Christov L. P., et al.1996. Impact of Xylanase and Fungal Pretreatment on Alkali Solubility and Brightness of Dissolving Pulp. New York : Walter de Gruyter.
- Dwijoseputro, D., Prof . Dr. 1984, Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta : Djambatan.
- Fengel, D dan Wegerner, G. 1984. Kayu: Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi. Yogyakarta : Gajah Mada University Press.
- Gawande, P.V dan Kamat, M.Y. 1999. “Production of *Aspergillus xylanase* by lignocellulosic waste fermentation and its application”. Journal of Applied Microbiology. 87, 511 – 519.
- Gideon, Deddy. 2005. Produksi Enzim Xylanase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* Menggunakan Kultur Campuran. Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya.
- Guitierrez-Correa, M., Tengerdy, R.p. 1998. Xylanase Production By Fungal Mixed Culture Solid State Fermentation On Sugar Cane Baggase. Biotechnol. Lett. 20, 45-47
- Jeffries W. Thomas Ph. D. 1996. Enzyme Technology for Bleaching and Deinking. USDA Forest Products Laboratory, One Pinchot Drive Madison.
- Miller, G.L., 1959 ,” Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar”. Analytical Chemistry. 31, 426-428.
- Ratanakhanokchai K dkk, 1999. ”Purification and Properties of a Xylan-Binding Endoxylanase from Alkaliphilic *Bacillus* sp. Strain K-1”, APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, p. 694–697
- S.Y. Park, S.W. Kang, J.S. Lee, S.I. Hong, Kim SW. 2002 “Xylanase Production in Solid State Fermentation by *Aspergillus niger* Mutant Using Statistical Experimental Design”. App. Microbiol.Biotechnol. page 761-766.
- Shrinath, S.A dan Bowen, J.I. 1995. “An overview of AOX regulations and reduction strategies”. Environmental Issues and Technology in the Pulp and Paper Industry. Thomas W Joyce (editor). hal. 31-36.
- Stromberg, L., Mork, R., Filipe desausa, and Dalman, O. 1996. “Effect of International Process Changes and external treatment of effluent chemistry”. Environmental Fate and Effect of Pulp and Paper Mill Effluents. Florida : St. Lucie Press..
- Widjaja, A dan Sandjaja, A.R. 2004. Produksi Enzim Xilanase dari *Aspergillus niger* ATCC 6275 pada Media Fermentasi Terendam dengan Substrat dedak Gandum. Seminar Nasional Fundamental dan Aplikasi Teknik Kimia. ITS Surabaya.
- Widjaja, A., Hetik dan Susiana. 2001 “Produksi Enzim Xilanase dengan Metode Fermentasi media padat”. Prosiding Seminar Nasional Fundamental dan Aplikasi Teknik Kimia. Surabaya.
- Widjaja, A., Musfil, AS. dan Gunawan, S. 2005 “Kinetika Dan Mekanisme Reaksi Degradasi Lignin Melalui Degradasi Hemiselulosa Oleh Enzim Xilanase Dari *Aspergillus niger* Dalam Rangka Industri Pulp Dan Kertas Ramah Lingkungan”. Laporan Kegiatan Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.