

**OPTIMASI SUHU DAN pH BAKTERI TERMOFILIK AMOBIL
UNTUK PRODUKSI XILANASE SEBAGAI BAHAN PEMUTIH
LIMBAH KERTAS BERTINTA**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Sains



**OLEH:
DEWI RAHMA PUTRI
17032015/2017**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2021**

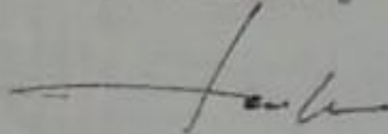
HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

OPTIMASI SUHU DAN pH BAKTERI TERMOFILIK AMOBIL UNTUK PRODUKSI XILANASE SEBAGAI BAHAN PEMUTIH LIMBAH KERTAS BERTINTA

Nama : Dewi Rahma Putri
Nim/TM : 17032015/2017
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

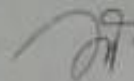
Padang, 30 Agustus 2021

Mengetahui:
Ketua Jurusan Biologi



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

Disetujui Oleh:
Dosen Pembimbing



Dr. Irdawati, M.Si
NIP. 19701103199403 2 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Dewi Rahma Putri
NIM/TM : 17032015/2017
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

OPTIMASI SUHU DAN pH BAKTERI TERMOFILIK AMOBIL UNTUK PRODUKSI XILANASE SEBAGAI BAHAN PEMUTIH LIMBAH KERTAS BERTINTA

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

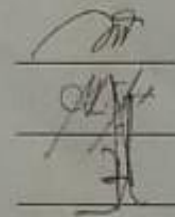
Padang, 30 Agustus 2021

Tim Penguji

Nama

Tanda Tangan

1. Ketua : Dr. Irdawati, M. Si
2. Anggota : Dr. Linda Advinda, M. Kes
3. Anggota : Drs. Mades Fifendy, Biomed



SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

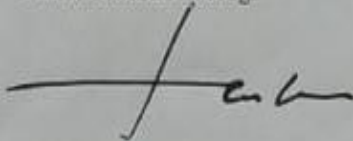
Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dewi Rahma Putri
NIM/TM : 17032015/2017
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul **“Optimasi Suhu dan pH Bakteri Termofilik Amobil untuk Produksi Xilanase Sebagai Bahan Pemutih Limbah Kertas Bertinta”** adalah benar merupakan karya sendiri, bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya yang ditulis dan diterbitkan orang lain kecuali sebagaiaan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

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

Diketahui oleh,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed
NIP. 19750815 2006042 001

Padang, 4 November 2021

Saya yang menyatakan,



Dewi Rahma Putri
NIM. 17032015

Optimasi Suhu dan pH Bakteri Termofilik Amobil untuk Produksi Xilanase sebagai Bahan Pemutih Limbah Kertas Bertinta

Dewi Rahma Putri

ABSTRAK

Pemanfaatan enzim xilanase dalam proses pelepas tinta pada kertas bekas merupakan salah satu cara untuk mengurangi penggunaan bahan kimia seperti klorin dan hydrogen peroksida dalam industri pulp dan kertas. Xilanase dapat dihasilkan dari beberapa mikroorganisme seperti bakteri, kapang, dan khamir. Bakteri termofilik mempunyai potensi untuk menghasilkan enzim xilanase yang sangat penting dalam proses industri dan bioteknologi. Dalam menghasilkan enzim digunakan teknik amobilisasi sel agar dapat menjaga kestabilan sel dan bisa digunakan secara berulang. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh suhu, pH terhadap aktproduksi enzim oleh bakteri termofilik amobil menggunakan substrat ekstrak xilan jerami padi dan untuk melihat pengaruh pemberian xilanase terhadap tingkat keputihan Limbah kertas bertinta.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen dan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Aktivitas enzim diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Data hasil aktivitas enzim dianalisis menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf 5% dan tingkat keputihan kertas ditentukan dengan melakukan pengujian bilangan kappa.

Hasil yang diperoleh adalah suhu bakteri termofilik amobil menggunakan substrat ekstrak xilan jerami padi berpengaruh nyata terhadap aktivitas enzim xilanase dengan suhu optimum 75°C memiliki nilai rata-rata aktivitas enzim tertinggi 4,668 U/mL. Sedangkan pengaruh pH terhadap aktivitas xilanase tidak terdapat perbedaan yang nyata. Penambahan enzim xilanase pada proses fermentasi limbah kertas bertinta mampu meningkatkan kecerahan kertas bertinta dengan nilai rata-rata bilangan kappa lebih rendah yaitu 2,762 dibandingkan dengan control yang lebih tinggi yaitu 5,525.

Kata kunci: Enzim Xilanase, Bakteri Termofilik, Amobilisasi, Kertas bertinta.

Optimization of Temperature and pH of Immobilized Thermophilic Bacteria for Xylanase Production as a Bleach Material for Inked Paper Waste

Dewi Rahma Putri

ABSTRACT

The use of xylanase enzyme in the process of releasing ink on waste paper is to reduce the use of chemicals such as chlorine and hydrogen peroxide in the pulp and paper industry. Xylanase can be produced from several microorganisms such as bacteria, molds, and yeasts. Thermophilic bacteria have the potential to produce xylanase enzymes which are very important in industrial and biotechnological processes. In producing enzymes, cell immobilization techniques are used to make it easier to control stability and can be used repeatedly. This study aimed to determine the effect of temperature, pH on enzyme activity by immobilized thermophilic bacteria using rice straw xylan extract as a substrate and to see the effect of xylanase administration on the whiteness level of inked paper waste.

This study was an experimental study and used a completely randomized design (CRD). Enzyme activity was measured using a spectrophotometer at a wavelength of 540 nm. The enzyme activity data were analyzed using ANOVA test and continued with the DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) further with a level of 5% and the whiteness of the paper was determined by testing the kappa number.

The results obtained were that the temperature of immobilized thermophilic bacteria using rice straw xylan extract as a substrate had a significant effect on xylanase enzyme activity with an optimum temperature of 75°C having the highest average value of enzyme activity 4.668 U/mL. While the effect of pH on xylanase activity there was no significant difference. The addition of xylanase enzyme in the fermentation process of inked paper waste was able to increase the brightness of the inked paper with a lower average value of kappa number of 2.762 compared to the higher control of 5.525.

Keywords: Xylanase Enzyme, Thermophilic Bacteria, Immobilization, Inked Paper.

KATA PENGANTAR

Penulis mengucapkan puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi tentang “Optimasi Suhu dan pH Bakteri Termofilik Amobil Menggunakan Substrat Ekstrak Xilan Jerami Padi untuk Produksi Xilanase sebagai Bahan Pemutih Limbah Keras Bertinta”. Shalawat beriring salam penulis kirimkan untuk arwah Rasullullah 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 dan mengarahkan penulis dengan sangat sabar saat penyelesaian skripsi.
2. Bapak Drs. Mades Fifendy, M. Biomed dan Ibu Dr. Linda Advinda, M. Kes., Dosen penguji yang telah memberikan arahan, saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini.
3. Bapak Dr Azwir Anhar M. Si, Penasehat Akademik yang telah meluangkan waktu untuk memberikan arahan selama proses perkuliahan.
4. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed., Ketua Program Studi Biologi.
5. Pimpinan, Bapak dan Ibu Dosen, dan Staf Jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.

Semoga bantuan Bapak/Ibu dan rekan-rekan dapat bernilai ibadah dan mendapatkan balasan yang setimpal dari Allah SWT. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua kalangan yang membaca dan untuk penelitian selanjutnya.

Padang, 30 Agustus 2021

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Hipotesis Penelitian.....	6
E. Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. Bakteri Termofilik.....	8
B. Xilan.....	10
C. Enzim Xilanase	11
D. Amobilisasi Sel dengan Alginat.....	12
E. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Produksi Enzim	14
F. Pemutihan Kertas Bertinta	16
BAB III METODE PENELITIAN	18
A. Jenis Penelitian.....	18
B. Waktu dan Tempat Penelitian	18
C. Alat dan Bahan.....	18
D. Rancangan Penelitian	19
E. Prosedur Penelitian.....	20
F. Pengamatan	25
G. Teknik Analisis Data.....	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
A. Hasil	26

B. Pembahasan.....	28
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	34
A. Kesimpulan	34
B. Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA.....	35
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai rata-rata aktivitas xilanase pada beberapa perlakuan suhu bakteri termofilik amobil isolat SSA ₂	26
2. Nilai rata-rata aktivitas xilanase pada beberapa perlakuan pH	27
3. Hasil pengujian bilangan kappa pada limbah kertas bertinta.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Tabel Kurva Standar Xilosa	42
2. Data Hasil Optimasi Suhu Bakteri Termofilik Amobil Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase.....	44
3. Data Hasil Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase	47
4. Data Pengujian Bilangan Kappa pada Limbah Bertinta	48
5. Dokumentasi Penelitian	59

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kertas merupakan bahan yang tipis dan rata yang biasanya terbuat dari kayu dengan kadar serat 39% (Asngad *et al.*, 2016). Menurut Kementerian Perindustrian Republik Indonesia (2015) jumlah produksi kertas di Indonesia mencapai 10,4 juta ton per tahun dan menduduki peringkat keenam dunia. Peningkatan produksi kertas memberikan dampak yang kurang baik terhadap lingkungan. Penelitian Bahri (2015) menyatakan sampai saat ini bahan baku utama *pulp* yang banyak digunakan adalah kayu. Akibatnya penebangan hutan menjadi semakin meluas.

Alternatif untuk mengatasi permasalahan meluasnya penebangan kayu yang digunakan dalam pembuatan kertas adalah dengan menggunakan kembali kertas bekas sebagai bahan baku kertas. Kertas bekas merupakan bahan baku yang mudah didapat dengan kapasitas yang banyak dan dapat digunakan secara berkelanjutan untuk produksi kertas (Bajpai, 2014). Kertas bekas yang sudah mengalami pengolahan merupakan bahan baku serat yang dikenal dengan istilah serat sekunder (*secondary fiber*) (Rismijana *et al.*, 2003).

Untuk membuat kertas putih tulis dengan memperoleh serat dari jenis kertas bekas yang mengandung tinta biasanya dilakukan melalui proses *deinking*. *Deinking* adalah proses penghilangan tinta dari serat (Rismijana *et al.*, 2006). *Deinking* konvensional dilakukan dengan menambahkan bahan kimia seperti natrium hidroksida, natrium silikat dan hidrogen peroksida untuk membantu pelepasan tinta (Wirawan *et al.*, 2008). Dengan menggunakan bahan kimia

tersebut akan menghasilkan limbah kimia yang berdampak pada pencemaran lingkungan (Rismijana *et al.*, 2003). Untuk menghindari kerusakan lingkungan yang disebabkan oleh bahan kimia pemutih kertas dapat digunakan enzim sebagai bahan pengganti dalam pemutihan kertas yang ramah lingkungan, proses pelepasan tinta pada kertas dengan menggunakan enzim disebut juga dengan *Biodeinking* (Hader *et al.*, 2013). Salah satu enzim yang banyak dimanfaatkan adalah enzim xilanase (Takhur *et al.*, 2012).

Xilanase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis xilan menjadi xilooligosakarida dan xilosa (Susilowati *et al.*, 2012). Xilanase memiliki peranan yang besar dalam bidang industri seperti pada industri makanan (Schoenlechner *et al.* 2013), pengolahan tekstil (Sanghi *et al.*, 2008), dan industri *pulp* dan kertas (Sharma *et al.* 2014). Pada industri *pulp* dan kertas enzim xilanase dapat merubah struktur serat dengan memutus ikatan xilosa-xilosa dalam rantai xilan (Beg *et al.*, 2001).

Xilan adalah komponen utama pada hemiselulosa (Beg *et al.*, 2001). Xilan merupakan substrat dari enzim xilanase yang terdapat dalam *Beechwood Xylan*. Produksi enzim xilanase dalam skala besar menggunakan substrat xilan murni terlalu mahal, untuk itu perlu digunakan substrat alternatif yang harganya relatif lebih murah (Richana *et al.*, 2004).

Xilan banyak ditemukan pada limbah pertanian berlignoselulosa (hemiselulosa, selulosa, dan lignin) seperti, jerami padi, dedak padi, dedak gandum, tongkol jagung dan ampas tebu (Utarti dan Siswanto, 2018). Penelitian Soffiyyana (2020) menyatakan aktivitas enzim yang terdapat pada substrat xilan hasil ekstraksi jerami padi yaitu 6,033 U/mL. Jika dibandingkan dengan substrat

alternatif lainnya, menggunakan substrat ekstrak xilan jerami padi memiliki aktivitas lebih tinggi dari pada substrat ekstrak xilan sekam padi dengan aktivitas enzim 5,677 U/mL dan tongkol jagung yang aktivitas enzimnya 5,785 U/mL.

Xilan merupakan *inducer* pada media pertumbuhan untuk memproduksi enzim xilanase (Patong, 2013). Beberapa industri membutuhkan xilanase yang aktif, tahan dan stabil pada suhu tinggi (xilanase termostabil), sehingga memudahkan substrat untuk larut, mempercepat reaksi dan mencegah kontaminasi (Susilowati *et al.*, 2012). Enzim xilanase termostabil dapat diproduksi oleh bakteri termofilik (Irdawati *et al.*, 2016). Bakteri termofilik adalah bakteri yang mampu bertahan hidup pada suhu yang tinggi berkisar 50°C sampai 80°C (Runtuboi *et al.*, 2018). Bakteri termofilik yang dapat menghasilkan xilanase termostabil diantaranya adalah *Bacillus subtilis* (Annamalai *et al.*, 2009) dan *Pseudomonas* (Susilowati *et al.*, 2012). Bakteri termofilik dapat dijumpai pada sumber air panas, kawah gunung merapi dan daerah vulkanik lainnya (Wahyuna, 2012).

Indonesia merupakan wilayah yang banyak memiliki sumber air panas. Dengan hal ini Indonesia berpotensi tinggi untuk menghasilkan mikroorganisme termofilik penghasil enzim xilanase termostabil. Salah satu sumber air panas yang ada di Indonesia adalah sumber air panas Sapan Sungai Aro di Kabupaten Solok Selatan yang memiliki suhu 7,5°C dan pH 8 (Irdawati *et al.*, 2016). Isolat SSA2 yang diperoleh dari sumber air panas Sapan Sungai Aro Solok Selatan dapat menghasilkan enzim xilanase secara maksimum. Terbukti dari tingginya indeks xilanolitik SSA 2 dibandingkan dengan isolat lainnya yaitu 0,74 (Irdawati *et al.*, 2018).

Pemanfaatan mikroorganisme dalam sektor industri biasanya digunakan dalam keadaan bebas (*free cell*). Penggunaan sel bebas dalam proses fermentasi memiliki beberapa kekurangan, diantaranya sel bebas akan tercampur bersama substrat dan produknya sehingga tidak bisa digunakan secara berulang. Untuk memudahkan sel terpisah dari substrat dan produknya dapat dilakukan dengan metode amobilisasi (Susanti dan Fibriana, 2017).

Amobilisasi sel adalah penjebakan sel bakteri dengan menggunakan matriks. Matriks yang dapat digunakan diantaranya adalah Ca alginat karena memiliki kestabilan yang baik, tidak beracun dan dapat diaplikasikan dengan mudah (Kusumaningtias *et al*, 2016). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Maulidina (2019) menggunakan metode amobilisasi xilanase dari *Aspergillus niger* dapat digunakan sebanyak 3 kali. Penelitian Sari *et al.*, (2014) menyatakan Metode amobilisasi dapat mencegah kerusakan enzim yang disebabkan oleh pengaruh lingkungan yang tidak stabil.

Produksi enzim oleh mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor pendukung keberhasilan produksi enzim, seperti konsentrasi starter, agitasi (Bai *et al.*, 2013), suhu dan pH (Garg *et al.*, 2011). Aktivitas enzim akan menurun jika tidak bekerja pada suhu dan pH optimum (Nurkhatimah, 2017). Aktivitas enzim akan dipengaruhi oleh pH karena berkaitan dengan keberadaan ion hidrogen. Enzim dapat aktif apabila asam amino yang merupakan sisi aktif enzim berada dalam keadaan ionisasi yang tepat. Pada pH optimum, enzim memiliki konformasi sisi aktif yang sesuai dengan substrat sehingga dapat membentuk kompleks enzim-enzim yang tepat dan menghasilkan produk secara maksimal (Habibie *et al.*, 2014).

Aktivitas Enzim juga akan dipengaruhi oleh suhu. Semua enzim memerlukan jumlah panas tertentu untuk dapat aktif. Sejalan dengan meningkatnya suhu, aktivitas enzim akan meningkat hingga mencapai kondisi optimum (Pakpohan, 2009). Pada suhu optimum enzim mampu bekerja secara maksimal dan memiliki konformasi sisi aktif yang stabil. Pada suhu maksimum enzim akan terdenaturasi karena struktur proteinnya terbuka, sehingga aktivitas enzim menjadi menurun (Habibie *et al.*, 2014).

Aktivitas enzim yang optimum akan dapat meningkatkan tingkat keputihan pada kertas dan dapat mengurangi bilangan kappa. Bilangan kappa merupakan parameter yang digunakan untuk menentukan keputihan pada kertas (McDonough, 2009). Penelitian Irdawati *et al.*, (2018) menggunakan isolat SSA 2 dengan metode amobilisasi serta menggunakan media pertumbuhan *Beechwood xylan* menghasilkan aktivitas tertinggi pada pH 7,5 suhu 70°C. Penelitian Irdawati *et al.*, (2020) menyatakan bahwa pada suhu 60°C isolate SSA₂ mampu menghasilkan aktivitas enzim tertinggi yaitu 14,432 U/mL dan bilangan kappa terendah yaitu 1,031. Sedangkan pH optimum dalam proses fermentasi *pulp* adalah pH 8,5 dengan menghasilkan aktivitas enzim tertinggi yaitu 16,567 U/mL dan bilangan kappa terendah yaitu 0,921.

Berdasarkan latar belakang yang sudah dipaparkan maka penulis melakukan penelitian tentang Optimasi Suhu dan pH Bakteri Termofilik Amobil Menggunakan Substrat Ekstrak Xilan Jerami Padi untuk Produksi Xilanase sebagai Bahan Pemutih Limbah Kertas Bertinta.

B. Rumusan Masalah

1. Berapakah suhu optimum untuk produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil menggunakan substrat ekstrak xilan jerami padi?
2. Berapakah pH optimum untuk produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil menggunakan substrat ekstrak xilan jerami padi?
3. Bagaimanakah pengaruh enzim yang diproduksi pada suhu dan pH optimum terhadap kecerahan limbah kertas bertinta pada fermentasi limbah kertas bertinta oleh bakteri termofilik amobil ?

C. Tujuan Penelitian

1. Menentukan suhu optimum untuk produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil menggunakan substrat ekstrak xilan jerami padi.
2. Menentukan pH optimum untuk produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil menggunakan substrat ekstrak xilan jerami padi.
3. Mengetahui kecerahan limbah kertas bertinta dengan penambahan enzim yang dihasilkan pada suhu dan pH optimum pada fermentasi limbah kertas bertinta oleh bakteri termofilik amobil.

D. Hipotesis Penelitian

1. Suhu optimum berpengaruh terhadap produksi enzim xilanase oleh bakteri termofilik amobil dengan substrat ekstrak xilan jerami padi.
2. pH optimum berpengaruh terhadap produksi enzim xilanase oleh bakteri termofilik amobil dengan substrat ekstrak xilan jerami padi.
3. Penambahan enzim yang diproduksi pada suhu dan pH optimum berpengaruh terhadap kecerahan limbah kertas bertinta pada fermentasi limbah kertas bertinta oleh bakteri termofilik amobil.

E. Manfaat Penelitian

1. Berguna untuk mengembangkan pengetahuan dalam bidang mikrobiologi.
2. Memberikan informasi bahwa enzim xilanase dapat digunakan sebagai bahan pemutih kertas bertinta ramah lingkungan
3. Proses *Biodeinking* bermanfaat untuk mengurangi limbah kertas tanpa merusak lingkungan.
4. Memberikan informasi bahwa enzim xilanase dengan menggunakan suhu dan pH optimum menggunakan substrat ekstrak xilan jerami padi dapat meningkatkan keputihan limbah kertas bertinta.
5. Memberikan informasi bahwa enzim xilanase yang dihasilkan oleh bakteri termofilik sangat cocok digunakan dalam proses industri yang memerlukan suhu tinggi.
6. Memberikan informasi bahwa pemanfaatan mikroba dengan teknik amobil bernilai ekonomis karena dapat digunakan secara berulang.