

**POTENSI BAKTERI TERMOFILIK AMOBIL UNTUK PRODUKSI
XILANASE PADA VARIASI KONSENTRASI STARTER DAN AGITASI**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Sains



**OLEH:
PUTRI WULANDARI ZETRI
16032053/2016**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2020**

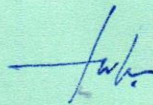
PERSETUJUAN SKRIPSI

**POTENSI BAKTERI TERMOFILIK AMOBIL UNTUK PRODUKSI
XILANASE PADA VARIASI KONSENTRASI STARTER DAN AGITASI**

Nama : Putri Wulandari Zetri
NIM : 16032053
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

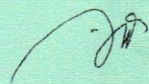
Padang, 06 Juli 2020

Mengetahui:
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, M. Biomed.
NIP.197508152006042001

Disetujui Oleh:
Pembimbing



Dr. Irdawati, M. Si.
NIP. 19710430 200112001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Putri Wulandari Zetri
NIM : 16032053
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

POTENSI BAKTERI TERMOFILIK AMOBIL UNTUK PRODUKSI XILANASE PADA VARIASI KONSENTRASI STARTER DAN AGITASI

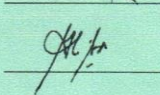
Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Padang, 06 Juli 2020

Tim Penguji

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

Tanda Tangan

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Putri Wulandari Zetri
NIM/TM : 16032053/2016
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan, bahwa skripsi saya dengan judul **“Potensi Bakteri Termofilik Amobil Untuk Produksi Xilanase Pada Variasi Konsentrasi Starter Dan Agitasi”** adalah benar merupakan hasil karya sendiri, dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya, pendapat yang ditulis atau 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, 06 Juli 2020

PA Diketahui oleh:


Devi H

Ketua Jurusan



Dr. Dwi Hilda Putri, M. Biomed.
NIP. 197508152006042001

Saya yang menyatakan



Putri Wulandari Zetri
NIM. 16032053

Potensi Bakteri Termofilik Amobil untuk Produksi Xilanase Pada Variasi Konsentrasi Starter dan Agitasi

Putri Wulandari Zetri

ABSTRAK

Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang menghidrolisis xilan menjadi xilooligosakarida dan xilosa. Xilanase dapat dihasilkan oleh beberapa mikroorganisme seperti bakteri, kapang dan khamir. Produksi xilanase dengan menggunakan sel bebas dari mikroorganisme tidak dapat digunakan lebih dari satu kali pemakaian sehingga perlu dilakukan modifikasi dalam produksi enzim yaitu dengan metode amobilisasi. Teknik amobilisasi sel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik penjeratan sel menggunakan matriks alginat.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat potensi konsentrasi starter bakteri termofilik amobil isolat MS18 dan agitasi terhadap produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil sumber air panas Mudiak Sapan Solok Selatan. Penelitian ini adalah penelitian eksperimen dan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi starter bakteri termofilik amobil isolat MS18 5 perlakuan dan 4 ulangan sedangkan perlakuan agitasi 5 perlakuan dan 5 ulangan. 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 nyata 0,05.

Hasil yang diperoleh adalah konsentrasi starter bakteri termofilik amobil isolat MS18 berpotensi terhadap aktivitas enzim xilanase dengan konsentrasi starter tertinggi pada konsentrasi 4% yaitu 10.877 U/mL dan konsentrasi terendah 10% yaitu 9.788 U/mL. Sedangkan agitasi tidak berpotensi terhadap aktivitas xilanase.

Kata kunci: Enzim Xilanase, Bakteri Termofilik, Amobilisasi.

The Potential of Immobilized Thermophilic Bacteria for Xylanase Production in Variations in Starter Concentration and Agitation

Putri Wulandari Zetri

ABSTRACT

Xylanase was extracellular enzyme that hydrolyses xilan become xilooligosaccharide and Xilosa. Xylanase can be produced by several microorganisms such as bacteria, mold and Khamir. Production of xylanases using free cells from microorganisms can not be used more than a single use so it is necessary to do modifications in the production of enzymes, namely the method of Amobilization. The technique of cell amobilization used in this study is a cell penizer technique using a matrix of alginate.

This research aims to see the influence of the starter concentration of amobile cells and agitation of the production of xylanases by the thermophilic bacteria amobile hot spring Mudiak sapan South Solok. This research is experimental research and uses a complete randomized design (RAL) with a starter concentration treatment of 5 treatments and 4 repeats while treatment agitation 5 treatment and 5 repeats. The enzyme activity is measured using a spectrophotometer at 540 nm wavelengths. The results of enzyme activity Data are analyzed using ANOVA test and continued with DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) (advanced test with real-level 0.05).

Results obtained is the concentration of the starter cell amobile bacteria MS18 affect the activity of the enzyme xylanases with the highest starter concentration at a concentration of 4% ie 10,877 U/mL and the lowest concentration of 10% ie 9,788 U/mL. While agitation was not affect the activity of xylanase.

Keywords: Xylanase Enzyme, Thermophilic Bacteria, Immobilization.

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 “Potensi Bakteri Termofilik Amobil untuk Produksi Xilanase Pada Variasi Konsentrasi Starter dan Agitasi”. 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, fikiran 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. Ibu Dezi Handayani, S. Si., 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. Bapak dan Ibu Dosen, Pimpinan, 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, Maret 2020

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	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Hipotesis Penelitian.....	6
E. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Bakteri Termofilik.....	7
B. Enzim Xilanase	10
C. Amobilisasi Sel	14
D. Amobilisasi Sel dengan Alginat.....	15
BAB III METODE PENELITIAN	18
A. Jenis Penelitian.....	18
B. Waktu dan Tempat Penelitian	18
C. Alat dan Bahan.....	18
D. Prosedur Penelitian.....	19
E. Pengamatan	22
F. Teknik Analisis Data.....	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
A. Hasil	23
B. Pembahasan.....	24
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	29
A. Kesimpulan	29
B. Saran.....	29

DAFTAR PUSTAKA.....	30
LAMPIRAN.....	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai rata-rata aktivitas xilanase pada beberapa perlakuan konsentrasi starter bakteri termofilik amobil isolat MS18	23
2. Nilai rata-rata aktivitas xilanase pada beberapa perlakuan agitasi.....	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Tabel Kurva Standar Xilosa	37
2. Data Hasil Potensi Konsentrasi Starter Bakteri Termofilik Amobil Isolat MS18 Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase	38
3. Data Hasil Potensi Agitasi Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase	40
4. Dokumentasi Penelitian	42

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Industri enzim telah berkembang pesat dan telah menempati posisi penting dalam bidang Industri. Penelitian Mufarikka *et al.*, (2014) melaporkan bahwa penggunaan enzim semakin meningkat dari tahun ke tahun mencapai 10-15% Perkembangan enzim dalam bidang bioteknologi modern semakin cepat berkembang. Sebagian besar industri yang telah memanfaatkan kerja enzim, meliputi industri pangan dan non pangan (Yuneta dan Putra, 2009). Salah satu enzim yang paling banyak digunakan adalah xilanase (Purwanti, 2015).

Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang menghidrolisis xilan menjadi xilooligosakarida dan xilosa (Susilowati *et al.*, 2012). Xilanase dapat diklarifikasikan berdasarkan substrat yang dihidrolisis, yaitu β -xilosidase dan endoxilanase (Richana, 2002). β -xilosidase adalah xilanase yang mampu memecah xilooligosakarida rantai pendek menjadi xilosa. Endoxilanase mampu memutus ikatan glikosidik pada bagian dalam rantai xilan secara teratur. Pemutusan ikatan dilakukan berdasarkan panjang rantai substrat, derajat percabangan, gugus substitusi, serta pola pemutusan dari enzim hidrolase tersebut (Trismillah dan Waltam, 2009).

Aplikasi xilanase dalam industri terdapat pada industri pakan ternak, (Rifaat *et al.*, 2005), industri makanan dan minuman (Widhiana *et al.*, 2015) , pemutihan kertas (*bleaching pulp*), konversi hemiselulosa menjadi sumber bahan baku untuk produksi *biofuel*, dan produksi gula xilosa. Xilanase sangat penting digunakan dalam proses *bleaching pulp*. Xilanase menggantikan *bleaching*

konvensional secara kimiawi dengan menggunakan klor yang tidak ramah lingkungan (Szendefy, 2005).

Selain itu dalam produksi roti xilanase juga digunakan agar struktur adonan lebih lembut (Whitehurst and Barry, 2002). Beberapa industri memerlukan xilanase yang aktif, tahan dan stabil pada suhu tinggi, sehingga memudahkan pencampuran, substrat mudah larut, mempercepat reaksi, dan mencegah kontaminasi (Susilowati *et al.*, 2009). Salah satu enzimnya adalah enzim termostabil yang dihasilkan oleh bakteri termofilik (Octarya *et al.*, 2011).

Enzim termostabil adalah enzim yang mampu meningkatkan kecepatan reaksi sehingga menghemat waktu, tenaga dan biaya operasional, memudahkan pemisahan senyawa volatil, dan lebih stabil pada masa penyimpanan yang lebih lama (Trismillah dan Deden 2009). Selain itu enzim termostabil juga cocok digunakan pada reaksi dengan temperatur tinggi. Beberapa keuntungan utama menggunakan reaksi dengan suhu tinggi adalah mengurangi resiko kontaminasi mikroba, kekentalan lebih rendah, meningkatkan laju perpindahan molekul, dan meningkatkan kelarutan substrat (Bruins *et al.*, 2001).

Enzim xilanase merupakan salah satu enzim termostabil yang dapat di produksi oleh bakteri termofilik (Irdawati *et al.*, 2016). Runtuboi *et al.*, (2018) menyatakan bahwa bakteri termofilik merupakan bakteri yang mampu bertahan hidup dalam suhu tinggi berkisar 50-80°C. Bakteri ini dapat ditemukan pada berbagai tempat di alam, baik lautan ataupun daratan yang dipanasi oleh panas bumi, seperti sumber mata air panas, sedimen dari daratan vulkanik, sistem ventilasi hidrotermal, dan ventilasi hidrotermal di dasar laut dalam (Kumar, 2001). Indonesia merupakan salah satu wilayah yang cukup banyak memiliki

sumber air panas (Nuritasari, 2017). Salah satu sumber air panas tersebut adalah sumber air panas Mudiak Sapan Kabupaten Solok Selatan. Winanda (2015) melaporkan telah mendapatkan 19 isolat bakteri termofilik, 13 diantaranya menunjukkan adanya aktivitas xilanase atau termoxilanolitik. Sumber air panas ini mempunyai suhu hingga 93 °C dengan pH 8. Irdawati *et al.*, (2016) memaparkan bahwa dari hasil uji biokimia semua isolat termoxilanolitik termasuk genus *Bacillus*.

Xilanase dapat dihasilkan oleh mikroba melalui fermentasi, yang biasanya dihasilkan oleh bakteri atau khamir serta kapang (Richana *et al.*, 2008). Bakteri termofilik yang diketahui mampu menghasilkan xilanase termostabil adalah *Bacillus subtilis* (Li *et al.*, 2012) dan *Pseudomonas* (Susilowati *et al.*, 2012), sedangkan jamur yang diketahui menghasilkan enzim ini adalah *Streptomyces* (Singh *et al.*, 2012) dan *Trichoderma*.

Penelitian Tuntun (2014) menyebutkan bahwa terdapat beberapa spesies bakteri termofilik yang ditemukan disumber air panas Way Panas Bumi Natar Lampung yang merupakan bakteri termofilik bacil seperti, *Bacillus coagulans*, *Bacillus infernus*, *Bacillus methanolicus*, *Bacillus okuhidensis*, *Bacillus smithii*, *Bacillus thermoamylovorans* dan *Bacillus tusciae* , memiliki suhu pertumbuhan mulai dari 40° hingga 55°C. *Bacillus aeolius*, *Bacillus fumarioli*, *Bacillus infernus*, *Bacillus methanolicus*, *Bacillus schlegelii*, *Bacillus thermoamylovorans*, *Bacillus thermocloacae* dan *Bacillus tusciae* dapat tumbuh pada suhu 55°- 75°C. Beg *et al.*, (2001) melaporkan selain golongan kapang dan bakteri mikroorganisme yang juga dapat menghasilkan xilanase adalah algae, fungi, serta Actinomycetes.

Produksi xilanase dengan menggunakan sel bebas dari mikroorganisme tidak dapat digunakan lebih dari satu kali pemakaian sehingga perlu dilakukan modifikasi dalam produksi enzim yaitu dengan metode amobilisasi (Mesla *et al.*, 2014). Amobilisasi sel adalah salah satu usaha untuk mengikat sel bakteri di dalam suatu media atau menambahkan material padatan ke dalam bioreaktor sebagai media untuk melekatnya bakteri (Shuler, 2002). Enzim amobil bersifat lebih kuat dan lebih tahan terhadap perubahan keadaan dan enzim dapat digunakan beberapa kali reaksi (Zusfahair *et al.*, 2017).

Metode amobilisasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik penjeratan dengan menggunakan matriks natrium alginat. Alginat adalah polisakarida yang diperoleh dari hasil ekskresi rumput laut coklat seperti *Macrocystis*, *Laminaria*, *Aschophyllum*, *Neroeytis*, *Eklonia*, *Fucus*, *Turbinaria*, dan *Sargassum*. Teknik amobilisasi dengan sel aginat dipilih karena sifatnya yang tidak beracun, prosedur yang sederhana untuk amobilisasi dan harganya murah untuk diaplikasikan dalam bidang industri (Oviantari dan Parwata, 2016).

Beberapa faktor yang mempengaruhi produksi enzim oleh mikroorganisme diantaranya media fermentasi, suhu, aerasi, pH, strain yang digunakan (Trismilah *et al.*, 2003) serta konsentrasi starter dan agitasi (Bai *et al.*, 2013). Agitasi merupakan suatu perlakuan yang mampu menghomogenkan nutrisi serta memberikan suplai oksigen pada media fermentasi, sehingga senyawa nutrisi dapat dimanfaatkan oleh mikroba dengan optimal dan pertumbuhan mikroba merata dalam media fermentasi. Berdasarkan penelitian Richana (2006) agitasi mempengaruhi pertumbuhan mikroba alkalo-termofilik dalam produksi xilanase, agitasi optimum berkisar 125-200 rpm. Susilowati *et al.*, (2012) menggunakan

bakteri *Pseudomonas* sp. menunjukkan bahwa bakteri diinkubasi pada inkubator shaker dengan agitasi 125-175 rpm.

Selain agitasi, konsentrasi starter juga mempengaruhi pertumbuhan bakteri termofilik. Penelitian Bai *et al.*, (2013) menggunakan jamur *Trichoderma viride* dengan teknik amobilisasi sel menggunakan natrium alginat 3% menunjukkan bahwa konsentrasi starter 6% dapat menghasilkan enzim xilanase yang paling maksimal. Konsentrasi starter yang rendah menyebabkan pertumbuhan mikroba dengan baik, sementara peningkatan konsentrasi starter menyebabkan proliferasi yang cepat pada biomassa mikroba.

Begitu juga penelitian Erika *et al.*, (2016) menggunakan bakteri *Bacillus* sp. menunjukkan bahwa bakteri diinkubasi selama 30 jam pada inkubator shaker dengan agitasi 120 rpm dengan suhu 40°C. Jameel *et al.*, (2019) juga menegaskan bahwa menggunakan natrium alginat sebagai penjerat konsentrasi 3,5% dan agitasi 200 rpm dengan suhu 37°C. Safitri *et al.*, (2017) menggunakan *Bacillus licheniformis* TS10 menunjukkan bahwa bakteri diinkubasi selama 24 jam pada inkubator shaker dengan agitasi 150 rpm.

Berdasarkan latar belakang maka penulis melakukan penelitian tentang Potensi Bakteri Termofilik Amobil untuk Produksi Xilanase Pada Variasi Konsentrasi Starter dan Agitasi.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah potensi konsentrasi starter bakteri termofilik amobil isolat MS18 terhadap produksi xilanase ?
2. Bagaimanakah potensi agitasi terhadap produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil isolat MS18 ?

C. Tujuan Penelitian

1. Melihat potensi konsentrasi starter bakteri termofilik amobil isolat MS18 terhadap produksi xilanase.
2. Melihat potensi agitasi terhadap produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil isolat MS18.

D. Hipotesis Penelitian

1. Konsentrasi starter bakteri termofilik amobil isolat MS18 berpotensi terhadap produksi xilanase.
2. Agitasi berpotensi terhadap produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil isolat MS18.

E. Manfaat Penelitian

1. Berguna pengembangan pengetahuan dalam bidang Mikrobiologi.
2. Memberikan informasi mengenai pemanfaatan bakteri termofilik sebagai salah satu mikroba penghasil enzim xilanase.
3. Memberikan informasi bahwa enzim xilanase yang dihasilkan dari bakteri termofilik amobil sangat cocok untuk proses industri yang memerlukan suhu tinggi dan juga bernilai ekonomis.
4. Memberikan informasi bahwa enzim xilanase adalah enzim yang mendukung proses ramah lingkungan.