

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Analisis Kimia Bagasse Tebu

Bagasse tebu merupakan limbah lignoselulosa yang keberadaannya melimpah dan sangat potensial digunakan sebagai substrat dalam produksi enzim xilanase. Bagasse tebu sebelum digunakan sebagai substrat pada media fermentasi padat sangatlah perlu diketahui kandungan bahan kimianya. Hasil analisis kimia bagasse tebu yang digunakan sebagai substrat pada penelitian ini adalah berkadar air 7.35 %, protein kasar 2.18%, lemak kasar 1.64% dan kadar abu 3.57%, dimana hasil tersebut merupakan % berat kering dan rata-rata dari dua kali ulangan.

Analisa kandungan kimia bagasse tebu telah dilakukan oleh Tim Industri Pertanian IPB (1984) menghasilkan protein kasar 2,04%, lemak kasar 1.78% dan kadar abu 3,62%. Hasil analisa kimia pada penelitian ini dibandingkan dengan hasil analisa kimia pada penelitian tersebut, adalah hampir sama. Bagasse tebu yang megandung protein dapat digunakan sebagai media fermentasi produksi enzim xilanase. Hal ini dikarenakan protein dapat digunakan sebagai sumber nitrogen.

Produksi enzim xilanase yang menggunakan substrat bahan lignoselulosa alami selalu ditambahkan senyawa nutrisi yang mengandung unsur nitrogen, karbon, calsium dan unsur logam seperti Mg dan Zn. Penambahan nutrisi ditujukan untuk meningkatkan produksi enzim (Mendels dan Reese 1957). Penggunaan bagasse tebu sebagai substrat produksi enzim xilanase pada

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.

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

penelitian ini juga ditambahkan komponen nutrisi Mendels sebagai larutan pengatur kadar air.

B. Pengaruh Delignifikasi

Lignin merupakan senyawa polimer yang berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa pada jaringan tanaman. Lignin tidak pernah ditemukan dalam bentuk sederhana diantara polisakarida-polisakarida dinding sel, tetapi selalu berikatan dan bergabung dengan polisakarida tersebut. Polisakarida merupakan prerequisite terbentuknya makromolekul lignin diantara dinding sel tanaman. Hubungan molekular ketiga komponen lignin, hemiselulosa dan selulosa pada sel tanaman adalah berupa kompleks lignin-polisakarida. Pada kenyataannya ketiga komponen ini tidak dapat dipisahkan secara sempurna dengan teknik pemisahan dan pemurnian yang khusus. Pada selulosa atau hemiselulosa yang telah dimurnikan selalu ditemukan lignin (Fengel dan Wegener 1984)

Adanya lignin pada struktur kristal lignoselulosa jaringan tanaman dapat membatasi hidrolisis hemiselulosa oleh enzim atau asam. Proses delignifikasi adalah suatu cara penguraian lignin yang sering diaplikasikan pada bahan lignoselulosa limbah pertanian. Pemanfatan bahan lignoselulosa sebagai substrat atau media pada produksi enzim, bahan lignoselulosa didelignifikasi terlebih dahulu supaya tingkat kristalisasi bahan lignoselulosa menurun. Tingkat kristalisasi polimer lignoselulosa yang sudah rapuh mengakibatkan proses sintesis enzim lebih efektif.

Delignifikasi pada penelitian ini selain bertujuan untuk menurunkan kandungan lignin juga bertujuan memutuskan ikatan antar komponen

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.

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

lignoselulosa yang meliputi lignin, selulosa dan hemiselulosa. Bagasse tebu yang sudah didelignifikasi akan lebih mudah dimanfaatkan oleh *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 untuk memproduksi enzim xilanase. Hal ini dikarenakan tingkat polimerisasi kristal lignoselulosa menurun dan hemiselulosa yang berperan sebagai penginduksi sintesis enzim xilanase dapat berfungsi lebih optimal.

Delignifikasi bagasse tebu dilakukan secara mikrobiologi yakni dengan menumbuhkan jamur pelapuk putih PSM 01. Pada proses ini bagasse tebu mengalami penguraian lignin yang ditunjukkan oleh adanya aktivitas enzim lacase (E.C. 1.10.3.2) sebesar 15,6 unit /gr. Enzim lacase adalah merupakan salah satu enzim pendegradasi lignin. Pemilihan jamur pelapuk putih PSM 01 didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Prasetya (1996), yang pada penelitiannya jamur tersebut telah berhasil menurunkan kadar lignin sebanyak 20% yang digunakan pada substrat kraft pulp.

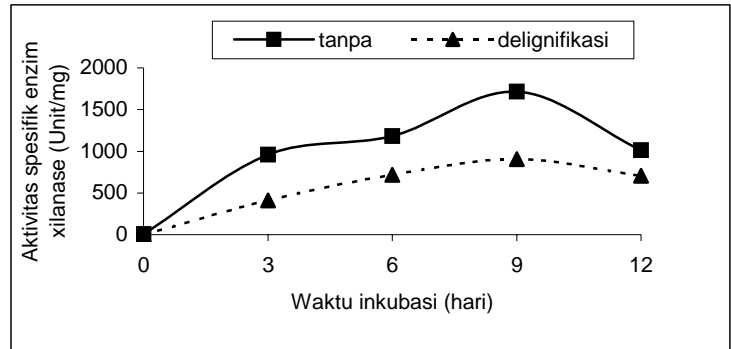
Pengaruh delignifikasi terhadap aktivitas enzim xilanase selama fermentasi dengan kadar air awal 65% digambarkan pada gambar 5. Hasil pengamatan dan analisis uji statistik dapat disimpulkan bahwa proses delignifikasi tidak berpengaruh terhadap kenaikan aktifitas enzim xilanase (α 0,05) (lampiran 6). Produksi enzim xilanase pada bagasse tebu yang tidak didelignifikasi memberikan aktivitas enzim yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan aktivitas enzim pada bagasse tebu yang didelignifikasi. Walaupun lignin yang ada pada bagasse tebu telah terdegradasi tetapi aktivitas enzim xilanase yang dihasilkan tidak mengalami peningkatan.

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.

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



Gambar 5. Pengaruh proses delignifikasi terhadap aktivitas spesifik enzim xilanase pada media fermentasi dengan kadar air awal 65 %.

Produksi enzim xilanase dengan kadar air awal 80% pada bagasse tebu yang didelignifikasi menghasilkan aktifitas enzim xilanase lebih tinggi bila dibandingkan dengan pada bagasse tebu tanpa delignifikasi pada hari ke 2 (lampiran 4). Hal ini diduga karena pada kandungan air yang tinggi dan adanya lignin dan hemiselulosa bebas dapat memacu sintesis enzim xilanase oleh *Thermomyces lanuginosus* IFO 150. Pada hari ke 6, aktivitas xilanase pada bagasse tebu yang didelignifikasi lebih kecil dari aktivitas xilanase pada bagasse tebu tanpa delignifikasi, diduga pada saat tersebut lignin dan hemiselulosa bebas sudah tidak tersedia, akibatnya kapang harus melakukan penguraian substrat bagasse tebu.

Proses delignifikasi yang dilakukan dalam penelitian ini secara keseluruhan tidak berpengaruh terhadap peningkatan aktivitas enzim xilanase *Thermomyces lanuginosus* IFO 150, sehingga proses produksi enzim xilanase dipilih media bagasse tebu yang tidak didelignifikasi.

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.

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

Delignifikasi sebagai perlakuan awal dalam produksi enzim xilanase, juga dilakukan oleh peneliti lain. Berbagai penelitian ternyata menghasilkan pengaruh bervariasi terhadap aktivitas enzim xilanase yang dihasilkan. Doppelbauer *et.al.* (1987) melakukan delignifikasi terhadap berbagai limbah lignoselulosa sebelum digunakan untuk produksi enzim xilanase dan selulosa dengan *Trichoderma reesei*. Hasilnya menunjukkan adanya penurunan kadar lignin, akan tetapi pada saat produksi enzim tidak menyebabkan tingginya aktivitas kedua enzim tersebut. Irawadi (1991) melakukan delignifikasi dengan cara kimiawi terhadap substrat tandan kelapa sawit dalam produksi enzim xilanase dan selulase. Ternyata turunnya kadar lignin tidak dapat meningkatkan aktivitas enzim xilanase. Sebaliknya Gomes *et.al.* (1994) yang menggunakan *T. aurantiacus* dalam produksi enzim xilanase, menyatakan bahwa perlakuan delignifikasi berpengaruh positif terhadap aktivitas enzim xilanase yang dihasilkan. Jain (1995) melakukan produksi enzim xilanase dari *Thermophilic melanocarpus albomyces Iis-68*. Sebelum enzim xilanase diproduksi, berbagai substrat diberi perlakuan awal dengan alkali dan penghilangan lignin dengan asam asetat dan klorat. Ternyata pada substrat jerami gandum dan bagasse tebu (kandungan lignin rendah) perlakuan tersebut tidak meningkatkan aktivitas enzim xilanase, tetapi pada kulit ari beras dan jerami padi (kandungan lignin dan silika yang tinggi) perlakuan tersebut dapat meningkatkan aktivitas enzim xilanase.

Proses delignifikasi yang disebutkan diatas adalah dengan cara kimia seperti dengan alkali, asam klorat, asam asetat dan peroksida. Delignifikasi pada penelitian ini dilakukan secara mikrobiologi yaitu jamur pelapuk putih yang

dinilai efektif dalam menghilangkan lignin (Kirk dan Chang 1980). Bagasse tebu sebelum digunakan dalam produksi enzim ditumbuhkan jamur pelapuk putih PSM01. Hasil yang diperoleh adalah proses delignifikasi tidak meningkatkan aktivitas enzim xilanase pada saat produksi. Ketidakmampuan delignifikasi dalam peningkatan aktivitas enzim xilanase diduga proses delignifikasi bagasse tebu oleh jamur pelapuk putih PSM 01 tidak optimal. Tidak optimalnya PSM 01 dalam delignifikasi mungkin dikarenakan lignin yang terdapat pada bagasse tebu sulit didegradasi oleh PSM 01, terbukti aktivitas lakase PSM 01 sebesar 15,6 Unit/gr. Sedangkan pada substrat *acacia mangium*, lakase PSM 01 dapat memiliki aktivitas 60,8 Unit/mg.

Ketidakmampuan delignifikasi dalam meningkatkan aktivitas enzim xilanase *Thermomyces lanuginosus* pada substrat bagasse tebu kemungkinan juga disebabkan oleh kandungan lignin pada bagasse tebu yang rendah (13-30%), sedangkan kandungan hemiselulosanya tinggi (25-50) (Hardjo 1989), sehingga proses delignifikasi tidak berpengaruh pada aktivitas enzim xilanase. Berdasarkan hal tersebut maka dapat disimpulkan bahwa produksi enzim xilanase *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 dapat berlangsung pada substrat bagasse tebu tanpa perlakuan delignifikasi.

C. Pengaruh Kadar Air Awal Media Fermentasi

Tahap ini ditujukan untuk mempelajari pengaruh kadar air awal media fermentasi terhadap aktivitas enzim xilanase yang dihasilkan. Produksi enzim xilanase dilakukan dengan berbagai macam kadar air media yaitu sebesar 50%,

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.

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

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

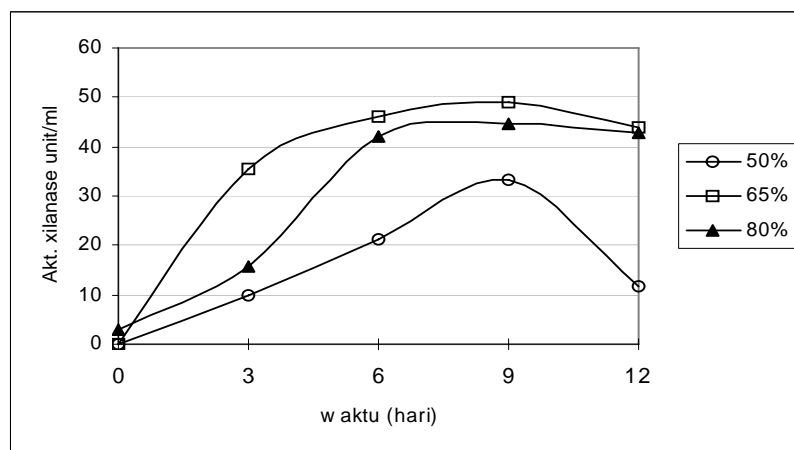
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- 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.

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

65% dan 80%. Selama fermentasi dilakukan pengamatan aktivitas enzim xilanase pada filtrat enzim yang dihasilkan. Pengamatan terhadap pengaruh kadar air awal media dilakukan pada dua jenis substrat yaitu bagasse tebu yang tidak didelignifikasi dan bagasse tebu yang didelignifikasi.

Kadar air awal media pada produksi enzim xilanase ternyata berpengaruh secara nyata (α 0.05) terhadap aktivitas enzim xilanase yang dihasilkan. Keberadaan air yang mengandung medium Mendels berpengaruh pada proses sintesis enzim yang dilakukan oleh kapang *T. lanuginosus* IFO 150. Masing-masing kadar air awal media 50%, 65%, dan 80% menghasilkan aktivitas xilanase sebesar 33.14, 48.89 dan 44.82 Unit/ml untuk media yang tidak didelignifikasi (gambar 6). Sedangkan aktivitas enzim xilanase pada media yang didelignifikasi memberikan hasil pada masing-masing kadar air awal tersebut adalah 12.34, 45.24 dan 41.63 Unit/ml (gambar 7).



Gambar 6. Pengaruh kadar air awal media fermentasi terhadap aktivitas enzim pada media bagasse tebu yang tidak didelignifikasi.

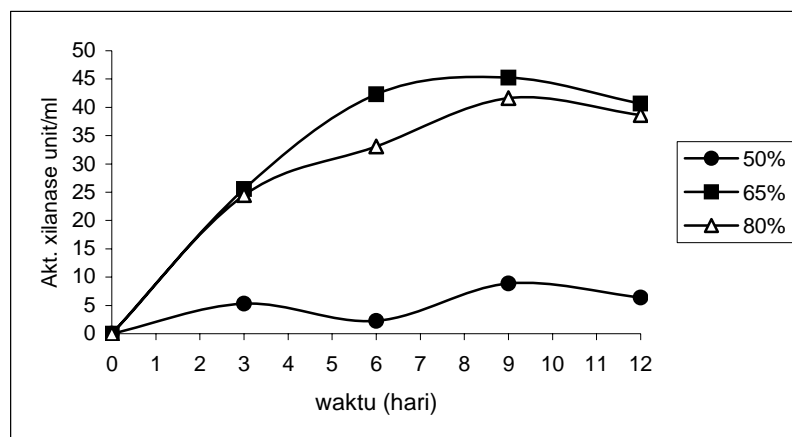
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- 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.

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

Pada gambar 6 terlihat bahwa terjadi kenaikan aktivitas enzim xilanase pada media dengan kadar air awal 65%. Produksi enzim xilanase dengan media berkadar air awal 80% menghasilkan aktivitas enzim yang lebih rendah dibandingkan dengan media yang berkadar air awal 65%. Selisih aktivitas enzim pada awal fermentasi adalah lebih besar akan tetapi mulai hari ke 6 perbedaan tersebut tidak begitu besar. Produksi xilanase dengan media berkadar air awal 50% memberikan hasil aktivitas enzim yang sangat rendah. Adanya perbedaan aktivitas enzim xilanase tersebut dikarenakan ketersediaan air yang terdapat dalam media mempengaruhi kerja dari kapang dalam mensintesis enzim xilanase. Kapang *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 dapat bekerja secara optimal pada media fermentasi dengan kadar air awal 65%

Selain jumlah air, keberadaan nutrisi berupa media Mendels yang ditambahkan ke dalam larutan pengatur kadar air juga dapat mempengaruhi proses sintesis enzim. Penambahan nutrisi Mendels pada media berkadar air awal 65% menghasilkan aktivitas enzim xilanase tertinggi.



Gambar 7. Pengaruh kadar air awal media fermentasi terhadap aktivitas enzim pada media bagasse tebu yang didelignifikasi.

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.

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

Pada media bagasse tebu yang didelignifikasi, aktivitas enzim xilanase paling tinggi dicapai oleh fermentasi dengan kadar air awal 65%. Fermentasi dengan kadar air awal 50% menghasilkan aktivitas xilanase paling rendah. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kadar air awal 65% memberikan peningkatan aktivitas enzim xilanase secara nyata (α 0.05) (lampiran 6). Berdasarkan hasil tersebut maka dapat disimpulkan bahwa media yang dipilih dalam fermentasi produksi enzim xilanase adalah berkadar air 65%.

Penelitian tentang pengaruh kadar air awal media pada proses produksi enzim xilanase telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Penelitian yang menggunakan jamur *Aspergillus fumigatus* dan *Humicola lanuginosa* pada media tongkol jagung memperoleh kadar air awal optimum 65% (Kitpreechavanich *et al.* 1984), sedangkan dengan jamur *T. lanuginosus* diperoleh kadar air optimum 70% (Purkarthofer *et al.* 1994). Demikian juga Irawadi (1991) yang memproduksi xilanase dengan media tandan kosong kelapa sawit dan sabut kelapa dengan jamur *Neurospora sitophila* menggunakan kadar air awal media 70%. Selain itu penelitian oleh Alam *et al.* (1994) pada media ampas gandum dengan jamur *Thermoascus aurantiacus* digunakan kadar air awal 50%. Pada penelitiannya Alam menggunakan variasi kadar air awal media dari 20% sampai 100%, ternyata pada kadar air awal media 50% dicapai aktivitas enzim xilanase paling tinggi dan diikuti konsentrasi protein terlarut yang tertinggi.

Perbedaan kadar air optimum pada penelitian ini dengan penelitian tersebut selain disebabkan oleh jenis jamur yang digunakan berbeda, juga

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

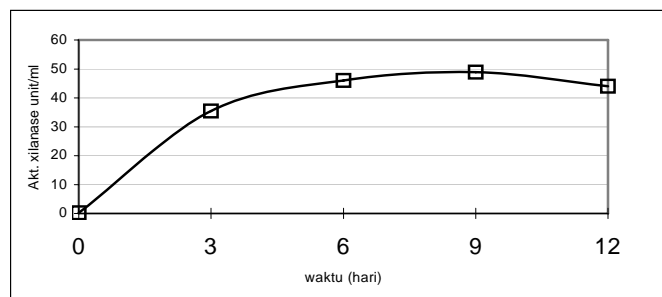
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

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

disebabkan oleh perbedaan kemampuan menyerap air dari bagasse tebu yang lebih kecil bila dibandingkan dengan tandan sawit dan tongkol jagung.

D. Penentuan Waktu Fermentasi

Tahapan penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu fermentasi optimum dalam produksi enzim xilanase dengan menggunakan media bagasse tebu. Fermentasi produksi enzim xilanase dengan media bagasse tebu yang tidak didelignifikasi dan kadar air awal 65% dilakukan selama 12 hari. Hasil aktivitas enzim xilanase selama fermentasi dapat dilihat pada gambar 8. Pada gambar tersebut terlihat bahwa terjadi kenaikan aktivitas xilanase yang tinggi pada 3 hari pertama. Kenaikan aktivitas enzim mulai mendekati konstan pada hari ke enam. Aktivitas xilanase tertinggi dicapai pada hari ke 9 dan pada hari ke 12 mulai terjadi penurunan. Karena aktivitas enzim xilanase tertinggi dicapai pada hari ke 9 maka waktu fermentasi yang digunakan dalam produksi enzim xilanase adalah 9 hari.



Gambar 8. Pengaruh waktu terhadap aktivitas enzim xilanase

Pada tahap ini juga dilakukan pengamatan terhadap kadar glukosa sisa dan kadar protein filtrat enzim selama fermentasi. Hal ini untuk mengetahui

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

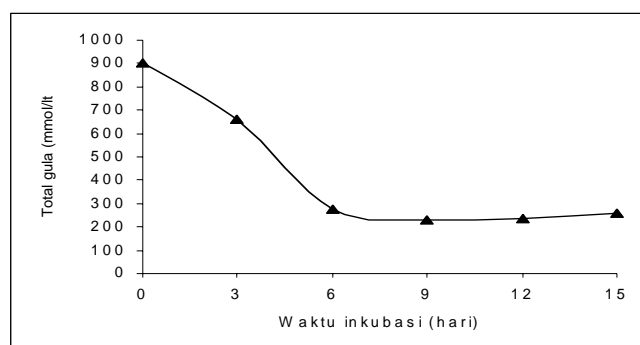
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- 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.

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

berlangsungnya proses metabolisme yang terjadi pada *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 dan aktivitas spesifik enzim xilanase.

Glukosa sisa yang terdapat pada filtrat enzim diukur sebagai total gula tereduksi dengan metode Somogy-Nelson, dimana gula yang terukur adalah seluruh gula yang terdapat dalam filtrat enzim baik yang sudah terdapat dalam media maupun hasil metabolisme mikroba selama fermentasi. Pada gambar 9 disajikan grafik kadar total gula pereduksi selama fermentasi. Terlihat bahwa kadar total gula pereduksi menurun sejak awal fermentasi sampai dengan hari ke 9 fermentasi, dan pada hari berikutnya tidak terlihat lagi perubahan kadar gulanya. Hasil ini membuktikan bahwa selama fermentasi dengan waktu inkubasi 12 hari terjadi aktivitas proses metabolisme pada kapang *Thermomyces lanuginosus* IFO 150. Pada proses tersebut terjadi pemanfaatan glukosa dan gula sederhana lainnya yang terdapat dalam media, baik yang merupakan produk hidrolisis enzim maupun yang terdapat pada media sebelum fermentasi, sebagai sumber karbon. Glukosa dan monosakarida lainnya merupakan sumber karbon yang paling mudah dimanfaatkan oleh kapang (Irawadi 1991).



Gambar 9. Kadar total gula tereduksi selama fermentasi

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.

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

Pola penurunan kadar total gula pereduksi selama fermentasi pada penelitian ini sama dengan penelitian yang dilakukan Irawadi (1991). Semakin lama waktu fermentasi, kadar total gula makin menurun dan stabil pada waktu optimumnya. Penurunan kadar total gula tereduksi menunjukkan bahwa penggunaan gula untuk pertumbuhan sel kapang lebih besar apabila dibandingkan dengan pembentukan gula akibat hidrolisis enzim.

Hasil pengukuran kadar protein dan sekaligus aktivitas spesifik enzim xilanase selama fermentasi dapat dilihat di lampiran 5. Aktivitas spesifik enzim xilanase meningkat dari awal fermentasi sampai hari ke 9. Hal ini menunjukkan bahwa laju sintesis enzim xilanase dipengaruhi oleh waktu fermentasi, pada awal fermentasi sintesis xilanase lebih tinggi karena hemiselulase yang bersifat larut dalam air ketersediaanya melimpah walaupun belum terjadi pemecahan pada substrat bagasse tebunya.

Kadar protein terlarut yang terdapat dalam filtrat enzim selama fermentasi tidak begitu banyak mengalami perubahan. Hal ini disebabkan karena protein selain digunakan oleh kapang sebagai sumber nitrogen, juga disintesa selama pertumbuhannya. Berdasarkan aktivitas spesifik yang meningkat sejalan dengan waktu fermentasi diduga bahwa semakin kecil kemungkinan disintesisnya enzim lain selain xilanase oleh kapang.

Analisis statistik pada α 0,05 menyatakan waktu fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas enzim xilanase. Didukung dengan analisa glukosa sisa dan analisa protein terlarut maka dapat ditentukan bahwa waktu optimum untuk fermentasi dalam produksi enzim xilanase dengan kapang *Thermomyces*

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.

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

lanuginosus IFO 150 adalah 9 hari. Aktivitas enzim xilanase yang dihasilkan pada kondisi tersebut adalah 48,88 U/ml atau 1685,54 Unit/mg

Penelitian lain yang menggunakan media bagasse tebu dan jamur *Aspergillus ochraceus* dalam produksi xilanase, mendapatkan waktu optimum fermentasi 16 hari dengan aktivitas sebesar 18,6 Unit/ml (Biswas *et al.* 1988). Selain itu Kadowaki *et al.* (1997) yang menggunakan jamur *Aspergillus tamarii* pada media bagasse tebu dengan fermentasi basah, diperoleh waktu optimum pada hari ke lima dengan aktivitas 16,7 Unit/ml. Demikian juga produksi enzim xilanase dengan jamur *Aspergillus awamori* diperoleh waktu optimum 2,5 hari dengan aktifitas xilanase sebesar 100 Unit/ml (Lemos dan Perera 2002).

Penggunaan *Thermomyces lanuginosus* dalam produksi enzim xilanase dengan media tongkol jagung pada penelitian lain, mendapatkan waktu fermentasi optimum 9 hari dengan aktivitas sebesar 337.000 nkat/g (Purkarthofer *et al.* 1993). Apabila dibandingkan dengan beberapa penelitian tersebut, hasil yang diperoleh dalam penelitian ini memiliki tingkat aktivitas enzim yang tidak jauh berbeda. Aktifitas enzim pada penelitian ini adalah lebih tinggi dibandingkan hasil yang diperoleh Biswas *et al.* (1988) dan Kadowaki *et al.* (1997), tetapi lebih rendah bila dibandingkan hasil penelitian Lemos dan Pereira (2002). Perbedaan ini disebabkan jenis jamur yang digunakan berbeda serta kondisi fermentasi yang bervariasi sehingga tidak dapat dibandingkan secara langsung. Pemakaian jamur *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 memiliki kelebihan dibandingkan dengan jamur lain karena memiliki kemampuan mendegradasi xilan (xilanase) tanpa diikuti aktivitas selulase.

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.

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

Aktivitas enzim xilanase *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 yang ditumbuhkan pada media bagasse tebu dalam penelitian ini adalah 1685.54 U/mg. Aktivitas enzim xilanase tersebut lebih tinggi bila dibandingkan dengan aktivitas xilanase *T lanuginosus* (72,8 U/mg) pada media xilan murni (Gomes 1993). Hal ini menunjukkan bahwa bagasse tebu dapat dijadikan alternatif media pengganti xilan murni dalam produksi enzim xilanase, sebagaimana tongkol jagung dan juga ampas gandum.

E. Karakterisasi Enzim

Tahapan penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat-sifat dari *crude* enzim yang dihasilkan. Setiap enzim yang diproduksi pada jenis substrat tertentu dan mikroorganisme tertentu akan memiliki sifat dan cara kerja yang berbeda-beda. Salah satu sifat enzim yang sangat penting adalah stabilitas. Stabilitas enzim dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah waktu penyimpanan, suhu, pH dan senyawa-senyawa yang dapat meningkatkan atau menurunkan aktivitas enzim. Sedangkan berhubungan dengan cara kerja enzim maka aktivitas optimum juga sangatlah penting untuk diketahui. Aktivitas optimum enzim juga dipengaruhi oleh suhu dan pH. Setiap enzim akan memiliki sifat khas berupa aktivitas optimum dan stabilitas enzim. Sifat itulah yang akhirnya disebut sebagai karakter suatu enzim yang dapat membedakan dengan enzim lain.

Beberapa sifat enzim xilanase dari *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 yang diproduksi pada bagasse tebu yang ingin diketahui dalam penelitian ini adalah aktivitas optimum pada berbagai suhu dan pH reaksi, stabilitas enzim

akibat perubahan pH dan suhu penyimpanan serta pengaruh penambahan ion logam.

E.1. Pengaruh suhu terhadap aktivitas dan stabilitas enzim

Penentuan suhu optimum aktivitas enzim sangat diperlukan dalam penerapan suatu enzim, sebab pada suhu yang terlalu rendah kestabilan enzim tinggi tetapi aktivitasnya rendah, sedangkan pada suhu yang terlalu tinggi aktivitas tinggi tetapi kestabilannya rendah.

Aktivitas enzim dibawah pengaruh suhu tertentu dapat dinyatakan dengan aktivitas relatif dan aktivitas sisa. Pada penelitian ini dipilih aktivitas relatif untuk penentuan suhu optimum dan termostabilitas enzim xilanase *Thermomyces lanuginosus* IFO 150. Aktivitas relatif adalah hasil bagi antara aktivitas enzim pada kondisi (suhu, pH dan waktu) tertentu dengan aktivitas enzim pada suhu optimum.

Aktivitas enzim xilanase *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 dalam menghidrolisis xilan dengan mediator bufer fosfat 0,2 M pH 6, menunjukkan aktivitasnya pada kisaran suhu 50 °C sampai 80 °C. Aktivitas xilanase optimum dicapai pada suhu reaksi 65 °C (gambar 10 B). Stabilitas enzim xilanase terhadap suhu penyimpanan adalah bersifat termostabil. Terbukti enzim tidak kehilangan aktivitas pada suhu dibawah 60°C. Pada suhu 70°C masih menunjukkan adanya aktivitas relatif sebesar 79,7% (gambar 10 A).

Enzim xilanase *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 merupakan enzim yang bersifat termofilik karena memiliki aktivitas optimum pada suhu diatas 55°C

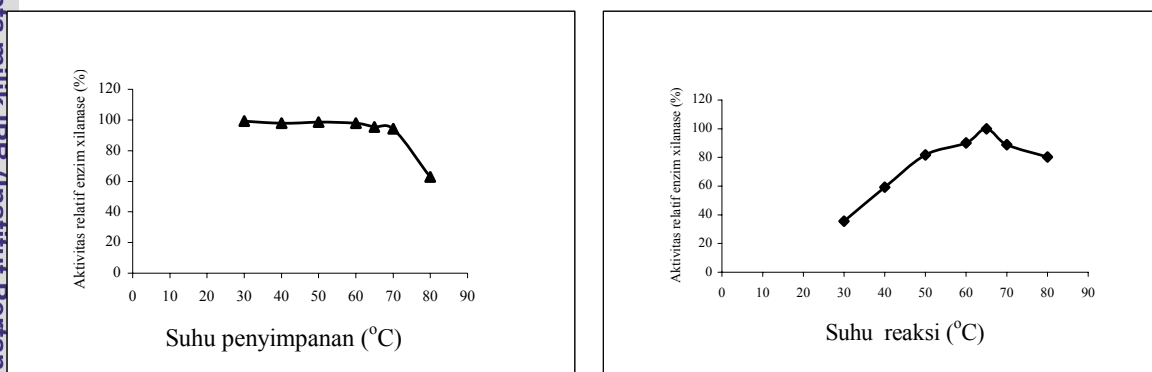
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

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.

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

(Yu *et al.* 1987). Kemampuan aktivitas enzim termofilik pada suhu tinggi disebabkan oleh banyaknya jembatan disulfida pada struktur protein enzim, sehingga dibutuhkan suhu tinggi untuk pengaktifanya. Sebaliknya pada enzim yang optimum pada suhu rendah, terjadi pelipatan asam amino sistein pada sisi aktif enzim akibat denaturasi protein pada saat suhu tinggi (Kulkarni *et al.* 1999).



Gambar 10. Karakteristik enzim xilanase akibat perubahan suhu.

Sifat stabilitas terhadap perubahan suhu menunjukkan bahwa enzim xilanase dari *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 termasuk termostabil. Salah satu penyebab sifat termostabilitas enzim tersebut adalah kemampuan mempertahankan diri dari denaturasi protein oleh pengaruh panas. Leningher (1995) menyatakan bahwa denaturasi protein menyebabkan susunan tiga dimensi dari rantai polipeptida enzim terganggu, molekul tersebut terbuka menjadi struktur acak sehingga kehilangan aktivitas biologisnya, tanpa menyebabkan kerusakan pada kerangka kovalen.

Pada penelitian sebelumnya oleh Alam *et al.* (1994) menyatakan bahwa enzim xilanase dari *Thermoascus aurantiacus* memiliki aktivitas optimum pada

suhu 70°C. Produksi xilanase dari mikroba termofilik *B. acidocaldarius* dan *Clostridium thermolacticum* yang masing-masing diproduksi pada suhu 60 dan 65 °C mempunyai aktivitas maksimum pada suhu 80 °C (Kulkarni *et al.* 1999). Sedangkan Cesar dan Vladimir (1996) yang menggunakan substrat *wheat brand* memperoleh kondisi optimum pada suhu antara 60–70 °C. Kondisi optimum enzim xilanase *Thermomyces lanuginosus IFO 150* yang dicapai dalam penelitian ini hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Cesar (1996).

Proses kimia yang dapat menjelaskan peranan suhu pada sebuah reaksi enzimatik adalah bertambahnya suhu sampai dengan suhu optimum akan meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik karena bertambahnya energi kinetik yang mempercepat gerak vibrasi, translasi dan rotasi enzim dan substrat sehingga mempermudah keduanya untuk bereaksi. Sebaliknya pada suhu yang lebih tinggi dari suhu optimum maka akan terjadi perubahan konformasi protein enzim dan menyebabkan enzim inaktif. Karena pusat aktif enzim selalu terdiri dari beberapa residu asam amino yang terdapat dalam struktur tiga dimensi protein enzim, maka pembukaan rantai molekul protein menyebabkan kerusakan pusat yang aktif akibatnya enzim tidak aktif.

Pada suhu tinggi substrat juga mengalami perubahan konformasi sehingga sisi reaktifnya tidak dapat lagi atau mengalami hambatan dalam memasuki lokasi aktif enzim. Pada kondisi tersebut laju reaksi enzimatik akan mengalami penurunan.

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.

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

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.

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

E.2. Pengaruh perubahan pH terhadap aktivitas dan Stabilitas enzim

Suatu reaksi enzimatik dipengaruhi oleh pH sehingga diperlukan buffer untuk mengontrol pH reaksi. Enzim menyediakan banyak tempat untuk pengikatan proton karena enzim adalah protein yang tersusun oleh asam amino yang dapat mengikat proton pada gugus amino, karboksil dan gugus fungsional lain. Gugus fungsional pada sisi aktif yang dapat terionisasi memegang peranan penting pada suatu reaksi yang dikatalisa oleh enzim. Berubahnya pH lingkungan enzim maka akan mempengaruhi ionisasi dari gugus ionik enzim dan substrat.

Enzim yang memiliki aktivitas 12.42 Unit/ml digunakan untuk melakukan uji aktivitas pada berbagai pH reaksi, agar diketahui aktivitas optimumnya. Sedangkan untuk mengetahui stabilitasnya, enzim yang telah diinkubasi dalam berbagai pH dan disimpan selama 24 jam diuji aktivitas xilanasenya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktifitas enzim xilanase *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 dalam menghidrolisis xilan pada suhu 55 °C, bekerja dengan baik pada pH 5-8 dan mencapai aktivitas optimum pada pH 6.5 (gambar 11B). Berdasarkan hal tersebut enzim memiliki profil pada kisaran pH yang luas dan mengindikasikan bahwa xilanase tersebut diduga memiliki lebih dari satu sub unit gugus aktif (Irawadi 1991).

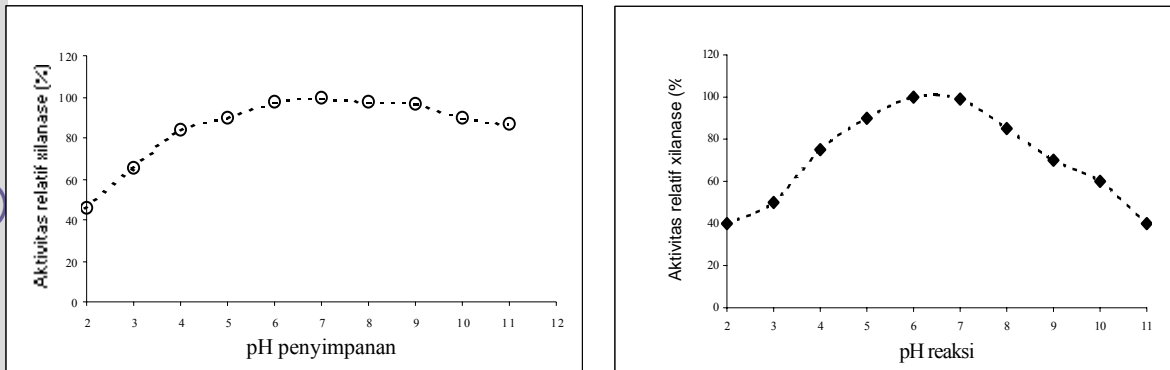
Stabilitas enzim xilanase *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 akibat perubahan pH adalah kurang stabil pada pH 2-4 (aktivitas relatif xilanase 40%) dan lebih stabil pada kisaran pH 6-11. Aktivitas relatif xilanase pada pH 5 adalah sebesar 90%, peningkatan aktivitas sampai pada pH 6.5 dan akhirnya menurun aktivitasnya sampai aktivitas relatif 87% pada pH 11 (gambar 11A).

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.

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



Gambar 11. Karakteristik enzim xilanase akibat perubahan pH.

Penelitian sebelumnya oleh Alam *et al.* (1994) menyatakan bahwa enzim xilanase dari *Thermoascus aurantiacus* memiliki kondisi optimum pada pH 5, dan enzim stabil pada pH 5-11. Sedangkan Cesar (1996) yang menggunakan substrat *wheat brand* dengan jamur *Thermomyces lanuginosus* memperoleh kondisi optimum pada pH 5-7, dan enzim relatif stabil pada pH 5-9. Dibandingkan dengan enzim xilanase lain, kelebihan enzim xilanase *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 yang diperoleh dari penelitian ini adalah memiliki kestabilan terhadap perubahan pH pada daerah pH basa atau alkali hal ini dapat meningkatkan penggunaan enzim xilanase pada proses pemutihan pulp yang memiliki kondisi alkali (Haltrich *etal.* 1996).

E.3. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim xilanase

Tahapan analisa pengaruh ion logam terhadap aktifitas enzim ditujukan untuk mengetahui jenis logam yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim xilanase dari *Thermomyces lanuginosus* IFO 150. Pengaruh penambahan ion logam

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.

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

terhadap aktivitas enzim memiliki tiga kategori yaitu menghambat (inhibitor), meningkatkan (kofaktor) dan tidak mengakibatkan perubahan.

Pengaruh berbagai ion logam terhadap aktivitas xilanase akibat penambahan larutan berbagai ion logam dengan konsentrasi 1mM dituliskan pada tabel 5. Hasil yang diperoleh adalah bahwa aktivitas enzim xilanase dari *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 dapat ditingkatkan aktivitasnya oleh ion Fe^{2+} dan Cu^{2+} sedangkan untuk ion Ca^{2+} dan Zn^{2+} hampir tidak mempengaruhi aktivitasnya. Akan tetapi untuk ion Mg^{2+} menyebabkan penurunan aktivitas enzim menjadi 88 %.

Tabel 5. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim xilanase.

| Ion logam (1 mM) | Aktivitas enzim (Unit/ml) | Prosen aktivitas |
|------------------|---------------------------|------------------|
| Kontrol | 17.81 | 100 |
| Ca^{+} | 18.20 | 102 |
| Cu^{2+} | 19.59 | 110 |
| Fe^{2+} | 22.88 | 128 |
| Mg^{2+} | 15.73 | 88 |
| Zn^{2+} | 18.07 | 101 |

Hasil penelitian lain yang menggunakan enzim xilanase dari strain berbeda dan media ampas gandum menyatakan bahwa penambahan ion logam Mn^{2+} dan Fe^{2+} dapat menghasilkan peningkatan aktivitas enzim sebesar 137% dan 141% dan penghambatan 59% oleh ion Hg^{+} , sedangkan ion Mg menghasilkan aktivitas 94% (Cesar dan Vladimir 1996). Selain itu Ghosh *et.al* (1993) menyatakan bahwa hanya penambahan ion Ca^{2+} yang mampu menaikkan aktivitas enzim xilanase sampai tingkat 102 %, sedangkan ion logam Mg, Zn, menghambat pada 87,5 %, ini dilakukan pada enzim xilanase yang berasal dari *Aspergillus Sydowii* MG 49

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.

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

pada konsentrasi 5 mM. Peneliti tersebut berpendapat bahwa ion logam yang kurang berpengaruh tersebut bersifat sebagai kontaminan dan meningkatkan ikatan antara enzim substrat dengan ikatan elektrostatik.

Peningkatan aktivitas enzim xilanase akibat penambahan larutan ion logam diduga karena ion tersebut dapat menstabilkan enzim dan berfungsi sebagai kofaktor enzim xilanase. Pengikatan ion logam pada sisi aktif enzim mengakibatkan perubahan struktur konformasi enzim sehingga aktivitas katalitiknya meningkat. Hal ini terjadi pada penelitian Ghosh *et al* (1993) dimana ion Co dapat meningkatkan aktivitas enzim β xilosidase menjadi dua kali lebih besar.

Penghambatan aktivitas enzim akibat penambahan ion logam diduga karena ion logam tersebut tidak mempengaruhi sisi aktif enzim xilanase dan berfungsi sebagai inhibitor. Pengikatan ion logam tidak terjadi pada sisi aktif enzim tetapi pada daerah yang tidak terlibat dalam efisiensi hidrolisis substrat (Irawadi, 1991). Pendapat lain juga menyatakan bahwa penghambatan terjadi karena ion logam tersebut bersifat sebagai kontaminan dan meningkatkan ikatan antara enzim-substrat dengan ikatan elektrostatik yang kuat (Ghosh *et al.*, 1993).

E. 4. Hasil hidrolisis enzim xilanase

Tahap ini bertujuan untuk mengetahui jenis gula hasil reaksi hidrolisis yang diperoleh dari reaksi enzim xilanase dengan xilan *birch wood* (Sigma) 1%. Metode yang digunakan untuk mengetahui jenis gula hasil hidrolisis adalah metode HPLC. Hasil analisis jenis gula xilosa yang dihasilkan oleh reaksi hidrolisis enzim disajikan pada gambar 12. Pada gambar tersebut terdapat dua

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

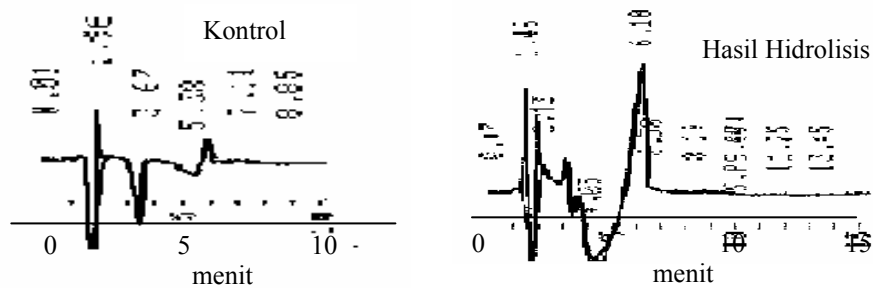
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- 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.

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

piktogram dari larutan kontrol dan larutan hasil hidrolisis. Perbedaan puncak terjadi pada kedua piktogram tersebut yaitu waktu retensi 5,38 menit dan 6,1 menit. Piktogram larutan hasil hidrolisis, puncak xilosa mengalami pergeseran dikarenakan oleh konsentrasi xilosa yang lebih tinggi dan kemungkinan adanya senyawa hasil hidrolisis selain xilosa.

Proses hidrolisis enzim xilanase dari *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 terhadap substrat xilan pada kondisi optimum selama 10 menit telah menghasilkan gula xilosa pada larutan kontrol dan larutan hasil hidrolisis. Adanya kandungan xilosa dalam larutan kontrol diduga karena pada filtrat enzim yang digunakan sebagai sampel sudah terdapat xilosa yang diproduksi oleh mikroba selama fermentasi enzim dan bukan disebabkan reaksi hidrolisis enzim xilanase.



Gambar 12. Kromatogram hasil analisis xilosa dengan metode HPLC

Penggunaan metode HPLC dalam menganalisis jenis gula dalam reaksi hidrolisis enzimatis telah dilakukan peneliti sebelumnya. Ghokhale *et al.*, (1997) yang menyatakan bahwa enzim xilanase yang bebas selulase yang berasal dari *yeast* telah mampu menguraikan hemiselulosa yang terdapat pada tongkol jagung, serat jerami dan pulp bagasse tebu dengan produk hidrolisis berupa xilosa dalam



jumlah besar dan sedikit xilobiose dan xilotriose. Terbatasnya kolom HPLC dan larutan gula standar yang dimiliki maka untuk jenis gula lain tidak bisa teramati dalam penelitian ini. Berdasarkan pada jenis gula xilosa yang diperoleh dari penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa dalam ekstrak enzim kasar tersebut terdapat enzim xilanase. Hal ini didasarkan pada cara kerja enzim tersebut yang mampu mendegradasi xilan dan akhirnya menghasilkan senyawa xilosa.

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