

**OPTIMASI SUHU DAN pH BAKTERI TERMOFILIK ISOLAT
MS 18 UNTUK PRODUKSI ENZIM XILANASE**

SKRIPSI



**OLEH:
NUR SHOFIATUN NISA
18032088/2018**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2022**

**OPTIMASI SUHU DAN pH BAKTERI TERMOFILIK ISOLAT
MS 18 UNTUK PRODUKSI ENZIM XILANASE**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains



**OLEH:
NUR SHOFIATUN NISA
18032088/2018**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2022**

PERSETUJUAN SKRIPSI

OPTIMASI SUHU DAN pH BAKTERI TERMOFILIK MS 18 UNTUK PRODUKSI ENZIM XILANASE

Nama : Nur Shofiatun Nisa
NIM : 18032088
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 18 Februari 2022

Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M. Biomed.
NIP. 19750815 200604 2 001

Disetujui Oleh:
Pembimbing



Dr. Irdawati, M.Si.
NIP. 19710430 200112 2 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Nur Shofiatun Nisa
NIM : 18032088
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

OPTIMASI SUHU DAN pH BAKTERI TERMOFILIK MS 18 UNTUK PRODUKSI ENZIM XILANASE

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Jurusan Biologi Fakultas Matematikadan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Padang, 18 Februari 2022

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
Ketua	: Dr. Irdawati, M.Si.	
Anggota	: Dezi Handayani, S.Si, M.Si.	
Anggota	: Afifatul Achyar, M.Si.	

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nur Shofiatun Nisa
NIM : 18032088
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi dengan judul **“Optimasi Suhu dan pH Bakteri Termofilik MS 18 dalam Memproduksi Enzim Xilanase”** adalah benar hasil karya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya, pendapat yang tulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya penulisan yang lazim.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 18 Februari 2022

Diketahui oleh,

Ketua Jurusan Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M. Biomed.
NIP. 19750815 200604 2 001

Saya yang menyatakan,



Nur Shofiatun Nisa
NIM. 18032088

Optimasi Suhu dan pH Bakteri Termofilik Isolat MS 18 dalam Memproduksi Enzim Xilanase

Nur Shofiatun Nisa

ABSTRAK

Enzim xilanase merupakan enzim yang banyak digunakan dalam bidang industri karena enzim ini dapat menghidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi xilooligosakarida dan xilosa. Pemanfaatan enzim xilanase dalam bidang industri diantaranya dalam industri pangan, industri tekstil dan industri kertas. Contoh pemanfaatan enzim xilanase dalam industri pangan yaitu dalam pembuatan roti untuk meningkatkan kelembutan adonan roti, industri tekstil yaitu dalam bio-proses kain, seperti: pemutihan kain (*bio-bleaching*), menghilangkan kanji pada serat kain (*desizing*) dan meningkatkan daya serap kain (*bio-scouring*) dan industri kertas yaitu sebagai pemutih kertas dan pengurangan penggunaan klorin. Produksi xilanase dipengaruhi oleh suhu inkubasi dan pH, kondisi optimum pada suhu inkubasi dan pH menyebabkan produksi xilanase bisa dihasilkan lebih maksimal. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui suhu inkubasi optimum dan pH optimum bakteri termofilik isolat MS 18 dalam memproduksi enzim xilanase.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan dua tahap yaitu pada tahap 1 optimasi suhu inkubasi bakteri termofilik isolat MS 18 untuk produksi enzim xilanase pada variasi suhu (50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C) secara triplo dan tahap 2 yaitu optimasi pH bakteri termofilik isolat MS 18 untuk produksi enzim xilanase pada variasi pH medium (7; 7,5; 8; 8,5; 9; 9,5) secara triplo. Aktivitas enzim diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk tabel.

Hasil penelitian didapatkan suhu optimum produksi xilanase adalah suhu 50°C dengan xilanase tertinggi yaitu 3,792 U/mL dan produksi xilanase terendah adalah suhu 65°C yaitu 2,838 U/mL. Dan pH optimum produksi xilanase adalah pH 7 dengan produksi xilanase tertinggi yaitu 4,448 U/mL dan produksi xilanase terendah adalah pH 9 yaitu 3,629 U/mL.

Kata kunci: Enzim Xilanase, Bakteri Termofilik, suhu, pH.

Optimization of Temperature and pH of Thermophilic Bacteria Isolate MS 18 in Producing Xylanase Enzyme

Nur Shofiatun Nisa

ABSTRACT

Xylanase is an enzyme that is widely used in industry because this enzyme can hydrolyze xylan (hemicellulose) into xylooligosaccharides and xylose. The use of xylanase enzymes in the industry includes the food industry, textile industry, and paper industry. Examples of the use of xylanase enzymes in the food industry are in the manufacture of bread to increase the softness of bread dough, the textile industry, namely in the bio-processing of fabrics, such as bleaching fabrics (bio-bleaching), removing starch from fabric fibers (desizing) and increasing fabric absorption (bio-scouring) and the paper industry, namely as paper bleach and reducing the use of chlorine. Xylanase production is influenced by incubation temperature and pH, optimum conditions cause maximum xylanase production. This study aimed to determine the optimum incubation temperature and optimum pH of the MS 18 isolate thermophilic bacteria in producing the xylanase enzyme.

This research is a descriptive study with two stages, namely in stage 1 optimization of the incubation temperature of the thermophilic bacteria isolate MS 18 for the production of xylanase enzymes at various temperatures (50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C) in a triple and three-step method. 2, at various pH mediums (7; 7.5; 8; 8.5; 9; 9.5) in a triple. Enzyme activity was measured using a spectrophotometer with a wavelength of 540 nm. The data obtained are displayed in tabular form.

The results showed that the optimum temperature for xylanase production was at 50°C with the highest xylanase at 3.792 U/mL and the lowest at 65°C at 2.838 U/mL. And the optimum pH of xylanase production was found at pH 7 with the highest xylanase production at 4.448 U/mL and the lowest at pH 9 at 3.629 U/mL.

Keywords: Xylanase Enzyme, Thermophilic Bacteria, temperature, pH.

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya serta kesehatan lahir dan batin sehingga dengan ridho-Nya penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Optimasi Suhu dan pH Bakteri Termofilik Isolat MS 18 dalam Memproduksi Enzim Xilanase**”. Shalawat beserta salam untuk arwah Nabi Muhammad SAW junjungan umat seluruh alam.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada.

1. Ibu Dr. Irdawati, M.Si., Pembimbing, yang telah memberikan waktu, pikiran dan tenaga untuk membimbing serta mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, M.Biomed dan Ibu Dezi Handayani, S.Si, M.Si., Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi.
3. Ibu Dr. Irdawati, M.Si. Penasehat Akademik yang telah meluangkan waktu untuk memberikan arahan selama proses perkuliahan.
4. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, M.Biomed. Ketua Program Studi Biologi.
5. Bapak dan Ibu Dosen, Pimpinan, dan Staf Jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.

6. Kedua orang tua tercinta, ibunda Wilma Yendra dan ayahanda Arizal serta adik tercinta Gilang Maulana yang senantiasa memberikan doa dan dukungan serta selalu mengiringi setiap langkah penulis.
7. Sahabat, dan teman-teman Biologi Sains kelas B 2018 yang selalu memberikan dukungan juga kekuatannya yang sudah seperti saudara.
8. Keluarga besar Biologi Sains 2018 yang selalu memberikan dukungan serta doanya.
9. *Last but not least, I wanna thank me, I wanna thank me for believing in me, I wanna thank me for doing all this hard work, I wanna thank me for having no days off, I wanna thank me for never quitting.*

Semoga bantuan Bapak/Ibu serta rekan-rekan dapat bernilai ibadah dan mendapatkan pahala dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan baik isi maupun susunannya. Penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi semua orang yang membacanya.

Padang, 18 Februari 2022

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Bakteri Termofilik	7
B. Enzim Xilanase.....	9
C. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Produksi Enzim	12
BAB III METODE PENELITIAN	15
A. Jenis Penelitian	15
B. Waktu dan Tempat Penelitian	15
C. Alat dan Bahan	15
D. Prosedur Penelitian	16
E. Analisis Data	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
A. Hasil.....	22
B. Pembahasan.....	23
BAB V PENUTUP	29
A. Kesimpulan	29
B. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA.....	30
LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai rata-rata produksi xilanase pada beberapa perlakuan suhu bakteri termofilik isolat MS 18.....	22
2. Nilai rata-rata produksi xilanase pada beberapa perlakuan pH bakteri termofilik isolat MS 18.....	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Tabel Kurva Standar Xilosa	36
2. Data Hasil Optimasi Suhu Bakteri Termofilik MS 18 Dalam Memproduksi Xilanase	38
3. Data Hasil Optimasi pH Bakteri Termofilik Sel Bebas Terhadap Aktivitas Xilanase	39
4. Dokumentasi penelitian.....	40

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penggunaan enzim di bidang industri berkembang pesat seiring bertambahnya kemajuan bioteknologi. Penggunaan enzim dalam bidang industri berkisar 80% dari pemasaran enzim global. Sedikitnya 50% enzim yang ada sekarang ini dihasilkan dari organisme yang divariasikan secara genetik (Miguel *et al.*, 2013). Pemanfaatan enzim dalam kehidupan sehari-hari dapat digunakan dalam bidang pangan yaitu dalam pembuatan roti untuk meningkatkan kelembutan adonan (Shah *et al.*, 2006). Enzim juga digunakan dalam industri kertas dan deterjen terutama dalam proses pemutihan (*bleaching*) (Marisa, 2013). Enzim juga berperan dalam bio-proses kain, seperti: pemutihan kain (*bio-bleaching*), menghilangkan kanji (lemak dan minyak) pada serat kain sehingga dapat mengubah ukuran kain (*desizing*) dan meningkatkan daya serap kain (*bio-scouring*) (Dhiman *et al.*, 2008). Salah satu enzim yang banyak digunakan dalam bidang industri adalah enzim xilanase karena enzim ini dapat menghidrolisis xilan (Trismillah *et al.*, 2000).

Xilanase adalah enzim ekstraseluler yang berfungsi untuk menghidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi xilo-oligosakarida dan xilosa (Susilowati, 2012). Xilanase dapat memotong ikatan antara xilan yang terdapat pada selulosa yang berikatan dengan lignin, sehingga dapat memotong xilan menjadi monomernya, kemudian bisa melepaskan lignin dari selulosa sehingga menghasilkan pulp yang berwarna putih dan ramah lingkungan (Erika, 2016). Dikarenakan banyaknya pemanfaatan enzim xilanase dalam bidang industri maka perlu pengetahuan dan

pemahaman tentang sifat-sifat dalam penggunaan enzim xilanase agar lebih efektif dan efisien (Dhiman *et al.*, 2008).

Penggunaan enzim xilanase adalah cara alternatif yang bisa mengurangi penggunaan bahan-bahan kimia seperti klorin dan bahan lainnya yang bersifat toksik sekitar 20-40% (Beg, 2001). Hasil penelitian Garg *et al.*, (2013) penggunaan xilanase dalam *bioscouring* kain rami mampu meningkatkan kualitas kain sesudah proses pemutihan. Tingkat keputihan dan kecerahan kain yang menggunakan enzim masing-masing meningkat 10,96% dan 15,64% jika dibandingkan dengan pemutihan kain yang diolah secara kimiawi.

Proses pemutihan (*bleaching*) adalah suatu tahapan pemurnian untuk menghilangkan zat-zat warna yang tidak dipakai atau diinginkan dalam kain dan juga dapat berguna untuk meningkatkan kemurnian kain (Richana, 2002). Zat yang sering digunakan dalam proses bleaching adalah H_2O_2 dan klorin. Zat kimia ini sering digunakan karena prosesnya lebih cepat, namun penggunaan dalam waktu yang lama dapat memberikan dampak buruk bagi lingkungan (Irfanto, 2013).

Menurut Permenkes No. 472/Menkes/Per/V/1996 menyebutkan bahwa, klorin termasuk bahan berbahaya yang bersifat racun dan menyebabkan iritasi. Klorin (Cl_2) yang terdapat pada suatu bahan akan menghasilkan zat sampingan yang bersifat sangat toksik yaitu dioksin, merupakan senyawa beracun yang dapat menyebabkan kerusakan pada organ manusia (Nasution, 2015).

Xilanase diperlukan karena dapat menurunkan penggunaan bahan kimia pemutih, sehingga dapat mengurangi pencemaran senyawa klorin ke lingkungan (Cheng *et al.*, 2013). Enzim xilanase adalah salah satu enzim termostabil yang diproduksi dari mikroorganisme termofilik (Irdawati *et al.*, 2016).

Jenis mikroorganisme yang bisa menghasilkan enzim xilanase yaitu jamur dan bakteri. Contoh bakteri yang mampu menghasilkan enzim xilanase adalah *Bacillus. sp*, *Clostridium. sp*, *Beggiatoa. sp*, *Thermochromatium. sp* dan *Thermomonas. sp*, kemudian dari kelompok jamur adalah *Aspergillus. sp*, *Trichoderma. sp* dan *Penicillium. sp*. Enzim yang dihasilkan oleh bakteri lebih stabil pada suhu tinggi dibandingkan dengan jamur (Mulyani *et al.*, 2009). Bakteri termofilik dapat bertahan dengan baik pada suhu 40°C ataupun pada suhu lebih dari 40°C disebabkan banyaknya asam amino dan atom sulfur (sintesis protein) sehingga mampu membentuk ikatan disulfida yang banyak akan meningkatkan kemampuan enzim tersebut dalam mempertahankan konformasinya dan aktivitas katalitiknya dalam suhu lingkungan yang tinggi (Ngili, 2009). Menurut Campbell (2010) enzim yang memiliki ikatan sulfida yang banyak akan meningkatkan kemampuan enzim tersebut dalam mempertahankan konformasi dan aktivitas katalitiknya dalam suhu lingkungan yang tinggi.

Habitat bakteri termofilik yaitu sumber air panas, kawah gunung berapi dan kawasan hidrotermal ke dalaman laut. Menurut Sari (2012) yaitu sumber air panas bersifat basa sehingga memiliki kandungan mineral yang tinggi dan memungkinkan mikroorganisme termofilik dapat bertahan hidup dengan baik. Kemampuan mikroba pada suhu tinggi disebabkan mikroba memiliki struktur protein yang berbeda dari bakteri mesofil, sehingga bakteri dapat bertahan hidup pada suhu ekstrim. Berdasarkan hasil penelitian Irdawati *et al.*, (2016) air panas Mudik Sapan Kabupaten Solok Selatan memiliki suhu lingkungan yang tinggi, sehingga memungkinkan bakteri termofilik dapat hidup di lingkungan tersebut. Salah satu

isolat bakteri termofilik yang mampu memproduksi enzim xilanase tertinggi yaitu isolat MS 18.

Kondisi lingkungan optimum dapat mempengaruhi kerja enzim, dikarenakan enzim xilanase merupakan suatu protein yang memiliki aktivitas biokimia sebagai katalis suatu reaksi. Sehingga dengan munculnya perubahan konsentrasi substrat atau pH lingkungan akan mengakibatkan aktivitas enzim mengalami perubahan, hal lain yang juga dapat mempengaruhi aktivitas enzim yaitu suhu. Karena itu enzim memiliki suhu dan pH tertentu untuk mencapai keadaan optimum. Kondisi optimum dapat membantu enzim mengkatalis reaksi dengan baik. Sedangkan suhu dan pH yang tidak optimum (kurang sesuai) akan mengakibatkan kerusakan atau tidak aktifnya enzim sehingga fungsi atau kegunaan enzim tersebut akan berkurang (Budiman, 2009).

Xilanase dari bakteri termofilik isolat MS 18 berpotensi sebagai zat pemutih kain yang ramah lingkungan dikarenakan mampu mencerahkan kain dengan menurunkan bilangan kappa, sebanyak 2,21 dibandingkan tanpa penggunaan xilanase (3,42). Semakin rendah bilangan kappa menunjukkan semakin putihnya kain (*brightness*) sebab xilanase dapat memutuskan ikatan xilan dengan lignin (Hidayati, 2021).

Tingkat keputihan kain rami tertinggi diperoleh dari enzim xilanase bakteri termofilik *Bacillus pumilus* terdapat pada suhu 55°C yaitu berdasarkan ISO-2470 (16.10 ± 0.12) (Garg *et al.*, 2013). Menurut penelitian Battan *et al.*, (2012) bahwa produksi enzim xilanase yang dihasilkan bakteri termofilik *B. pumilus* dapat meningkatkan kecerahan kain maksimum pada suhu 60°C.

Variasi suhu 70°C merupakan kondisi paling optimum untuk menghasilkan enzim xilanase dengan nilai produksi xilanase yaitu 8,992 U/mL dan pada variasi suhu 50°C merupakan suhu terendah dalam aktivitas enzim menghasilkan xilanase (Irdawati *et al.*, 2019). Penelitian Putri (2018) menyatakan bahwa bakteri termofilik dapat tumbuh optimum pada suhu 60°C yaitu 12,192 U/mL yang berasal dari sumber air panas Sapan Sungai Aro.

Selain suhu optimum, pH juga mempengaruhi enzim xilanase dalam membentuk kompleks enzim-substrat pada semua sisi aktif enzim. Suhu optimum enzim xilanase berada pada sebagian besar suhu optimum *Bacillus sp.* Kestabilan enzim xilanase terhadap suhu dan pH disebabkan oleh kemampuan enzim dalam menjaga konformasinya, sehingga dapat menjaga aktivitasnya pada kondisi tertentu. Rendahnya aktivitas enzim setelah diinkubasi pada suhu tertentu disebabkan oleh berubahnya konformasi xilanase yang bersifat detrimental sehingga jumlah xilanase yang aktif berkurang (Richana *et al.*, 2008).

Bakteri termostabil *B. pumilus* mampu memproduksi xilanase secara maksimal pada pH 8 dan dapat meningkatkan kecerahan kain (Battan *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil penelitian Garg *et al.*, (2013) yaitu tingkat kecerahan kain rami tertinggi yang dihasilkan dari produksi xilanase bakteri termofilik *B. pumilus* terjadi pada pH 7,5 yaitu berdasarkan ISO-2470 ($15,97 \pm 0.14$). Menurut hasil penelitian Putri (2019) bakteri termofilik yang diperoleh dari sumber air panas Sapan Sungai Aro Solok Selatan memiliki pH optimum adalah pH 8,5 dengan aktivitas enzim yaitu 16,381 U/mL.

Berdasarkan latar belakang yang sudah dipaparkan maka penulis melakukan penelitian mengenai “Optimasi Suhu Dan pH Bakteri Termofilik MS 18 Dalam Memproduksi Enzim Xilanase”

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Berapakah suhu inkubasi bakteri termofilik isolat MS 18 yang optimum dalam memproduksi enzim xilanase?
2. Berapakah pH bakteri termofilik isolat MS 18 yang optimum dalam memproduksi enzim xilanase?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui suhu inkubasi bakteri termofilik isolat MS 18 yang optimum dalam memproduksi enzim xilanase.
2. Mengetahui pH bakteri termofilik isolat MS 18 yang optimum dalam memproduksi enzim xilanase.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Menambah wawasan dan ilmu pengetahuan dalam bidang mikrobiologi.
2. Memberikan informasi bahwa enzim xilanase merupakan enzim yang cocok untuk diaplikasikan karena mendukung proses yang ramah lingkungan dan bernilai ekonomis.
3. Memberikan informasi bahwa variasi suhu dan pH yang diberikan pada enzim xilanase dapat mempengaruhi aktivitas enzim.