

## **PENGARUH WAKTU PENGOCOKAN DAN KONSENTRASI XILANASE DARI *Trichoderma viride* TERHADAP XILANASE TERADSORPSI DAN AKTIVITAS XILANASE**

**Luckyta Retno Larasati, Sutrisno\*, Anna Roosdiana**

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](mailto:tris_mc@ub.ac.id)

### **ABSTRAK**

Xilanase diamobilikan dengan metode adsorpsi fisik menggunakan kaolin. Amobilisasi perlu dilakukan untuk meningkatkan efisiensi pemakaian enzim sehingga dapat dipakai berulang kali. Tujuan penelitian ini adalah menentukan waktu pengocokan dan konsentrasi xilanase optimum. Pada penelitian ini dilakukan variasi waktu pengocokan (1, 2, 3, 4, 5) jam dan konsentrasi enzim sebesar (0,157; 0,209; 0,261; 0,314; 0,366) mg/mL. Kadar protein xilanase bebas diperoleh sebesar 0,366 mg/mL dengan aktivitas sebesar 8,449 unit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum amobilisasi xilanase pada kaolin dicapai pada waktu pengocokan 3 jam dengan jumlah xilanase teradsorpsi 4,74 mg/g dan aktivitas 10,074 unit. Sedangkan konsentrasi xilanase optimum pada 0,261 ppm dan aktivitas 14,336 unit.

**Kata kunci :** *Aktivitas, kaolin, Trichoderma viride, xilanase*

### **ABSTRACT**

Xylanase was immobilized with physical adsorption method by using kaolin. Immobilization is conducted in order to increase efficiency of enzyme utilization so that it can be used repeatedly. The objective of this research is to determine agitation time and optimum xylanase concentration. This research consisted two treatments which agitation time of (1, 2, 3, 4, 5) hours and enzyme concentrations of (0.157 0.209, 0.261, 0.314, 0.366) mg/mL. Free xylanase was 0.366 mg/mL with activity 8.449 unit. The result showed that the optimum condition of immobilized xylanase on kaolin was obtained at 3 hours agitation with total adsorbed xylanase 4,74 mg/g resulting in xylanase activity of 10.074 unit. Whereas the optimum xylanase concentration was 0.261 ppm yielding in xylanase activity of 14.336 unit.

**Keywords :** *Activity, Kaolin, Trichderma viride, Xylanase*

## **PENDAHULUAN**

Enzim adalah protein dengan fungsi katalitik khusus yang bekerja dengan efisien, dan diproduksi oleh semua organisme hidup. Enzim bertanggung jawab terhadap banyak reaksi biokimia dalam mikroorganisme, tanaman, hewan dan manusia [1]. Suatu enzim bekerja secara khas terhadap suatu substrat tertentu atau memiliki sifat yang spesifik [2].

Xilanase dapat dihasilkan oleh sejumlah mikroorganisme yaitu bakteri, ragi dan jamur. Salah satu jamur yang menghasilkan xilanase yaitu *Trichoderma viride* [3]. Enzim xilanase bersifat induktif, sehingga untuk memperoleh produk yang maksimal, dibutuhkan suatu inducer sebagai pemicu produksi enzim xilanase [4]. Berdasarkan sifatnya, enzim bebas mudah terdenaturasi sehingga menjadi tidak ekonomis karena enzim aktif hilang begitu saja hanya dalam satu kali reaksi. Untuk mengatasi kelemahan-kelemahan tersebut maka perlu dilakukan modifikasi enzim dengan cara amobilisasi enzim.

Amobilisasi enzim adalah suatu proses di mana pergerakan molekul enzim ditahan pada tempat tertentu dalam suatu ruang reaksi kima yang dikatalisnya [5]. Amobilisasi enzim dapat dilakukan dengan melekatkan enzim pada penyangga padat. Penyangga ini dapat berupa butiran, serat, lembaran berongga, tabung atau membran semipermeabel [6]. Metode- metode amobilisasi yang telah banyak dikembangkan dan digunakan saat ini adalah crosslinking, pengikatan pada carrier (adsorpsi fisik, ikatan ion, ikatan kovalen), dan pada penjebakan secara fisik. Kelebihan enzim amobil jika dibandingkan dengan enzim bebas yaitu dapat digunakan berulang-ulang. Oleh karena itu, biaya operasional menjadi lebih murah. Selain itu, enzim amobil ini juga dapat meningkatkan stabilitas enzim tersebut [7]. Amobilisasi enzim dipengaruhi oleh lama pengocokan dan konsentrasi enzim. Jumlah enzim teradsorpsi dan aktivitas enzim amobil maksimum dihasilkan pada lama pengocokan dan konsentrasi enzim optimum [8]. Proses amobilisasi dilakukan secara adsorpsi, jumlah enzim yang teradsorpsi dipengaruhi oleh lama pengocokan dan konsentrasi adsorbat (enzim), karena tanpa adanya pengocokan maka proses adsorpsi akan berjalan lambat [9].

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur murni *Trichoderma viride* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Malang dan klobot jagung yang diperoleh dari Pulosari Malang. Bahan kimia yang digunakan adalah bahan yang memiliki derajat kemurnian pro analisa (p.a.) antara lain dekstrosa, CH<sub>3</sub>COONa, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>COOH, CaCl<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, MnCl<sub>2</sub>.7H<sub>2</sub>O, FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, Na tartrat, CuCl<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, CoCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, NaCl, NH<sub>4</sub>Cl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, HCl, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, DNS (asam dinitrosalisilat), kentang, pepton, tepung agar, xilan, tepung klobot jagung, dan akuades.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, pengaduk kaca, pipet ukur 5 mL dan 10 mL, bunsen burner, pipet tetes, erlenmeyer 100 mL dan 250 mL, gelas arloji, labu ukur 10 mL dan 100 mL, sentrifuse dingin (Joan MR 1889), jarum ose, inkubator (Heraeus Type B 5042), magnetik stirer, neraca analitik mettler (Bosch PE 620), pH meter (inolab WTW), kuvet, penangas air (Memmert W 200), autoklaf (All American Model 20x0), shaker (Edmund Buhler SM 252413) ayakan 100, 120, dan 150 mesh, pengaduk magnet, pH universal, oven, botol semprot, kapas steril, kertas saring Whatman no.40, spectronic 20, kuvet, aluminium foil.

### **Prosedur produksi dan isolasi xilanase**

Produksi xilanase dilakukan dalam labu Erlenmeyer 250 mL, 13 mL larutan garam basal dan 5 g substrat klobot jagung (rasio substrat: air = 1 : 3) dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Selanjutnya campuran disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121°C, tekanan 15 psi dan waktu 15 menit, kemudian ditambahkan secara aseptis 2 mL inokulum *Trichoderma viride*, diinkubasi dalam shaker hingga mencapai awal fase stasioner (jam ke-60) pada temperatur kamar. Media produksi yang sudah diinkubasi ditambah 10 mL larutan buffer asetat pH 5, sampel disentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit pada temperatur 4°C dan supernatan merupakan ekstrak kasar enzim xilanase.

### **Penentuan Waktu Pengocokan Optimum Amobilisasi Xilanase**

Xilanase hasil pemurnian dipipet 2 mL dan dimasukkan ke dalam gelas ukur 10 mL, lalu ditambahkan buffer asetat pH 5 hingga volume 5 mL. Larutan enzim dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 mL yang berisi 0,1 gram kaolin teraktivasi HCl. Selanjutnya dicuci dengan akuades dan diuapkan. Campuran diinkubasi dalam shaker pada temperatur ruang dengan kecepatan 100 rpm selama (1, 2, 3, 4, 5) jam untuk mengetahui waktu pengocokan optimum dari enzim yang teradsorpsi pada kaolin. Campuran disaring dengan kertas saring

*Whatman* no. 40 sehingga terpisah antara filtrat dengan xilanase amobil. Filtrat diuji kadar enzimnya dan xilanase amobil diuji aktivitasnya.

### **Penentuan Konsentrasi Xilanase Optimum**

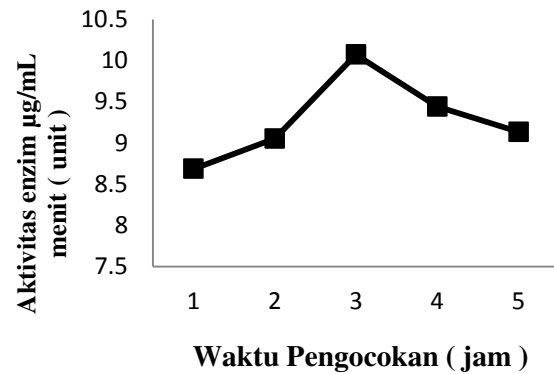
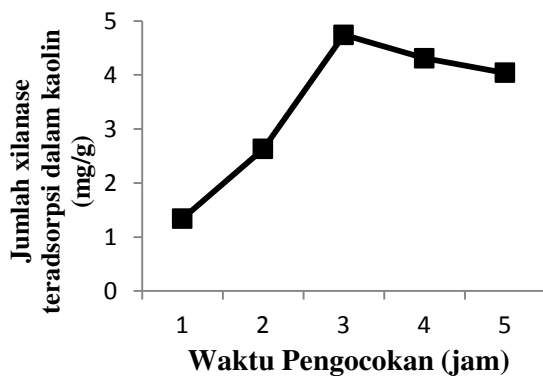
Tahapan amobilisasi pada variasi konsentrasi enzim dilakukan seperti langkah amobilisasi variasi lama pengocokan. Perbedaannya terletak pada volume xilanase yang digunakan yaitu (1,5; 2; 2,5; 3; 3,5) mL selanjutnya campuran diinkubasi selama waktu pengocokan optimum dalam shaker dengan kecepatan 100 rpm. Campuran disaring dengan kertas saring *Whatman* no. 40 sehingga terpisah antara filtrat dengan xilanase amobil. Filtrat diuji kadar enzimnya dan xilanase amobil diuji aktivitasnya.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

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

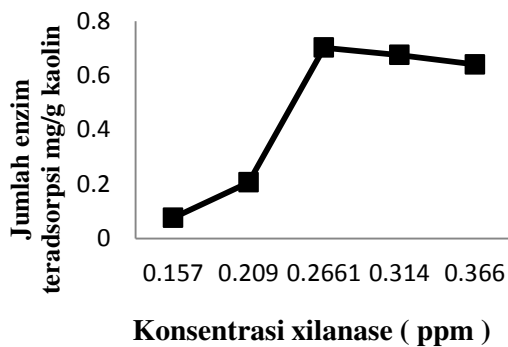
Waktu pengocokan adalah waktu yang dibutuhkan oleh suatu enzim untuk dapat berikatan dengan matriks yang digunakan dimana jumlah enzim yang teradsorpsi sangat dipengaruhi oleh lama pengocokan, tanpa adanya pengocokan maka proses adsorpsi akan berjalan lambat. Peningkatan waktu pengocokan akan meningkatkan massa xilanase teradsorpsi hingga tercapai kesetimbangan. Penentuan waktu pengocokan dilakukan pada variasi waktu 1, 2, 3, 4 dan 5 jam. Dari grafik pada Gambar 1 (a) dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan jumlah xilanase teradsorpsi secara signifikan seiring dengan penambahan waktu amobilisasi dari waktu satu jam hingga tiga jam. Hal ini dimungkinkan karena semakin lama waktu pengocokan yang diberikan maka interaksi antara kaolin dan xilanase semakin tinggi, sehingga xilanase dapat menempel pada permukaan kaolin. Pada waktu tiga jam merupakan waktu optimum dengan jumlah xilanase teradsorpsi maksimum sebesar 4,74 mg/g. Kemudian terjadi penurunan signifikan dari xilanase yang teradsorpsi pada waktu pengocokan empat hingga lima jam.

Aktivitas xilanase ditentukan dengan menghitung absorbansi dan mengkonversi ke dalam persamaan unit aktivitas. Berdasarkan grafik pada Gambar 1 (b) terjadi kenaikan aktivitas enzim pada lama pengocokan satu hingga tiga jam. Sehingga dapat diketahui bahwa aktivitas optimumnya pada waktu tiga jam sebesar 10,074 unit. Aktivitas yang dihasilkan berbanding lurus dengan jumlah xilanase teradsorpsi.

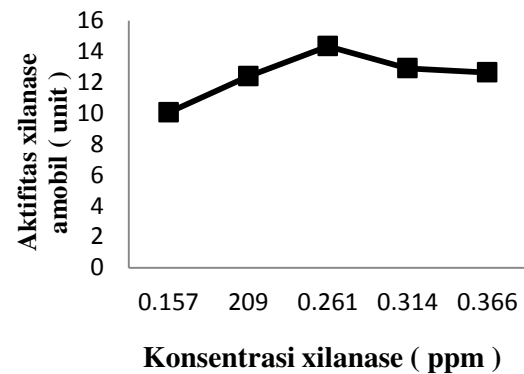


(a)

(b)



(c)



(d)

**Gambar 1.** (a) Grafik hubungan antara waktu pengocokan terhadap jumlah enzim teradsorpsi  
 (b) Grafik hubungan antara waktu pengocokan terhadap aktivitas enzim  
 (c) Grafik hubungan antara konsentrasi xilanase terhadap jumlah enzim teradsorpsi  
 (d) Grafik Aktivitas xilanase amobil pada variasi konsentrasi enzim

### Penentuan konsentrasi optimum enzim amobil

Berdasarkan grafik pada Gambar 1 (c) dapat dilihat bahwa peningkatan jumlah enzim yang teradsorpsi dalam kaolin terjadi pada konsentrasi xilanase 0,157; 0,209; 0,261 ppm dan terjadi penurunan pada konsentrasi 0,314 dan 0,366 ppm. Sehingga didapatkan konsentrasi optimum 0,261 ppm dengan jumlah xilanase teradsorp 0,702 mg. Peningkatan jumlah enzim yang teradsorpsi, kemungkinan disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi xilanase maka semakin banyak interaksi antara xilanase dengan adsorben yang terjadi. Saat konsentrasi

xilanase di atas konsentrasi 0,261 ppm, permukaan kaolin sudah jenuh oleh enzim sehingga peningkatan jumlah xilanase sudah tidak mempengaruhi daya adsorpsi kaolin. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah enzim yang teradsorpsi sudah mencapai titik kesetimbangan.

Grafik pada Gambar 1 (d) bahwa terjadi peningkatan aktifitas xilanase amobil yaitu pada konsentrasi xilanase 0,157; 0,209 dan 0,261 ppm. Hal ini disebabkan oleh semakin banyak jumlah xilanase yang teradsorpsi, substrat yang mampu berikatan dengan sisi xilanase semakin banyak dan aktivitas xilanase amobil meningkat. Penurunan aktivitas xilanase amobil terjadi pada konsentrasi 0,314 dan 0,366 ppm. Penurunan yang terjadi dimungkinkan karena adanya desorpsi terhadap massa xilanase yang teradsorpsi.

### **Kesimpulan**

Waktu pengocokan optimum pada amobilisasi xilanase menggunakan matriks kaolin teraktivasi HCl dicapai pada jam ke-3 dengan jumlah xilanase teradsorpsi sebesar 4,74 mg/g kaolin dan aktivitas optimum sebesar 10,074 unit serta konsentrasi xilanase optimum pada 0,261 ppm dan aktivitas 14,336 unit.

### **DAFTAR PUSTAKA**

1. Avane, M., 2001, **Enzymes: A Primer on Use and Benefits Today and Tomorrow**, N.W. Second Floor, Wasington, DC.
2. Poedjiadi, A., dan Supriyanti F.M.T., 2006, **Dasar-Dasar Biokimia**, UI Press, Jakarta
3. Hatrich, D., Nidetzky, B., Kulbe, K.D., Steiner, W., dan Zupaneie, S., 1996, **Production of Fungal Xylanases**, <http://www2.psu.ac.th/PresidentOffice/EduService/journal/27-2-pdf/10xylanase.pdf>, diakses tanggal 04 Juli 2014
4. Mulyani, N.S., Asy'ari, M., dan Prasetyoningsih, H., 2009, **Penentuan Konsentrasi Optimum Oat Spelt Xylan pada Produksi Xilanase dari *Aspergillus niger* dalam Media PDB (Potato Dextrose Broth)**, *J. Kim. Sains & Apl.*, No. 1, Vol. XII, Hal. 1-9, Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA UNDIP, Semarang
5. Chaplin M.F., dan Bucke C., 1990, **Enzyme Technology**, Cambridge University Press, Cambridge.

6. Masyithah, Zuhrina, 2005, **Pemodelan Numerik Reaksi Enzimatik Imobilisasi**, *Jurnal Teknologi Proses -Media Publikasi Karya Ilmiah Teknik Kimia*, No. 2, Vol. 4, Hal. 18-25, Program Studi Teknik Kimia Universitas Sumatera Utara, Medan
7. Susanto, H., Budiyono B., Sumantri I., dan Aryanti N., 2003, **Amobilisasi Enzim dengan Menggunakan Membran Mikrofiltrasi**, Laporan Kegiatan Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, Semarang.
8. Agustiawan, H., 2010, **Amobilisasi Lipase dari *Mucor miehei* Menggunakan Matriks Oxidized Polypropilene (OPP)**, *Skripsi*, Universitas Brawijaya, Malang.
9. Sediawan, W.B., 2000, **Berbagi Teknologi Proses Pemisahan**, Prosiding, Presentasi Ilmiah Daur Ulang Bahan Bakar Nuklir V P2TBDU dan P2BGN, BATAN.