

**OPTIMASI SUBSTRAT LIMBAH PERTANIAN SEBAGAI MEDIA  
ALTERNATIF PENGGANTI XILAN DALAM MENGHASILKAN ENZIM  
XILANASE OLEH BAKTERI TERMOFILIK**

**SKRIPSI**

*Diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains*



**Oleh:  
AMIRA SOFIYYANA  
16032047/2016**

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

**PERSETUJUAN SKRIPSI**

**OPTIMASI SUBSTRAT LIMBAH PERTANIAN SEBAGAI MEDIA  
ALTERNATIF PENGANTI XILAN DALAM MENGHASILKAN ENZIM  
XILANASE OLEH BAKTERI TERMOFILIK**

Nama : Amira Sofiyana  
Nim/TM : 16032047/2016  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 07 Juli 2020

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi



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

Disetujui Oleh:  
Pembimbing



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



**PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI**

Nama : Amira Sofiyana  
Nim/TM : 16032047/2016  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**OPTIMASI SUBSTRAT LIMBAH PERTANIAN SEBAGAI MEDIA  
ALTERNATIF PENGANTI XILAN DALAM MENGHASILKAN ENZIM  
XILANASE OLEH BAKTERI TERMOFILIK**

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

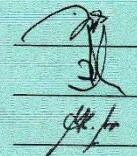
Padang, 07 Juli 2020

**Tim Penguji**

**Nama**

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

**Tanda Tangan**



## SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Amira Sofiyana

Nim/TM : 16032047/2016

Program Studi : Biologi

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul “Optimasi Substrat Limbah Pertanian sebagai Media Alternatif Pengganti Xilan dalam Menghasilkan Enzim Xilanase oleh Bakteri Termofilik” adalah benar 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, 07 Juli 2020

Diketahui oleh,  
Ketua Jurusan Biologi



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

Saya yang menyatakan,



Amira Sofiyana  
NIM. 16032047



# **Optimasi Substrat Limbah Pertanian sebagai Media Alternatif Pengganti Xilan dalam Menghasilkan Enzim Xilanase Oleh bakteri Termofilik**

**Amira Sofiyyana**

## **ABSTRAK**

Enzim xilanase merupakan enzim termostabil yang dihasilkan oleh bakteri termofilik yang dalam penelitian ini menggunakan isolat SSA 2. Enzim xilanase mampu menghidrolisis xilan menjadi xilosa dan xilooligosakarida. Penggunaan xilan dalam jumlah besar sangat tidak efektif karena harganya yang mahal dan minimnya produksi pada saat ini, oleh sebab itu perlu dicari substrat yang lebih murah, berasal dari limbah pertanian dan berpotensi sebagai alternatif pengganti xilan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menemukan substrat pengganti xilan dari limbah pertanian yang mengandung hemiselulosa.

Xilan hasil ekstraksi dari beberapa limbah pertanian dicampurkan ke dalam medium fermentasi. Hasil ekstraksi yang menghasilkan aktivitas enzim paling optimum akan dijadikan perlakuan untuk mencari konsentrasi optimum dari substrat. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen menggunakan RAL, dimana setiap perlakuan memiliki 5 ulangan. Data hasil aktivitas enzim selanjutnya dianalisis dengan uji ANOVA dan uji lanjut DMRT pada taraf nyata 0,05.

Hasil penelitian menunjukkan pemberian substrat limbah pertanian sebagai pengganti xilan berpengaruh terhadap aktivitas enzim xilanase, dimana substrat jerami memiliki rerata aktivitas enzim paling tinggi yaitu 6,033 Unit/mL dan substrat sekam memiliki aktivitas enzim terendah yaitu 5,667 Unit/mL. Konsentrasi substrat tidak berpengaruh terhadap aktivitas enzim xilanase.

Kata kunci: aktivitas enzim, enzim xilanase, limbah pertanian, SSA 2, xilan

# **Optimization of Agricultural Waste Substrate as an Alternative Medium for Xylan in Producing Xylanase Enzymes by Thermophilic Bacteria**

**Amira Sofiyyana**

## **ABSTRACT**

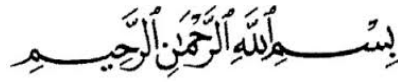
Xylanase enzyme was a thermostable enzyme produced by thermophilic bacteria which in this study used SSA 2 isolates. Xylanase enzyme was able to hydrolyze xylan into xylose and xylooligosaccharides. The use of xylan in large quantities was very ineffective because of the high price and low production at this time, therefore it was necessary to find a cheaper substrate, derived from agricultural waste and potentially as an alternative to replace xylan. The purpose of this research was to find a replacable substrate of xylan from agricultural waste containing hemicellulose.

Xylan of extraction results from some agricultural waste are mixed into the fermentation medium. Extraction results that produce the most optimum enzyme activity will be treated to find the optimum concentration of the substrate. This research is an experimental study using RAL, where each treatment has 5 replications. Data on the results of enzyme activity were further analyzed by ANOVA test and continued with DMRT test at a significant level of 0,05.

The results showed that the the results showed that the administration of agricultural waste substrate as a substitute for xylan affected the xylanase enzyme activity, were straw substrate had the highest average of enzyme activity at 6,033 Unit/mL and the husk substrate had the lowest average of enzyme activity at 5,667 Unit/mL. substrate concentration had no significant effect on xylanase enzyme activity.

Keyword: agricultural waste, enzyme activity, SSA 2, xylan, xylanase enzyme

## KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Optimasi Substrat Limbah Pertanian sebagai Media Alternatif Pengganti Xilan dalam Menghasilkan Enzim Xilanase oleh Bakteri Termofilik”. Shalawat beserta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

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. Keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Dr. Irdawati, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing dalam melaksanakan penelitian dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Ibu Dr. Linda Advinda, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Penguji yang telah membimbing dan mengarahkan penulis hingga sampai saat ini.
3. Bapak Drs. Mades Fiffendy, M.Biomed. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed. selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

5. Bapak dan Ibu Dosen serta Staf Jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.
6. Kedua orang tua dan teman-teman yang senantiasa memberikan dukungan kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini dapat diselesaikan dengan lancar.

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

Padang, Juli 2020

Penulis



## DAFTAR ISI

|                                                      | Halaman     |
|------------------------------------------------------|-------------|
| <b>ABSTRAK .....</b>                                 | <b>i</b>    |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>                           | <b>iii</b>  |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                               | <b>v</b>    |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                            | <b>vi</b>   |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                            | <b>vii</b>  |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                         | <b>viii</b> |
| <b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>                        | <b>1</b>    |
| A. Latar Belakang .....                              | 1           |
| B. Rumusan Masalah .....                             | 5           |
| C. Hipotesis.....                                    | 5           |
| D. Tujuan Penelitian .....                           | 6           |
| E. Manfaat Penelitian .....                          | 6           |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                  | <b>7</b>    |
| A. Bakteri Termofilik.....                           | 7           |
| B. Xilan dan Xilanase .....                          | 9           |
| C. Penggunaan Limbah Pertanian Sebagai Substrat..... | 12          |
| <b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>               | <b>15</b>   |
| A. Jenis Penelitian.....                             | 15          |
| B. Waktu dan Tempat Penelitian .....                 | 15          |
| C. Alat dan Bahan.....                               | 15          |
| D. Rancangan Penelitian .....                        | 16          |
| E. Prosedur Penelitian.....                          | 17          |
| F. Analisis Data .....                               | 20          |
| <b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>             | <b>21</b>   |
| A. Hasil .....                                       | 21          |
| B. Saran.....                                        | 22          |
| <b>BAB V PENUTUP.....</b>                            | <b>26</b>   |
| A. Kesimpulan .....                                  | 26          |
| B. Penutup.....                                      | 26          |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>                           | <b>27</b>   |
| <b>LAMPIRAN.....</b>                                 | <b>31</b>   |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar                                             | Halaman |
|----------------------------------------------------|---------|
| 1. Struktur Xilan .....                            | 9       |
| 2. Enzim yang terlibat dalam hidrolisis Xilan..... | 11      |

## DAFTAR TABEL

| <b>Tabel</b>                                                       | <b>Halaman</b> |
|--------------------------------------------------------------------|----------------|
| 1. Aktivitas Enzim Xilanase pada Substrat Berbeda .....            | 21             |
| 2. Aktivitas Enzim Xilanase pada Konsentrasi Substrat Berbeda..... | 22             |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran                                                                                                     | Halaman |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Skema Cara Kerja.....                                                                                     | 31      |
| 2. Kurva Standar Xilosa .....                                                                                | 32      |
| 3. Analisis Statistik Data Aktivitas Enzim Xilanase Isolat SSA 2 Optimasi<br>Substrat Limbah Pertanian ..... | 34      |
| 4. Analisis Statistik Data Aktivitas Enzim Xilanase Isolat SSA 2 Optimasi<br>Konsentrasi.....                | 38      |
| 5. Dokumentasi Penelitian.....                                                                               | 41      |



## **BAB I PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Industri enzim telah berkembang pesat dan telah menempati posisi penting dalam bidang Industri. Sejalan dengan kemajuan bioteknologi, enzim diaplikasikan untuk mengkatalis reaksi kimia di luar sel. Enzim digunakan di berbagai sektor industri seperti tekstil, makanan, detergen, kertas dan kosmetik, serta *biofuel* (Kosim dan Putra, 2010). Kebutuhan pasar terhadap enzim di dunia pada tahun 2012 adalah 4,5 milyar USD dan hampir 4,8 milyar USD pada tahun 2013, sehingga diperkirakan kebutuhan pasar pada tahun 2018 adalah sebesar 7,1 milyar USD (Dewan, 2017). Salah satu jenis enzim yang banyak dimanfaatkan pada industri adalah enzim xylanase (Takhur *et al.*, 2012).

Xilanase merupakan kelompok enzim yang memiliki kemampuan menghidrolisis hemiselulosa dalam hal ini ialah xilan atau polimer dari xilosa dan xilooligosakarida. Xilanase dapat diklasifikasikan berdasarkan substrat yang dihidrolisis, yaitu  $\beta$ -xilosidase, eksoxilanase, dan endoxilanase.  $\beta$ -xilosidase, yaitu xilanase yang mampu menghidrolisis xilooligosakarida rantai pendek menjadi xilosa. Aktivitas enzim akan menurun dengan meningkatnya rantai xilooligosakarida (Reilly, 1991). 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 (Trismilah, 2005).

Xilan merupakan komponen utama dari hemiselulosa. Hemiselulosa merupakan polisakarida terbanyak kedua di alam setelah selulosa (Da Silva *et al.*,

2009). Xilan merupakan substrat dari enzim xilanase yang terdapat dalam *Beechwood Xylan*. Penggunaan xilan dalam produksi enzim xilanase skala besar terlalu mahal, maka perlu dilakukan penelitian untuk mencari substrat sebagai media alternatif (Richana, 2002).

Substrat yang digunakan dalam proses fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas dan produktivitas enzim. Adanya substrat tertentu didalam medium produksi dapat memacu mikroorganisme untuk mensekresi metabolit selnya. Zat makanan utama bagi pertumbuhan mikroorganisme adalah sumber karbon, nitrogen, dan komponen mineral terutama fosfat (Stanbury *et al.*, 2013). Pemanfaatan limbah berbahan hemiselulosa merupakan salah satu solusinya, karena komponen xilan juga ditemukan pada limbah-limbah pertanian seperti jerami padi, tongkol jagung, dedak gandum, bagas tebu, dan sekam padi (Richana *et al.*, 2004).

Jerami padi merupakan limbah berlignoselulosa yang berpotensi sebagai alternatif pengganti xilan karena kandungan xilan pada jerami padi cukup tinggi yaitu 20% (Roberto *et al.*, 2003) dan dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon, substrat serta sebagai *inducer* pada media pertumbuhan mikroorganisme (Ardiansyah *et al.*, 2014). Pemanfaatan limbah berlignoselulosa dengan menggunakan jasa mikroorganisme dalam menghasilkan enzim ekstraseluler yang mampu mendegradasi bahan berlignoselulosa menjadi lebih sederhana (Stanbury *et al.*, 2013).

Tongkol jagung juga merupakan salah satu limbah pertanian yang mengandung lignoselulosa dan ketersediaannya berlimpah di alam (Fachry *et al.*, 2013). Limbah pertanian seperti tongkol jagung memiliki kandungan hemiselulosa

sebesar 40% yang merupakan substrat xilanase sebagai sumber karbon (Setyawati, 2006). Tongkol jagung merupakan bahan berlignoselulosa yang mengandung xilan sebesar 12,4% (Richana *et al.*, 2004).

Limbah berlignoselulosa lainnya yang berpotensi sebagai alternatif pengganti xilan adalah sekam padi karena komponen xilan ditemukan sebesar 12,1% pada sekam padi (Richana *et al.*, 2004). Sekam padi merupakan lapisan keras yang meliputi kariopsis yang terdiri dari dua belahan yang disebut lemma dan palea yang saling bertautan. Sekam dikategorikan sebagai biomassa yang dapat digunakan untuk berbagai kebutuhan seperti bahan baku industri, pakan ternak dan energi atau bahan bakar. Sekam padi memiliki komponen utama seperti selulosa (31,4–36,3 %), hemiselulosa (2,9–11,8 %), dan lignin (9, –18,4 %) (Champagne, 2004).

Xilan dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber karbon, substrat, dan *inducer* pada media pertumbuhan untuk menghasilkan enzim xilanase (Patong, 2013). Produksi enzim xilanase untuk kebutuhan industri diekstraksi dari berbagai jenis makhluk hidup, seperti bakteri, jamur, yeast serta tumbuh-tumbuhan. Saat ini telah diketahui ada hampir 400 jenis enzim, dimana 200 diantaranya berasal dari mikroorganisme dan digunakan secara komersil (Li *et al.*, 2012). Mikroorganisme penghasil enzim yang dapat dimanfaatkan manusia tersedia dalam jumlah dan jenis yang sangat bervariasi, mudah untuk dikulturkan dan berpotensi serta sesuai untuk dunia industri (Palmer, 1991). Mikroorganisme termofilik merupakan salah satu pilihan yang tepat untuk digunakan dalam proses industri, karena bersifat termostabil (Vikram *et al.*, 2012).

Enzim termostabil atau termozim 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). Sebagai contoh proses penghilangan noda coklat atau pemutihan bahan kertas (*bleaching pulp*), untuk hasil yang optimal proses ini harus menggunakan suhu tinggi dan suasana basa (Vikram *et al.*, 2012). Enzim termostabil terbukti mampu meningkatkan kecepatan reaksi sehingga menghemat waktu, tenaga, biaya operasional, memudahkan pemisahan senyawa volatil, dan lebih stabil pada masa penyimpanan yang lebih lama (Trismilah dan Waltam, 2016).

Salah satu mikroba termofilik yang dapat menghasilkan enzim termostabil adalah bakteri termofilik, dimana bakteri termofilik dapat tumbuh optimal pada rentang suhu 60-108<sup>0</sup>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 dan Nussinov, 2001). Indonesia merupakan salah satu wilayah yang cukup banyak memiliki sumber air panas, sehingga memiliki potensi untuk menghasilkan sumber-sumber mikroorganisme yang dapat memproduksi enzim xilanase termostabil (Irdawati *et al.*, 2016).

Mikroorganisme yang mampu memproduksi enzim xilanase termostabil merupakan aset biologi berharga untuk kepentingan bioteknologi industri. 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* (Vikram *et al.*, 2012), *Aspergillus* (Takahashi *et al.*, 2013) dan *Trichoderma*.

Indonesia merupakan wilayah yang cukup banyak memiliki sumber-sumber air panas. Salah satu sumber air panas tersebut adalah sumber air panas Sapan Sungai Aro di Kabupaten Solok Selatan. Sumber air panas Sapan Sungai Aro juga memiliki suhu 75°C dan pH 8 atau bersifat basa (Irdawati *et al.*, 2016). Jenis isolat yang didapatkan pada sumber air panas Sapan Sungai Aro Solok Selatan yang dipilih adalah isolat SSA2 karena isolat SSA 2 mempunyai kemampuan yang baik dalam menghasilkan enzim xilanase secara maksimum. Hal ini terlihat dari tingginya indeks xilanolitik SSA 2 dibandingkan dengan isolat lainnya yaitu 0,74 (Irdawati *et al.*, 2018).

Berdasarkan latar belakang di atas, telah dilakukan penelitian tentang potensi limbah pertanian sebagai media alternatif dalam menghasilkan xilanase oleh bakteri termofilik.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Bagaimanakah pengaruh limbah pertanian (jerami padi, sekam padi, dan tongkol jagung) sebagai media alternatif dalam menghasilkan enzim xilanase oleh bakteri termofilik?
2. Berapakah konsentrasi optimum dari media alternatif optimum dalam menghasilkan enzim xilanase oleh bakteri termofilik?

## **C. Hipotesis**

1. Optimasi substrat limbah pertanian sebagai pengganti xilan berpengaruh terhadap produksi enzim xilanase oleh bakteri termofilik.
2. Konsentrasi substrat optimum berpengaruh terhadap produksi enzim xilanase oleh bakteri termofilik.



**D. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui limbah pertanian optimum (jerami padi, sekam padi, dan tongkol jagung) sebagai media alternatif dalam menghasilkan enzim xilanase oleh bakteri termofilik.
2. Menentukan konsentrasi optimum dari media alternatif optimum dalam menghasilkan enzim xilanase oleh bakteri termofilik.

**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 xilnase yang dihasilkan dari bakteri termofilik 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.
5. Memberikan informasi bahwa limbah pertanian dapat digunakan sebagai media alternatif pengganti xilan dalam menghasilkan enzim xilanase.