POTENSI EKSTRAKSI XILAN DARI SUBSTRAT JERAMI PADI UNTUK PRODUKSI XILANASE OLEH BAKTERI TERMOFILIK AMOBIL DENGAN VARIASI SUMBER KARBON

SKRIPSI

Oleh
ZAHARA NURFATIHAH Z
18032149/2018

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG

2022

POTENSI EKSTRAKSI XILAN DARI SUBSTRAT JERAMI PADI UNTUK PRODUKSI XILANASE OLEH BAKTERI TERMOFILIK AMOBIL DENGAN VARIASI SUMBER KARBON

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Sains

Oleh
ZAHARA NURFATIHAH Z
18032149/2018

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

2022

PERSETUJUAN SKRIPSI

POTENSI EKSTRAKSI XILAN DARI SUBSTRAT JERAMI PADI UNTUK PRODUKSI XILANASE OLEH BAKTERI TERMOFILIK AMOBIL DENGAN VARIASI SUMBER KARBON

Nama	: Zahara Nurfatihah Z
NIM	: 18032149
Program Studi	: Biologi
Jurusan	: Biologi
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 27 Januari 2022

Mengetahui	Disetujui Oleh:
Ketua Jurusan	Pembimbing
Dr. Dwi Hilda Putri, S. Si, M. Biomed	Dr. Irdawati, M. Si
NIP. 19750815 2006042 001	NIP. 19710430 200112 2 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama	: Zahara Nurfatihah Z
NIM	: 18032149
Program Studi	: Biologi
Jurusan	: Biologi
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

POTENSI EKSTRAKSI XILAN DARI SUBSTRAT JERAMI PADI UNTUK PRODUKSI XILANASE OLEH BAKTERI TERMOFILIK AMOBIL DENGAN VARIASI SUMBER KARBON

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Jurusan Biologi Fakultas Matematikadan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Padang

Padang, 08 Februari 2022

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
Ketua	: Dr. Irdawati, M. Si.	
Anggota	: Dr. Dwi Hilda Putri, M. Biomed.	
Anggota	: Dr. Linda Advinda, M. Kes.	

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Zahara Nurfatihah Z
NIM/TM	: 18032149/2018
Program Studi	: Biologi
Jurusan	: Biologi
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul "Potensi Ekstraksi Xilan dari Substrat Jerami Padi untuk Produksi Xilanase oleh Bakteri Termofilik Amobil dengan Variasi Sumber Karbon" 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 sebagai acuan 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.

Padang, 08 Februari 2022

Diketahui oleh,
Ketua Jurusan Biologi

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

Saya yang menyatakan,

METERAI TEMPEL
DBEDEAJX665987177

Zahara Nurfatihah Z
NIM. 18032149

Potensi Ekstraksi Xilan dari Substrat Jerami padi untuk Produksi Xilanase oleh Bakteri Termofilik Amobil dengan Variasi Sumber Karbon

Zahara Nurfatihah Z

ABSTRAK

Xilanase adalah enzim ekstraseluler yang dimanfaatkan dalam berbagai industri. Xilanase dapat menghidrolisis xilan menjadi xilosa dan xilo-oligosakarida. Bakteri termofilik isolat SSA_2 dapat menghasilkan xilanase. Produksi xilanase oleh bakteri termofilik sel bebas tidak dapat digunakan untuk fermentasi berulang sehingga dilakukan amobilisasi sel. Produksi xilanase dapat berjalan dengan baik apabila adanya xilan sebagai substrat. Xilan dapat diperoleh dari limbah pertanian seperti jerami padi melalui ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Tujuan penelitian ini untuk menentukan pelarut yang terbaik dalam mengekstraksi xilan dari substrat jerami padi dan menentukan sumber karbon yang terbaik untuk produksi enzim xilanase dari substrat jerami padi oleh bakteri termofilik amobil isolat SSA_2.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan 2 tahap. Tahap 1 adalah optimasi ekstraksi xilan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. Tahap ini memiliki dua faktor yaitu jenis pelarut dengan 5 perlakuan dan konsentrasi pelarut dengan 3 perlakuan, masing-masing perlakuan 3 ulangan. Tahap 2 adalah optimasi sumber karbon menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang memiliki 5 perlakuan dan 3 ulangan. Data hasil optimasi ekstraksi dengan berbagai pelarut dan aktivitas enzim xilanase pada variasi sumber karbon dianalisis dengan uji ANOVA dan uji lanjut DMRT pada taraf nyata 5%.

Hasil penelitian menunjukkan pelarut ekstraksi tidak berpengaruh nyata terhadap hasil rendemen xilan. Pelarut yang memiliki kecenderungan lebih baik dalam mengekstraksi xilan dari jerami padi adalah $NaClO_2$ 2% dengan nilai rata-rata rendemen xilan tertinggi sebesar 28,7%. Penambahan sumber karbon berpengaruh terhadap produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil isolat SSA_2. Penambahan xilosa sebagai sumber karbon menghasilkan aktivitas xilanase tertinggi sebesar 90,7 Unit/mL.

Kata kunci : Xilanase, Jerami Padi, Ekstraksi, Sumber Karbon.

Potential of Xylan Extraction from Rice Straw Substrate for Xylanase Production by Immobilized Thermophilic Bacteria with Variation of Carbon Sources

Zahara Nurfatihah Z

ABSTRACT

Xylanase is an extracellular enzyme that is used in various industries. Xylanase can hydrolyze xylan into xylose and xylo-oligosaccharides. Thermophilic bacteria isolate SSA_2 can produce xylanase. The production of xylanase by thermophilic bacteria cell-free cannot be used for repeated fermentation so that cell immobilization is carried out. Xylanase production can run well in the presence of xylan as a substrate. Xylan can be obtained from agricultural wastes such as rice straw by extraction using suitable solvents. The purpose of this research was to determine the best solvent for extracting xylan from rice straw substrate and determine the best carbon source for the production of xylanase enzyme from rice straw substrate by immobilized thermophilic bacteria isolate SSA_2.

This research is an experimental research with 2 stages. Stage 1 is the optimization of xylan extraction using a factorial completely randomized design (RAL). This stage has two factors, type of solvent with 5 treatments and the concentration of the solvent with 3 treatments, each treatment with 3 replications. Stage 2 is the optimization of carbon sources using a completely randomized design (RAL) which has 5 treatments and 3 replications. The results of the optimization of extraction with various solvents and the activity of the xylanase enzyme on various carbon sources were analyzed by ANOVA test and DMRT further test at a significance level of 5%.

The results showed that the extraction solvent had no significant effect on the yield of xylan. The solvent that had a better tendency to extract xylan from rice straw was $NaClO_2$ 2% with the highest average value of xylan yield of 28.7%. The addition of a carbon source affected the production of xylanase by immobilized thermophilic bacteria isolate SSA_2. The addition of xylose as a carbon source resulted in the highest xylanase activity of 90.7 Unit/mL.

Keywords: Xylanase, Rice Straw, Extraction, Carbon Source.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Penulis mengucapkan puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi tentang "Potensi Ekstraksi Xilan dari Substrat Jerami untuk Produksi Xilanase oleh Bakteri Termofilik Amobil dengan Variasi Sumber". 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., sebagai pembimbing dan penasehat akademik, yang telah meluangkan waktu untuk memberikan arahan selama perkuliahan, memberikan waktu, fikiran dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dengan sangat sabar saat penyelesaian skripsi.
2. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S. Si., M. Biomed sebagai dosen penguji dan ketua Program Studi Biologi yang telah membantu dan memberikan arahan, saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Linda Advinda, M. Kes., sebagai dosen penguji yang telah memberikan arahan, saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini.
4. Bapak dan Ibu Dosen, Pimpinan, dan Staf Jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.

5. Kedua orang tua yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini
6. Keluarga besar Biologi Sains 2018 yang telah memberikan dukungan.

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, Januari 2022

Penulis

DAFTAR ISI

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. Hipotesis Penelitian 6
D. Tujuan Penelitian 6
E. Manfaat Penelitian 7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 8
A. Enzim Xilanase 8
B. Sumber Karbon 9
C. Ekstraksi Xilan 11
D. Jerami Padi 13
E. Bakteri Termofilik 14
F. Amobilisasi Sel 16
BAB III METODE PENELITIAN 18
A. Jenis Penelitian 18
B. Waktu dan Tempat Penelitian 18
C. Alat dan Bahan 18
D. Prosedur Penelitian 20
E. Pengamatan 23
F. Analisis Data 24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 25
A. Hasil 25
B. Pembahasan 27
BAB V PENUTUP 32
A. Kesimpulan 32
B. Saran 32

DAFTAR PUSTAKA 33
LAMPIRAN 43

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Rendemen Xilan pada Pelarut yang Berbeda 25

2. Aktivitas Xilanase pada Penambahan Sumber Karbon Berbeda 27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Kurva Standar Xilosa 43

2. Optimasi Ekstraksi Xilan dengan Berbagai Jenis Pelarut 44

3. Optimasi Produksi Xilanase dengan Penambahan Sumber Karbon t 49

4. Dokumentasi Penelitian.....55

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Jerami padi merupakan limbah pertanian yang hampir tersedia sepanjang tahun. Produksi jerami padi kurang lebih 1,4 kali dari hasil panen (Kim dan Dale, 2004). Pada tahun 2020, terhitung produksi padi nasional sebesar 54,65 juta ton (BPS, 2020) dengan demikian produksi jerami padi diperkirakan mencapai 76,51 juta ton. Berdasarkan data Badan Litbang Pertanian (2012), pemanfaatan jerami padi masih kurang optimal yakni hanya 15-22% dimanfaatkan sebagai sumber pakan ternak dan 36% dimanfaatkan untuk pembuatan kompos, sedangkan 37% lainnya masih belum dimanfaatkan sehingga lebih sering dilakukan pembakaran yang dapat menyebabkan pencemaran udara. Padahal jerami padi merupakan limbah pertanian yang kaya lignoselulosa. Menurut Kumar *et al.,* (2008) jerami padi merupakan limbah lignoselulosa yang mengandung selulosa 41,3%, hemiselulosa 20,4% dan lignin 12,1%. Berdasarkan penelitian tersebut, kandungan hemiselulosa dalam jerami padi cukup tinggi memungkinkan pemanfaatannya menjadi produk yang bernilai ekonomis.

Hemiselulosa adalah polisakarida heterogen yang tersusun oleh gula pentosa dan heksosa (Richana *et al.,* 2004). Hemiselulosa mengandung xilan sebagai komponen utama (Firdausa *et al.,* 2017). Xilan adalah polimer dengan rantai utamanya tersusun oleh pentosa atau xilosa dengan ikatan glikosidik β-1,4, terdiri atas 150-200 unit monomer (Richana *et al.,* 2007). Xilan pada jerami padi dapat diperoleh melalui proses ekstraksi (Fairus *et al.,* 2013).

Ekstraksi adalah teknik pemisahan suatu komponen dari campurannya baik padatan maupan cairan menggunakan pelarut (Aziz *et al.,* 2009). Adapun kandungan senyawa hasil ekstraksi dipengaruhi oleh beragam faktor antara lain metode ekstraksi, suhu, konsentrasi pelarut dan jenis pelarut (Senja *et al.,* 2014). Berdasarkan penelitian Richana *et al.,* (2007) melaporkan sebanyak 12,95% rendemen xilan berhasil diekstrak dari tongkol jagung menggunakan NaOCl dengan kemurnian 97,47%. Carvalho *et al.,* (2020) melaporkan penggunaan KOH dapat mengekstraksi xilan dari ampas tebu dengan menghasilkan aktivitas endoxilanase 40,2 U/mL. Penelitian Septevani *et al.,* (2018) melaporkan redemen hemiselulosa tandan kosong kelapa sawit sebesar 16,6% berhasil diekstrak dengan penggunaan $NaClO_2$. Hasil penelitian Jie *et al.,* (2019) melaporkan sebesar 87,72% rendemen xilan hemiselulosa berhasil diekstrak dari tongkol jagung menggunakan H_2O_2. Hasil penelitian Rowley *et al.,* (2013) menunjukkan bahwa ekstraksi brangkasan jagung menggunakan DMSO dapat menghasilkan rendemen xilan sebesar 8,7%.

Xilan hasil ekstraksi dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku industri (Firdausa *et. al,* 2017) dengan menghasilkan furfural (senyawa organik yang digunakan sebagai pelarut selektif) melalui proses hidrolisis xilan yang dapat digunakan sebagai pelarut industri minyak bumi dan bahan baku pembuatan bahan kimia lainnya (Richana *et al.,* 2007; Sinaga, 2019). Selain itu, xilan dimanfaatkan sebagai sumber karbon (Richana *et al.,* 2006) dan substrat untuk menginduksi mikroorganisme menghasilkan enzim salah satunya enzim xilanase (Susilowati *et al.,* 2012).

Enzim xilanase merupakan enzim yang banyak diaplikasikan dalam berbagai industri. Pada industri kertas, enzim xilanase digunakan sebagai alternatif pengganti khlorin dalam proses pemutihan kertas *(biobleaching)* karena sifat khlorin yang beracun dan menyebabkan pencemaran. Pada industri peternakan, xilanase dimanfaatkan sebagai campuran pakan ternak. Pada industri pangan dan kesehatan, enzim xilanase dapat meningkatkan volume roti, mengekstraksi kopi, minyak nabati serta penjernihan jus. Selain itu, enzim xilanase dapat menghasilkan gula xilosa yang merupakan gula rendah kalori sehingga dapat dikonsumsi oleh penderita diabetes (Richana, 2002). Banyaknya aplikasi xilanase dalam berbagai industri mengharuskan produksi xilanase yang tinggi. Produksi xilanase memerlukan xilan sebagai substrat (Susilowati *et al.*, 2012). Penggunaan xilan sintetis yaitu xilan oat dan *birchwood* xilan terbatas karena kurang diproduksi (Avida, 2017). Oleh karena itu, xilan yang diekstraksi dari jerami dapat menjadi alternatif pengganti xilan sintetis untuk produksi xilanase

Enzim xilanase dapat dihasilkan oleh mikroorganisme, protozoa, siput dan serangga (Fawzya *et al.*, 2013) tetapi penggunaan mikroorganisme sebagai penghasil enzim xilanase lebih menguntungkan karena memiliki kemampuan tumbuh yang cepat, substrat yang murah dan lebih mudah mengendalikan hasil produksi (Akhdiya, 2003). Salah satu mikroorganisme penghasil xilanase adalah bakteri termofilik. Bakteri termofilik merupakan mikroorganisme yang mampu hidup pada suhu tinggi dan menghasilkan enzim termostabil (Pratita dan Surya, 2012). Salah satunya bakteri termofilik Isolat SSA_2 yang diisolasi dari air panas

Sapan Sungai Aro Solok Selatan dapat menghasilkan enzim xilanase dengan index xilanolitik yang tinggi yaitu 0.74 (Irdawati *et al.,* 2018).

Penggunaan bakteri termofilik bebas untuk produksi xilanase dinilai tidak ekonomis karena hanya dapat digunakan satu kali reaksi (Widyanti dan Bintang, 2016). Untuk mengatasi hal tersebut dapat dilakukan amobilisasi sel. Teknik amobilisasi sel dilakukan dengan mempertahankan sel mikroba pada matriks agar dapat digunakan secara berulang (Fleming, 2004). Pada penelitian ini, metode amobilisasi sel yang digunakan adalah penjeratan sel dengan menggunakan matriks natrium alginat. Penggunaan natrium alginat sebagai matriks pada amobilisasi sel memberikan keuntungan karena tidak beracun, dapat menghasilkan gel yang kokoh, harganya murah dan mudah mengaplikasikannya untuk produksi xilanase (Anwar *et al.*, 2009).

Penelitian Irdawati *et al.*, (2019) melaporkan bahwa bakteri termofilik yang diamobilisasi menggunakan natrium alginat dapat menghasilkan enzim xilanase dengan nilai 8,992 U/mL pada suhu 70°C. Hasil penelitian Zetri (2020) melaporkan bahwa produksi enzim xilanase menggunakan bakteri termofilik amobil isolat MS18 dapat menghasilkan aktivitas enzim xilanase tertinggi sebesar 9,788 U/mL. Penelitian Aini (2021) melaporkan penggunaan bakteri termofilik amobil isolat SSA_2 dengan agitasi 150 rpm dapat memproduksi enzim xilanase dengan aktivitas enzim sebesar 10,753 U/mL.

Produksi xilanase yang optimal dapat dilakukan dengan mengatur pertumbuhan mikroorganisme. Adapun pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya nutrisi, suhu dan tekanan osmotik (Juariah dan Wulan, 2018). Salah satu nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri untuk pertumbuhannya

adalah sumber karbon (Pelczar dan Chan, 2007). Sebagaimana diungkapkan Sumantha *et al.,* (2006) yang menyatakan bahwa kemampuan pertumbuhan dan produksi enzim oleh mikroorganisme dipengaruhi oleh sumber karbon yang tersedia.

Pada penelitian Gupta *et al.,* (2009) dilaporkan penambahan xilosa sebagai sumber karbon dapat meningkatkan produksi xilanase oleh sel amobil *Fusarium solani* F7 hingga 51%. Penelitian lainnya oleh Erika *et al.,* (2016) melaporkan bahwa penggunaan 0,00625 gram gula xilosa dapat mengoptimalkan pertumbuhan *Bacillus* sp. untuk produksi enzim xilanase. Hasil penelitian Agustina *et al.,* (2019) melaporkan penggunaan sukrosa 15% sebagai sumber karbon menghasilkan aktivitas enzim xilanase tertinggi yakni 7,517 (U/ml). Penelitian Dhiman dan Gunjan (2017) menyatakan bahwa produksi xilanase oleh *Pseudomonas* Spp. XPB-16 meningkat hingga 5,586 kali lipat dengan penambahan fruktosa 0,75% sebagai sumber karbon. Penelitian Ramanjaneyulu *et al.,* (2017) menyatakan bahwa penggunaan glukosa sebagai sumber karbon dapat meningkatkan produksi xilanase oleh *Fusarium* sp. BVKT R2 pada hari ke-7 inkubasi. Hasil penelitian Yan *et al.,* (2021) melaporkan bahwa penggunaan laktosa dapat meningkatkan produksi enzim xilanase oleh *Trichoderma reesei* dengan aktivitas xilanase tertinggi mencapai 3,085 U/mL.

Peneliti sebelumnya telah menginformasikan tentang ekstraksi xilan dan penambahan sumber karbon dalam memproduksi enzim namun belum diketahui pelarut ekstraksi terbaik untuk mengekstraksi xilan dan sumber karbon yang terbaik untuk memproduksi enzim xilanase dari substrat jerami padi oleh bakteri

termofilik amobil isolat SSA_2. Penelitian ini perlu dilakukan agar dapat mengoptimalkan produksi enzim xilanase dari substrat jerami padi.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penulis telah melaksanakan penelitian tentang Potensi Ekstraksi Xilan dari Substrat Jerami untuk Produksi Xilanase oleh Bakteri Termofilik Amobil dengan Variasi Sumber Karbon.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah pelarut yang terbaik dalam mengekstraksi xilan dari substrat jerami padi untuk produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil isolat SSA_2?
2. Apakah sumber karbon yang terbaik untuk produksi xilanase dari substrat jerami padi oleh bakteri termofilik amobil isolat SSA_2?

C. Hipotesis Penelitian

1. Pelarut ekstraksi berpengaruh terhadap hasil rendemen xilan dari substrat jerami padi untuk produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil isolat SSA2.
2. Sumber karbon berpengaruh terhadap produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil isolat SSA_2.

D. Tujuan Penelitian

1. Menentukan jenis pelarut yang terbaik dalam mengekstraksi xilan dari substrat jerami padi untuk produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil isolat SSA_2.
2. Menentukan sumber karbon yang terbaik untuk produksi enzim xilanase dari substrat jerami padi oleh bakteri termofilik amobil isolat SSA_2

E. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai pelarut yang terbaik dalam mengekstraksi xilan dari substrat jerami padi untuk produksi enzim xilanase amobil.
2. Memberikan informasi mengenai sumber karbon yang terbaik untuk produksi enzim xilanase dari substrat jerami padi oleh bakteri termofilik amobil isolat SSA_2.
3. Sebagai dasar pengembangan penelitian dalam bidang mikrobiologi.