

PRODUKSI XILANASE MENGGUNAKAN MEDIA LIMBAH PERTANIAN DAN PERKEBUNAN

Trismilah dan Deden Rosid Waltam

Peneliti di Bidang Teknologi Biokatalis, Pusat Teknologi Bioindustri
Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi

Abstract

Waste Agriculture of paddy like hay, bran, chaff and frond of banana and also waste plantation of coconut root and cangkang of sawit pregnant [of] lignoselulosa (cellulose, lignine and hemiselulosa).

In order to searching alternative materials for the production of xylanase hence done by research of xylanase production of agriculture waste and plantation waste like the above. Xylanase produced from Bacillus stearothermophilus DSM 22, using hay, bran, chaff and frond of banana and also coconut root and cangkang of sawit as source of carbon while as source of nitrogen and nutrisi by molasses and urea. Fermentation done in the erlenmeyer use incubator shaker with condition of temperature 550C, pH early 8, and agitation 250 rpm. From result of research obtained activity of xylanase highest 0.523 Unit / ml.menit and 0.429 Unit / ml.menit at to 30 hours with bran media of oven (DO) and natural hay (JA) respectively with natural bran medium (DA) activity of xylanase highest 0.514 Unit / ml.menit at 24 hours fermentation. Fermentation using fermentor with natural hay and condition of temperature 550C, pH 8, and agitation 250 rpm result activity of xylanase highest 2.47 Unit / ml.menit at to 32 hours.

Keyword : Xylanase, *B. stearothermophilus* DSM 22, enzyme activity

1. PENDAHULUAN

Jerami, dedak, sekam merupakan bahan buangan sisa-sisa pertanian dan mengandung komponen lignoselulosa (hemiselulosa, selulosa, dan lignin) dan kandungan karbohidrat yang tinggi¹⁾ sama halnya pada pelepah pisang, akar kelapa sawit dan cangkang sawit. Molases adalah hasil samping dari proses produksi gula tebu (sukrosa) berupa cairan kental yang tidak dapat lagi membentuk kristal sukrosa pada proses kristalisasi yang mengandung monosakarida, disakarida dan elemen-elemen penting yang dibutuhkan oleh mikroba diantaranya protein, asam amino, vitamin dan mineral²⁾.

Enzim merupakan biokatalis di dalam sel yang dalam jumlah sangat kecil dapat mempercepat reaksi kimiawi tanpa mengubah strukturnya. Enzim yang dipakai untuk kegiatan industri kebanyakan enzim stabil pada suhu tinggi (termostabil). Enzim termostabil memiliki beberapa keuntungan dalam penggunaannya di industri yang pada umumnya menggunakan suhu tinggi yaitu: meningkatkan kecepatan reaksi sehingga menghemat waktu, tenaga, dan biaya operasi, mengurangi kemungkinan kontaminasi, memudahkan pemisahan senyawa volatil, dan lebih stabil pada masa penyimpanan yang lebih lama.

Xilanase adalah enzim yang dapat diisolasi dari cendawan dan bakteri. Cendawan yang banyak dipublikasikan sebagai penghasil xilanase berasal dari golongan *Aspergillus* dan *Trichoderma*, sedangkan dari golongan bakteri sendiri kebanyakan dari golongan *Bacillus* dan *Clostridium*. *Bacillus stearothermophilus* merupakan salah satu bakteri penghasil enzim xilanase, bakteri ini termasuk dalam golongan bakteri termofilik, yaitu bakteri yang tahan terhadap suhu tinggi dan diharapkan enzim yang dihasilkan mempunyai sifat tahan terhadap suhu tinggi.

Produksi xilanase menggunakan media sintetik harganya relatif mahal dan harus impor oleh karena itu limbah pertanian dan perkebunan banyak tersedia dan belum dimanfaatkan secara optimal merupakan salah satu pilihan sebagai pengganti media sintetik. Pada penelitian ini digunakan jerami, dedak, sekam, pelepah pisang, akar kelapa sawit, cangkang kelapa sawit, dan molases sebagai media fermentasi.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan data dan informasi mengenai pemanfaatan limbah jerami, dedak, sekam, pelepah pisang, akar kelapa sawit dan cangkang kelapa sawit sebagai alternatif media pertumbuhan bakteri penghasil xilanase sekaligus dapat meningkatkan nilai tambah limbah pertanian dan perkebunan.

2. BAHAN dan METODE

Bahan Penelitian : Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Bacillus stearothermophilus* DSM 22 dari Jerman. Molases yang digunakan diperoleh dari pabrik gula, Lampung. Jerami padi, dedak padi, sekam, pelepah pisang dari Serpong, akar kelapa sawit dari perkebunan Riau, cangkang kelapa sawit dari perkebunan Bogor.

Penelitian dilakukan melalui beberapa tahapan : penelitian diawali persiapan bahan baku siap pakai. Jerami padi dan

limbah pertanian lainnya (dedak padi, sekam, pelepah pisang) yang akan digunakan sebagai media dipotong kecil-kecil kemudian dijemur di atas sinar matahari langsung (JA) dan dikeringkan dengan oven (JO), setelah kering digiling. Sebelum dipakai sebagai media fermentasi dilakukan proses delignifikasi substrat untuk setiap 100 g substrat jerami padi, ditambahkan 1800 ml larutan NaOH 1%. Campuran ini di autoklaf pada suhu 121°C selama 1 jam. Didinginkan, disaring dan dicuci sampai pH netral, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 70°C sampai konstan³⁾. Hal yang sama juga dilakukan pada dedak padi, sekam, pelepah pisang.

Untuk limbah perkebunan (akar kelapa sawit, cangkang kelapa sawit), sebelum digunakan diekstraksi dan ada yang tidak diekstraksi. Berikut cara ekstraksi akar kelapa sawit dan cangkang kelapa sawit. Sebanyak 3,5 gram sampel ditambah 15 ml NaOCl 0,5% dibiarkan pada suhu kamar selama 5 jam. Kemudian tambahkan 7 mL air. Lalu sentrifuse selama 30 menit, 2800 rpm sebanyak 4 kali. Filtrat yang diperoleh dibuang sedangkan endapannya dikeringkan pada suhu kamar selama 24 jam. Setelah 24 jam, tambahkan NaOH 10% selama 24 jam pada suhu kamar, kemudian saring. Filtrat yang diperoleh kemudian dinetralkan dengan pH meter, lalu tambahkan HCl 6 N kemudian sentrifuse selama 30 menit, 2800 rpm. Filtrat yang didapat kemudian ditambahkan etanol 99% sebanyak 20 mL, sentrifuse kembali selama 30 menit, 2800 rpm kemudian endapan yang terbentuk diambil⁴⁾.

Tahapan berikutnya regenerasi bakteri, sediaan bakteri *B. stearothermophilus* DSM22 diambil 1 ose untuk diinokulasikan ke dalam media agar miring NA, kemudian diinkubasikan pada inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian membuat media pertumbuhan untuk produksi enzim xilanase menurut Nakamura,dkk⁵⁾ adalah 0,5 g pepton; 0,5 g yeast ekstrak; 0,1 g kalium dihidrogen

phospat; 0,02 g magnesium sulfat heptahidrogen; dan 0,5 g xilan dilarutkan dalam 100 ml aquadest, dihomogenisasi dengan bantuan pengaduk magnet dan dipanaskan hingga larut. Setelah dingin atur pH 8 dengan penambahan Na₂CO₃ 1% b/v, disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah 1 ose bakteri *B. stearothermophilus* DSM 22 diinokulasikan, lalu diinkubasi selama 18 jam pada inkubator bergoyang dengan kecepatan 250 rpm pada suhu 55°C, media ini sebagai starter. Starter atau suspensi mikroba tersebut diinokulasikan dalam media fermentasi.

Fermentasi produksi xilanase menggunakan media dengan bahan baku yang sudah dipersiapkan yaitu jerami, dedak, sekam, pelepah pisang, akar kelapa sawit dan cangkang kelapa sawit masing-masing kedalamnya ditambahkan molases dan urea dengan konsentrasi masing-masing 0,5% dan 0,05%. Kondisi fermentasi adalah pH 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm⁶⁾.

Selanjutnya pengambilan sampel dilakukan pada jam ke 0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah sel dan pengujian aktivitas enzim. Jumlah sel dilakukan dengan metode perhitungan kerapatan bakteri atau Optical Density (OD) dengan spektrofotometer pada λ 620 yang sebelumnya sudah dibuat kurva antara OD dan jumlah sel pada pengenceran tertentu. Pengujian aktivitas enzim xilanase dilakukan dengan metoda DNS (modifikasi Bernfeld), adalah sebagai berikut : 300 μ l filtrat enzim ditambah dengan 300 μ l xilan 1% diinkubasi pada suhu 55°C selama 15 menit. Kemudian disentrifus 3000 rpm. Kemudian 200 μ l filtrat yang didapat ditambah 200 μ l DNS kemudian panaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Larutan ditambah aquadest sebanyak 2 ml dan homogenkan. Serapan diukur pada λ 540 nm kemudian serapan sample dikonversikan pada kurva baku xilosa sehingga diperoleh konsentrasi sample (mg/ml). Sebagai

kontrol prosedurnya sama hanya filtrat enzim yang diukur ditambahkan setelah penambahan DNS diperoleh serapan kontrol dan dikonversikan lagi pada kurva baku xilosa sehingga diperoleh konsentrasi kontrol. Sebagai blanko adalah xilan 1% b/v. Kemudian konsentrasi larutan sample dikurangi konsentrasi larutan kontrol dan dikalikan faktor 4,444 sehingga diperoleh nilai aktivitas enzim (unit/mL.menit). Aktivitas xilanase didapatkan berdasarkan 1 mikromol xilosa yang dihasilkan permenit.

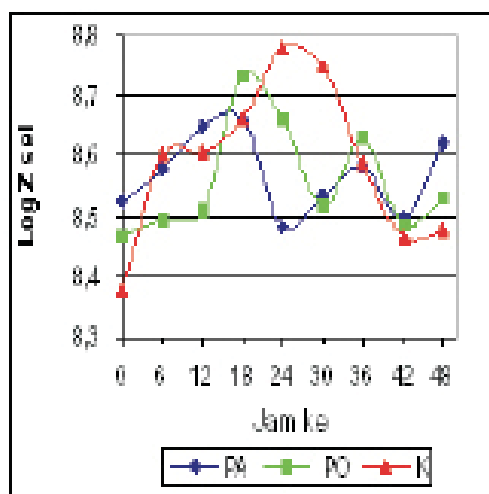
3. HASIL dan PEMBAHASAN

Hasil pengamatan jumlah sel pada pertumbuhan *B. stearothermophilus* DSM 22 didalam media limbah pertanian yaitu pelepah pisang, jerami padi, sekam padi dan dedak masing-masing dengan perlakuan dijemur dengan matahari (alami) dan dengan oven dapat dilihat pada gambar 1, gambar 2, gambar 3 dan gambar 4.

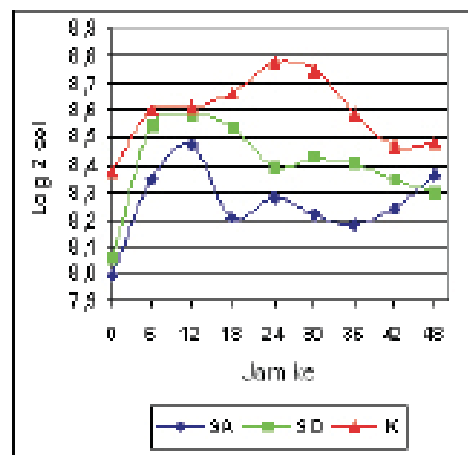
Pola pertumbuhan *B. stearothermophilus* DSM 22 di dalam media kontrol yaitu media Nakamura, dkk⁵⁾ lebih teratur dibanding didalam media dari jerami, pelepah pohon pisang, sekam dan dedak dari padi. Hal tersebut dikarenakan media sintetik bebas dari kotoran, molekul-molekul dari setiap senyawa tertentu strukturnya sehingga lebih mudah mikroba untuk menggunakan sebagai media pertumbuhan tanpa terhalang oleh senyawa lain yang mungkin menjadi penghambat pertumbuhannya. Di dalam media kontrol (Nakamura dkk⁵⁾) jumlah sel tertinggi (6,3–6,4) x10⁸ /mL dicapai pada jam ke 24. Di dalam media limbah pertanian yang dijemur sinar matahari yaitu JA, SA dan DA jumlah sel tertinggi dicapai pada jam ke 12 masing - masing adalah 3,6 x10⁸/mL, 2,98 x10⁸/mL dan 4,23x10⁸ /mL sedangkan di dalam media PA jumlah sel tertinggi dicapai pada jam ke 18 yaitu 4,58 x10⁸/mL. Jumlah sel tertinggi di dalam limbah pertanian yang di oven untuk JO dan SO masing-masing adalah 3,2 x10⁸/mL dan 3,83 x 10⁸ /mL

dicapai pada jam ke 12 sedangkan di dalam media PO dan DO jumlah sel tertinggi dicapai pada jam ke 18 masing - masing yaitu $5,42 \times 10^8$ /mL dan $3,88 \times 10^8$ /mL.

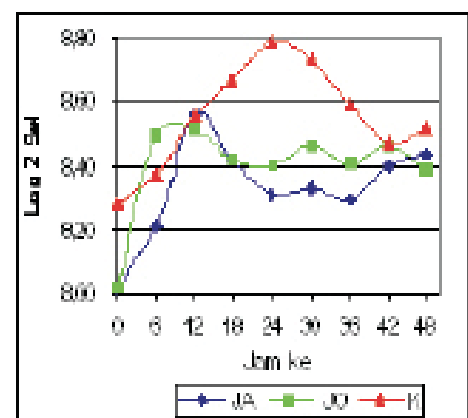
Hasil pengamatan jumlah sel pada pertumbuhan *B. stearotheophilus* DSM 22 didalam media limbah perkebunan yaitu cangkang kelapa sawit dan akar kelapa sawit masing-masing dengan perlakuan tanpa ekstraksi (CSE dan ASE) dan tanpa di ekstraksi (CSA dan ASA) dapat dilihat pada gambar 5 dan gambar 6.



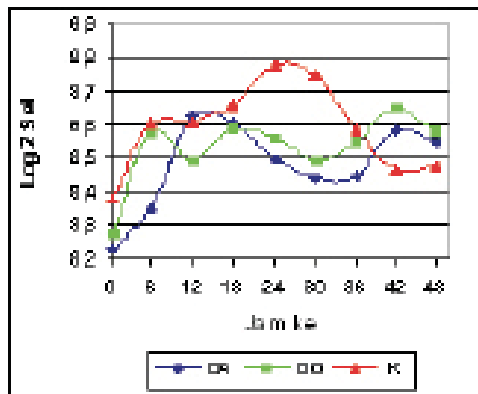
Gambar 1: Pertumbuhan *B. stearotheophilus* DSM 22 di dalam media Nakamura sebagai kontrol (K), pelepah alami (PA), pelepah oven (PO), untuk produksi xilanase di dalam erlenmeyer menggunakan shaker inkubator kondisi fermentasi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.



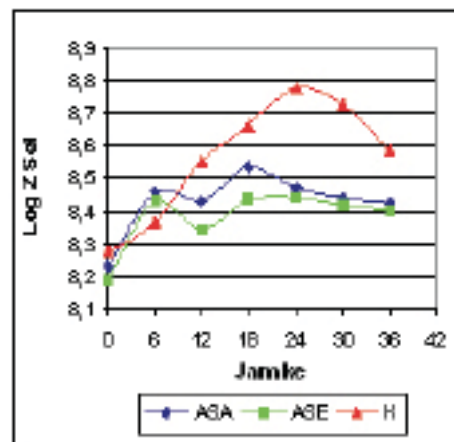
Gambar 2 : Pertumbuhan *B. stearotheophilus* DSM 22 di dalam media Nakamura sebagai kontrol (K), sekam alami (SA), sekam oven (SO), untuk produksi xilanase di dalam erlenmeyer menggunakan shaker inkubator kondisi fermentasi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.



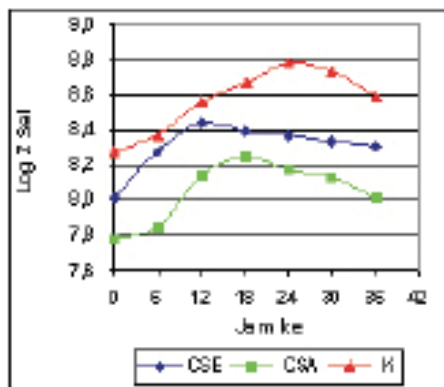
Gambar - 3: Pertumbuhan *B. stearotheophilus* DSM 22 di dalam media Nakamura sebagai kontrol (K), Jerami alami (JA), Jerami oven (JO), untuk produksi xilanase di dalam erlenmeyer menggunakan shaker inkubator kondisi fermentasi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.



Gambar-4 : Pertumbuhan *B. stearoother mopillus* DSM 22 di dalam media Nakamura sebagai kontrol (K), dedak alami (DA) dan dedak oven (DO) untuk produksi xilanase di dalam erlenmeyer menggunakan shaker inkubator kondisi fermentasi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.



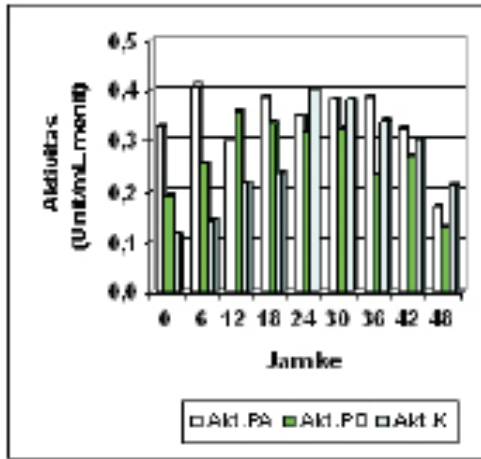
Gambar-6 : Pertumbuhan *B. stearoother mopillus* DSM 22 di dalam media media Nakamura sebagai kontrol (K), akar kelapa sawit tanpa ekstraksi (ASA) dan akar kelapa sawit ekstraksi (ASE) untuk produksi xilanase di dalam erlenmeyer menggunakan shaker inkubator kondisi fermentasi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.



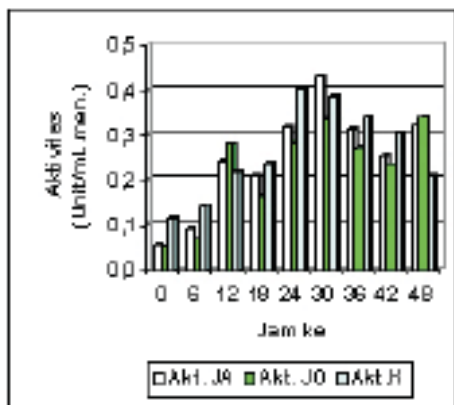
Gambar-5: Pertumbuhan *B. stearoother mopillus* DSM 22 di dalam media media Nakamura sebagai kontrol (K), cangkang kelapa sawit ekstraksi (CSE), cangkang kelapa sawit tanpa ekstraksi (CSA), untuk produksi xilanase di dalam erlenmeyer menggunakan shaker inkubator kondisi fermentasi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.

Didalam media Nakamura, dkk⁵⁾ pola pertumbuhan *B. stearoother mopillus* DSM 22 lebih teratur dibanding didalam limbah perkebunan yaitu cangkang kelapa sawit ekstraksi (CSE), cangkang kelapa sawit tanpa ekstraksi (CSA) dan akar kelapa sawit tanpa ekstraksi (ASA), akar kelapa sawit ekstraksi (ASE), namun fase logaritmik lebih cepat dicapai. Jumlah sel tertinggi pada fermentasi jam ke 18 di dalam media CSA, ASA dan ASE masing-masing $1,75 \times 10^8$ /mL, $3,44 \times 10^8$ /mL dan $2,75 \times 10^8$ /mL sedangkan di dalam media CSE jumlah sel tertinggi $2,72 \times 10^8$ /mL pada fermentasi jam ke 12. Sementara di dalam media kontrol (Nakamura dkk⁵⁾) jumlah sel tertinggi $(6,3-6,4) \times 10^8$ /mL dicapai pada jam ke 24. Seperti terlihat pada gambar -5 dan gambar-6 pola pertumbuhan *B. stearoother mopillus* DSM 22 di dalam media limbah perkebunan agak teratur dibanding di dalam limbah pertanian yaitu pelepah, jerami, sekam dan dedak.

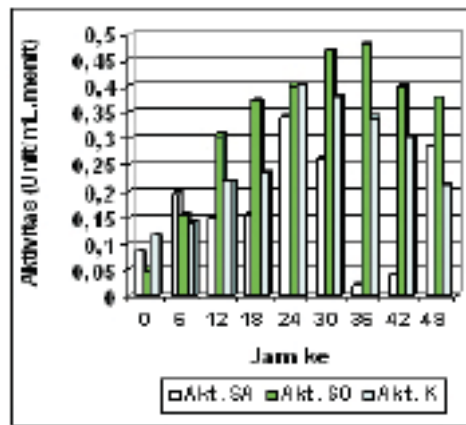
Hasil analisis uji aktivitas xilanase dari *B. stearotheophilus* DSM 22 didalam media limbah pertanian yaitu pelepah pisang, jerami padi, sekam padi dan dedak masing-masing dengan perlakuan dijemur dengan matahari (alami) dan dengan oven dapat dilihat pada gambar 7, gambar 8, gambar 9 dan gambar 10.



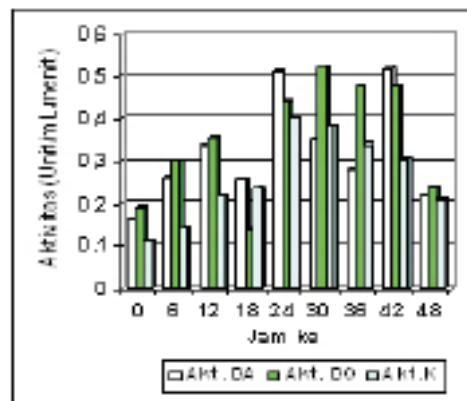
Gambar-7 : Aktivitas xilanase (Unit/ mL.menit) hasil fermentasi *B. stearotheophilus* DSM 22 di dalam media Nakamura sebagai kontrol (K), pelepah alami (PA), pelepah oven (PO), di dalam shaker inkubator kondisi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.



Gambar-8 : Aktivitas xilanase (Unit/ mL.menit) hasil fermentasi *B. stearotheophilus* DSM 22 di dalam media Nakamura sebagai kontrol (K), Jerami alami (JA), Jerami oven (JO), di dalam shaker inkubator kondisi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.



Gambar-9 : Aktivitas xilanase (Unit/ mL.menit) hasil fermentasi *B. stearotheophilus* DSM 22 di dalam media Nakamura sebagai kontrol (K), sekam alami (SA), sekam oven (SO), di dalam shaker inkubator kondisi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.

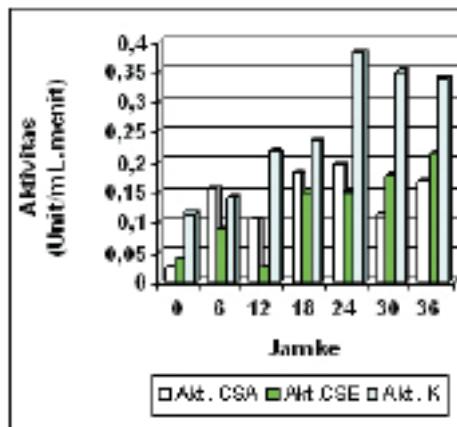


Gambar-10 : Aktivitas xilanase (Unit/ mL.menit) hasil fermentasi *B. stearotheophilus* DSM 22 di dalam media Nakamura sebagai kontrol

(K), dedak alami (DA) dan dedak oven (DO) di dalam shaker inkubator kondisi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.

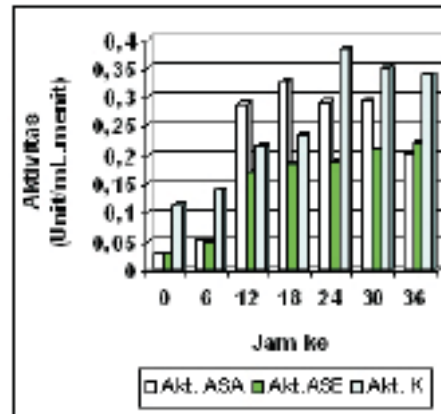
Aktivitas xilanase dari media limbah pertanian pelepas, jerami, sekam padi dan dedak padi tertinggi dicapai pada fermentasi jam ke 24 sampai dengan jam ke 42. Pada fermentasi jam ke 24 aktivitas xilanase tertinggi dari media kontrol media Nakamura, dkk⁵⁾ 0,404 Unit/mL.menit pada fermentasi jam ke 24, kemudian dari media PA, PO, DA, DO, SA, dan SO masing-masing adalah 0,352 Unit/mL.menit, 0,317 Unit/mL.menit, 0,514 Unit/mL.menit, 0,44 Unit/mL.menit, 0,341 Unit/mL.menit dan 0,402 Unit/mL.menit. Aktivitas xilanase tertinggi dari media JA dan JO dicapai pada fermentasi jam ke 30 yaitu 0,429 Unit/mL.menit dan 0,335 Unit/mL.menit

Hasil analisis uji aktivitas xilanase dari *B. stearothermophilus* DSM 22 didalam media limbah perkebunan yaitu cangkang kelapa sawit dan akar kelapa sawit masing-masing dengan perlakuan tanpa ekstraksi (CSE dan ASE) dan tanpa di ekstraksi (CSA dan ASA) dapat dilihat pada gambar 11 dan gambar 12.



Gambar-11 : Aktivitas xilanase (Unit/mL.menit) hasil fermentasi *B. stearothermophilus* DSM 22 di dalam media Nakamura sebagai kontrol (K), cangkang kelapa sawit ekstraksi

(CSE), cangkang kelapa sawit tanpa ekstraksi (CSA) menggunakan shaker inkubator kondisi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.



Gambar-12 : Aktivitas xilanase (Unit/mL.menit) hasil fermentasi *B. stearothermophilus* DSM 22 di dalam media Nakamura sebagai kontrol (K), akar kelapa sawit tanpa ekstraksi (ASA) dan akar kelapa sawit ekstraksi (ASE) menggunakan shaker inkubator kondisi pH awal 8, suhu 55°C, dan pengocokan 250 rpm.

Aktivitas xilanase dari limbah perkebunan cangkang dan akar kelapa sawit lebih rendah dibandingkan aktivitas xilanase dari limbah pertanian. Aktivitas xilanase tertinggi dari media CSE, CSA, ASE dan ASA dicapai pada jam ke 24 masing-masing adalah 0,15 Unit/mL.menit, 0,195 Unit/mL.menit, 0,19 Unit/mL.menit, dan 0,292 Unit/mL.menit.

Selanjutnya dari hasil fermentasi jerami alami menggunakan fermentor diperoleh hasil seperti terlihat pada tabel -1. Menunjukkan bahwa aktivitas xilanase dengan media jerami alami lebih rendah dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan kulit buah pisang sebagai media fermentasi seperti dilaporkan oleh Djamil dkk⁸⁾ yaitu 2.893 Unit/mL.mnt dan dicapai pada fermentasi jam ke 24.

Tabel-1 : Jumlah Sel (OD), aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim xilanase

Waktu (jam)	0	12	24	32	36
OD	1.06	2.06	4.39	4.11	4.22
Akt.(U/ mLmnt.)	-0.91	-0.75	0.16	2.47	0.36
Akt. Spes. U/mg	-14.95	-5.73	0.71	11.69	1.81

4. KESIMPULAN

Limbah pertanian yaitu pelepah pohon pisang, jerami padi, sekam padi, dedak da limbah perkebunan yaitu cangkang kelapa sawit dan akar kelapa sawit sebagai pengganti xilan ditambah dengan molases dan urea bisa digunakan sebagai media untuk produksi xilanase.

Media dedak (DA) dan jerami (JA) aktivitas enzim masing-masing 27% dan 12 % lebih tinggi dibanding dengan media (Nakamura dkk) yang digunakan sebagai kontrol.

Fermentasi dengan volume kerja 6 L media jerami alami diperoleh aktivitas spesifik tertinggi pada jam ke 32 yaitu 11.69 U/mg.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Rexen, F.R.P. Sigsen, A>N Sorensen 1976 Improvement of Indian straw and baggase for cattle feeds by alkali treatment, using a dry process technique report to council for development research" Danida.
- Paturau JM 1982. "Byproduct of the can sugar industry", Amsterdam:Elsevier scientific publ.Co.
- Sri N., 1994."Isolasi dan pengujian aktivitas enzim selulase *T harzanium* Pan 23.1 dari media jerami padi III. B9772 Mr-81" (Skripsi). Depok: F MIPA UI.
- Agustina SW., 2002."Penetapan kadar xilan dari beberapa limbah industri pertanian menggunakan metoda kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)" Jakarta:FFUP,: 24-25.
- Nakamura, S., R.Nakai, K. Wakabayashi, Y. Ishiguro, R. Aono, K.Horikoshi, 1994. " *Thermophilic Alkaline Xylanase from Newly Isolated Alkaliphilic and Thermophilic Bacillus sp. Strain TAR-1*", Biosc. Biotech. Biochem., 58 (1) : 78-81.
- Trismilah, J.Prasetyo, N. Astutiati, AM Lutfi, Wibisono, 2003. "*Development of Xylanase for Industry Pulp and Paper* ", Seminar Nasional Industri Enzim dan Bioteknologi (Cieb '03). Proceeding, Jakarta : 36-41.
- Bernfeld P.1955." Amylases á dan â" didalam Colowick SP, Kaplan NO, editor."Methods in Enzymology", volume I, New York: Academic Press Inc; hal 149-151.
- Djamil, R. W. Deden, Trismilah, 2005."Pengaruh Penambahan molase pada produksi xilanase menggunakan kulit buah pisang dari *B.Stearothermophilus* DSM 22" Dipresentasikan pada "Kongres Nasional PERMI IX" Pertemuan Ilmiah Tahunan PERMI & 3rd Asian Conference for Lactic Acid Bacteria, Hotel Plaza Paradise – Bali, 25-27 Agustus 2005, belum diprosiding.