

## OPTIMASI AMOBILISASI XILANASE DARI *TRICHODERMA VIRIDE* DENGAN MATRIKS ZEOLIT

Intan Permata Sari, Sutrisno\* dan Sasangka Prasetyawan

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran Malang 65145

\*Alamat korespondensi, Tel : +62-341-575838, Fax : +62-341-575835  
Email: tris\_mc@ub.ac.id

### ABSTRAK

Amobilisasi xilanase dengan matriks zeolit dilakukan melalui metode adsorpsi fisik. Amobilisasi dilakukan untuk meningkatkan stabilitas enzim xilanase, karena xilanase bebas tidak stabil terhadap lingkungan. Tujuan dari penelitian ini yaitu menentukan waktu pengocokan dan konsentrasi xilanase optimum. Pada penelitian ini enzim xilanase diisolasi dari *Trichoderma viride*, enzim yang didapat kemudian dimurnikan dengan metode pengendapan menggunakan amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 40-80%. Untuk menentukan waktu pengocokkan optimum amobilisasi enzim dilakukan pada 0,1 g zeolit dalam temperatur kamar dan kecepatan pengocokkan 100 rpm dengan variasi waktu pengocokan (1, 2, 3, 4, dan 5) jam, sedangkan untuk menentukan konsentrasi enzim xilanase optimum dilakukan pada 0,1 g zeolit dalam temperatur kamar dan kecepatan pengocokkan 100 rpm dengan variasi konsentrasi xilanase (2,244; 2,618; 2,992; 3,366; 3,740) mg/mL. Hasil penelitian menunjukkan waktu pengocokkan optimum pada 3 jam dan konsentrasi xilanase optimum terjadi pada konsentrasi 3,366 mg/mL dengan aktivitas 25,74 unit

**Kata kunci:** Xilanase, *Trichoderma viride*, Amobilisasi, Zeolit

### ABSTRACT

Immobilization of xylanase with zeolite matrix conducted by physical adsorption method. Immobilization made to improve the stability of xylanase enzyme, it was because free xylanase is unstable on the environment. The purpose of this research is determining the shaking time and optimum concentration of xylanase. In this research the enzyme of xylanase was isolated from *Trichoderma viride*, an enzyme that obtained, then purified by using ammonium sulfate precipitation method with saturation level of 40-80%. To determine the optimum of shaking time of immobilization enzyme performed on 0,1 g of zeolite at room's temperature and shaking speed of 100 rpm with a shaking time variation (1, 2, 3, 4, and 5) hours, whereas to determine the optimum concentration of enzyme xylanase performed at 0,1 g of zeolite at room's temperature and shaking speed of 100 rpm with variation of the concentration of xylanase (2,244; 2,618; 2,992; 3,366; 3,740) mg / mL. The results showed the optimum shaking time at 3 hours and optimum concentration of xylanase occurs at concentration of 3.366 mg / mL with the activity of 25.74 units.

**Keywords:** Xylanase, *Trichoderma viride*, Immobilized, Zeolite

### PENDAHULUAN

Xilanase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi xilosa [1]. Xilanase dapat dihasilkan dari sejumlah mikroorganisme golongan jamur dan bakteri, misalnya: *Trichoderma viride*, *Bacillus*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Aureo-basidium*, *Fusarium*, *Rhizomucor* dan *Humicola* [2].

Enzim adalah protein globular yang disintesis di dalam sel yang berfungsi sebagai biokatalisator [3]. Enzim bebas mempunyai sifat tidak stabil terhadap lingkungan, termasuk enzim xilanase. Dengan demikian stabilitas enzim perlu ditingkatkan menggunakan teknik amobilisasi [4]. Amobilisasi enzim adalah suatu proses penahanan pergerakan molekul enzim pada tempat tertentu [5].

Salah satu metode amobilisasi yang sederhana yaitu metode adsorpsi dengan menggunakan permukaan padat atau menempelkan enzim pada permukaan adsorben. Padatan yang biasa digunakan sebagai matriks pengadsorpsi adalah zeolit, alumina, dan silika [6]. Zeolit merupakan material yang memiliki banyak kegunaan serta ketersediaan zeolit di alam sangat melimpah. Zeolit telah banyak diaplikasikan sebagai adsorben, penukar ion, dan sebagai katalis [7]. Zeolit terlebih dahulu diaktivasi menggunakan asam, hal ini akan berdampak pada kinerja zeolit, yaitu kemampuan adsorpsi zeolit akan meningkat sehingga lebih efisien dalam amobilisasi enzim [8].

Terdapat beberapa macam teknik amobilisasi yang dapat diaplikasikan. Masing-masing metode memiliki keunggulan dan kelemahan. Teknik amobilisasi enzim yang sering digunakan adalah metode adsorpsi fisik karena merupakan salah satu metode amobilisasi enzim yang sederhana dan efektif karena tidak menyebabkan perubahan konformasi enzim atau destruksi pada pusat aktif enzim [9]. Kelebihan dari amobilisasi secara fisik adalah aktivitas enzim tetap tinggi (tidak terjadi perubahan konformasi enzim) dan media dapat diregenerasi [10].

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum amobilisasi xilanase dari *T. viride* menggunakan matriks zeolit yang meliputi waktu pengocokan dan konsentrasi xilanase optimum.

## **METODA PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan adalah *T. viride* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya dan zeolit. Bahan kimia yang digunakan dengan kualitas *for microbiology* seperti pepton, tepung agar, xilan, kasein, tepung klobot jagung, dan kentang. Bahan kimia lain yang digunakan memiliki kualitas pro analisis, antara lain asam oleat, dextrosa, asam asetat glasial (BJ=1,05 g/cm<sup>3</sup>), CH<sub>3</sub>COONa, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O,

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{NaKC}_4\text{O}_6\text{H}_4$ , glukosa anhidrat,  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , kristalin fenol, asam dinitrosalisilat, dan  $\text{NaOH}$

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain seperangkat alat gelas, neraca analitik (Mettler Toledo AL 204), neraca analitik (Bosch PE 620), laminar air flow, inkubator (Heraeus Type B 5042), pH meter (Inolab WTW), penangas air (Mettmert W 200), autoklav (LS-C35L), shaker (Edmund Buhler SM 2524B), sentrifuse dingin (Juan MR 1889), pemanas listrik (Janke-Kunkel), Spectronic Genesys 20 (Thermo Scientific Genesys 20), kuvet, lemari pendingin, jarum ose, ayakan 100 mesh, 150 mesh, pengaduk magnet, oven, aluminium foil, kapas steril, pH universal, dan kertas saring *Whatman* no.40.

### **Produksi xilanase**

Inokulum dari *T. viride* diambil sebanyak 2 mL dan ditanam pada 13 mL larutan garam basal, dan 5 g klobot jagung steril. Selanjutnya campuran diinkubasi pada temperatur kamar hingga 60 jam. Media hasil fermentasi ditambahkan 15 mL buffer asetat pH 5 dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit pada temperatur 4°C. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar xilanase. Ekstrak kasar xilanase dimurnikan menggunakan amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 40-80%. Selanjutnya ekstrak kasar xilanase diuji kadar protein dan aktivitasnya.

### **Uji kadar protein**

Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode Biuret. Larutan enzim sebanyak 2 mL ditambah 8 mL reagen Biuret dan 2 mL larutan kasein 5000 ppm, kemudian dikocok dan diinkubasi selama 30 menit pada temperatur 50°C. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum kasein (550 nm). Kadar protein diketahui dengan memplotkan nilai serapan pada persamaan regresi kurva baku kasein yang telah dibuat sebelumnya.

### **Penentuan aktivitas xilanase**

Penentuan aktivitas xilanase dilakukan dengan cara mereaksikan 1 mL substrat xilan 1% (b/v) yang telah diinkubasi pada temperatur 60°C selama 15 menit dengan 1 mL enzim, 1 mL buffer asetat pH 5 dan 1 mL aquades. Campuran diinkubasi pada temperatur 60°C selama 55 menit selanjutnya dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 15 menit, ditambahkan 2 mL reagen DNS dan dipanaskan pada 100°C selama 5 menit. Larutan yang dihasilkan diukur serapannya pada panjang gelombang 495 nm. Kadar gula pereduksi yang dihasilkan selama reaksi ditentukan dengan cara mengplotkan serapan yang diperoleh ke dalam persamaan regresi kurva baku gula pereduksi yang telah dibuat sebelumnya.

Satu unit aktivitas enzim bebas diartikan sebagai 1 µg xilosa yang dihasilkan per menit per mL enzim. Pada enzim amobil, satu unit aktivitas amobil diartikan sebagai 1 µg xilosa yang dihasilkan per menit per gram enzim amobil.

### **Amobilisasi xilanase dengan zeolit**

#### ***Penentuan waktu pengocokan optimum amobilisasi xilanase***

Xilanase dipipet sebanyak 2 mL, ditambah buffer asetat pH 5 hingga volume 5 mL. Larutan enzim dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 0,1 g zeolit yang telah diaktivasi. Masing-masing campuran diinkubasi dalam shaker dengan kecepatan 100 rpm pada temperatur ruang selama 1, 2, 3, 4, dan 5 jam, kemudian disaring dengan kertas *Whatman* no. 40 sehingga terpisah antara filtrat dengan xilanase amobil. Xilanase amobil yang didapat diuji aktivitasnya dan filtrat diukur kadar proteinnya.

#### ***Penentuan konsentrasi xilanase optimum***

Tahapan amobilisasi pada variasi konsentrasi enzim dilakukan seperti langkah amobilisasi variasi lama pengocokan. Perbedaannya terletak pada jumlah enzim hasil pemurnian yang digunakan yaitu (2,244; 2,618; 2,992; 3,740) mg/mL. Campuran diinkubasi selama waktu pengocokan optimum dalam shaker dengan kecepatan 100 rpm. Xilanase amobil yang didapat diuji aktivitasnya dan filtrat diukur kadar proteinnya.

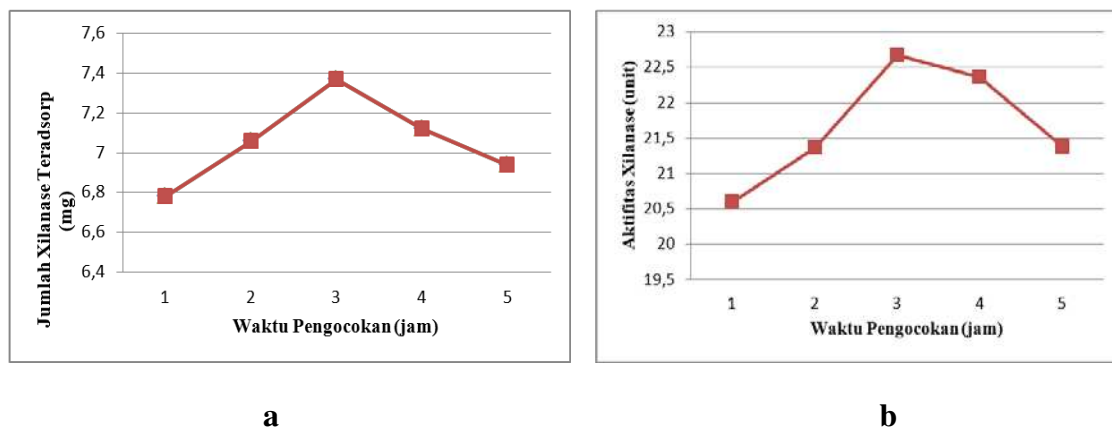
## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Penentuan waktu pengocokan optimum**

Pada penelitian ini ditentukan kondisi optimum waktu pengocokan yaitu waktu yang dibutuhkan enzim untuk berikatan dengan matriks pengadsorpsi ketika amobilisasi berlangsung. Enzim xilanase yang teradsorp dalam zeolit kemudian akan berinteraksi membentuk ikatan hidrogen akibat adanya kontak antara atom oksigen pada zeolit (Si-O-Al) dengan atom H dari gugus amino pada rantai samping residu asam amino penyusun xilanase (-NH<sub>2</sub>) maupun dengan atom H pada (-COOH) residu asam amino.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah xilanase yang teradsorp dalam zeolit pada waktu pengocokan 1-3 jam. Hal ini dapat terjadi karena interaksi antara xilanase dengan zeolit semakin tinggi sehingga enzim xilanase yang teradsorp pada zeolit juga semakin tinggi. Pada pengocokan jam ke 4 dan 5 terjadi penurunan jumlah xilanase yang teradsorp dalam zeolit, hal ini dikarenakan enzim xilanase yang terikat pada zeolit terlepas kembali karena telah melebihi waktu optimum. Salah satu kelemahan dari metode adsorpsi

fisik adalah kekuatan ikatan lemah. Sehingga xilanase mudah lepas dari matriks jika melebihi waktu kesetimbangan. Data yang diperoleh ditunjukkan pada gambar 1



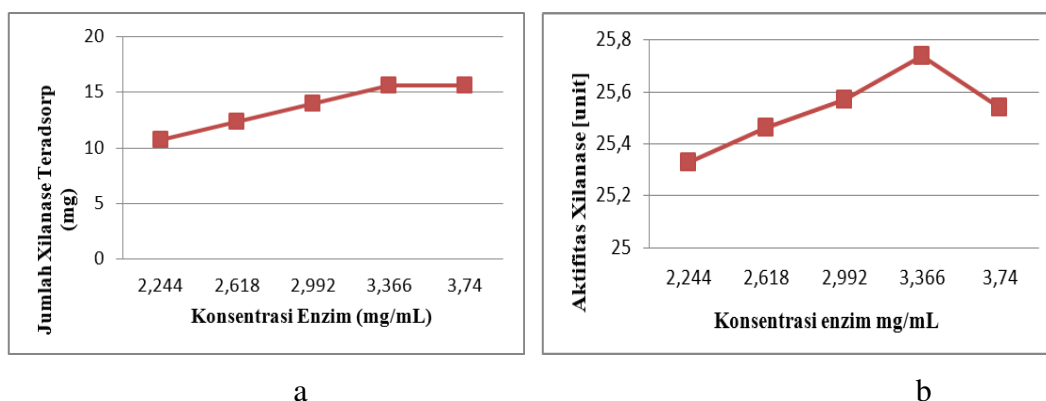
**Gambar 1.** Grafik hubungan antara waktu pengocokan terhadap (a) jumlah xilanase teradsorpsi (b) aktivitas xilanase amobil

Dalam penelitian ini aktivitas xilanase maksimum terjadi pada waktu pengocokan 3 jam dengan jumlah xilanase teradsorp maksimum, hal ini dikarenakan semakin banyak xilanase yang teradsorp maka semakin banyak pula aktivitasnya. Aktivitas enzim amobil berbanding lurus dengan jumlah xilanase teradsorpsi pada matriks zeolit, yaitu pada waktu pengocokan 3 jam dengan aktivitas sebesar 22,67 unit

### Penentuan konsentrasi xilanase optimum

Waktu pengocokan optimum xilanase yaitu 3 jam digunakan sebagai waktu pengocokan pada amobilisasi xilanase dengan variasi konsentrasi enzim. Pada penelitian ini konsentrasi enzim yang digunakan adalah (2,244;2,618;2,992;3,366;3,74) mg/mL dengan kecepatan pengocokan 100 rpm. Dengan meningkatnya konsentrasi enzim yang digunakan maka jumlah xilanase teradsorp juga akan mengalami peningkatan hingga pada konsentrasi 3,366 mg/mL.

Hal ini dapat terjadi karena laju difusi xilanase ke permukaan zeolit semakin tinggi, sehingga akan menyebabkan meningkatnya jumlah xilanase yang teradsorpsi hingga pada konsentrasi optimum xilanase. Selanjutnya mengalami penurunan yang tidak signifikan pada konsentrasi 3,74 mg/mL hal ini dikarenakan kapasitas permukaan zeolit yang berinteraksi dengan enzim telah maksimum sehingga jumlah xilanase yang terserap dalam zeolit tidak lagi terjadi peningkatan. Konsentrasi optimum xilanase amobil dapat ditentukan berdasarkan jumlah xilanase yang teradsorp dalam matriks serta aktivitas xilanase amobil.



**Gambar 2.** Grafik hubungan antara konsentrasi xilanase terhadap (a) jumlah xilanase teradsorpsi (b) aktivitas xilanase amobil

Konsentrasi optimum xilanase amobil juga ditentukan berdasarkan aktivitas xilanase amobil. Semakin banyak konsentrasi xilanase maka jumlah xilanase yang teradsorpsi pada zeolit juga akan semakin besar hingga pada konsentrasi tertentu. Dalam penelitian ini pada konsentrasi enzim 3,366 mg/mL merupakan konsentrasi optimum enzim yang dapat teradsorpsi pada matriks dengan nilai aktivitas 25,74 unit. Dari data di atas terjadi peningkatan aktivitas xilanase hingga pada konsentrasi xilanase 3,366 mg/mL dengan aktivitas 25,74 unit. Hal ini dapat terjadi karena konsentrasi enzim yang semakin meningkat menyebabkan reaksi degradasi xilan menjadi xilosa (aktivitas xilanase) semakin meningkat pula.

## KESIMPULAN

Waktu pengocokan dan konsentrasi xilanase berpengaruh terhadap jumlah xilanase yang teradsorpsi dan aktivitas xilanase amobil. Kondisi optimum amobilisasi xilanase dengan matriks zeolit terjadi pada 3 jam dan konsentrasi xilanase 3,366 mg/mL dengan jumlah xilanase teradsorpsi sebanyak 15,65 mg dan aktivitas xilanase amobil sebesar 25,74 unit.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Budiman, A., dan Setyawan, 2011, *Pengaruh konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi, dan pH dalam Proses Isolasi Enzim Xylanase dengan Menggunakan Media Jerami Padi*, Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, Semarang
2. Haltrich, D., B. Nidetzky, K.D. Kulbe, W. Steiner and S. Zupaneic, 1996, *Production of Fungal Xylanase*, <http://www.psu.ac.th/Presidentoffice>, tanggal akses 21 Februari 2014

3. Sadikin, M., 2002, *Biokimia Enzim*, Widya Medika, Jakarta
4. Sebayang, F., 2006, *Pengujian Stabilitas Enzim Bromelin yang Diisolasi dari Bonggol Nanas serta Imobilisasi Menggunakan Kappa Karagenan*, *Jurnal Sains Kimia*, No. 1, Vol. 10, Hal.20-26.
5. Minovska, Vilma., Winkelhausen, Eleonora., dan Kuzmanova, Slobodan., 2005, *Lipase Immobilized by Different Techniques in Various Support Material Applied in Oil Hydrolysis*, *J. Serb. Chem. Soc.*, No. 4, Vol 70, Hal. 609–624, University Sts. Cyril and Methodius, Faculty of Technology and Metallurgy Rudjer Boskovic, Skopje
6. Suklha, S. S., Dorris K. L., Suklha A., dan Margrave J. L., 2003, *Adsorption of Chromium from Aqueous Solution by Maple Sawdust*, *Journal Haz Mater*, 12, pp. 1-3
7. Cheetam, D., A., 1992, *Solid State Compound*, Oxford university press, 234-237
8. Ahmadi, 2009, *Kinerja Zeolit Alam Teraktivasi Pada Penjernihan Minyak Bekas Penggorengan Keripik Tempe*, skripsi Jurusan Teknologi Industri Pertanian
9. Kennedy, J., dan Melo E. H. M., 1999, *Immobilized Enzyme and Cells*, University of Birmingham, United Kingdom.
10. Susanto, H., Budiyono B., Sumantri I., dan Aryanti N., 2003, *Amobilisasi Enzim dengan Menggunakan Membran Mikrofiltrasi*, *Laporan Kegiatan*, Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, Semarang.