

KARAKTERISASI ENZIM XILANASE DARI *Bacillus* sp

Galih Cendana Nabilasani¹⁾ dan Sumardi¹⁾

¹⁾Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
Jl. Prof. Dr. Soemantri Brodjonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145
Surel: Sumardi_bio@yahoo.co.id

ABSTRACT

The characterization of xylanase enzyme was started by examining the temperature for optimum production of xylanase, and the optimum temperature was emitted in 70° C, with enzyme activity value of 100%. In addition, another test was conducted in 40° C due to the natural temperature of the chicken intestine where the *Bacillus* sp. were obtained, 39-40°C. After the optimum temperature was obtained, the examination to determine the optimum pH was conducted. The results showed that in the temperature of 70°C, the optimum pH was 5, while in the temperature of 40°C, the optimum pH was 7. The experiment was continued to examining enzyme stabilization after being stored. According to the results, it was found that in the temperature of 70°C xylanase enzyme can not be stored because for the storage time of 1 hour, xylanase enzyme activity has decreased for more than 50% of enzyme activity at hour 0, and in the temperature of 40°C the xylanase enzyme was stabilized in hour 0 to hour 5th.

Keywords: optimum period of storage, optimum pH, optimum temperature, xylanase enzyme.

ABSTRAK

Karakterisasi enzim xilanase diawali dengan menguji suhu optimum produksi enzim xilanase dan dihasilkan suhu optimum terjadi pada suhu 70°C yang memiliki nilai aktivitas relatif enzim sebesar 100%. Selain suhu 70°C dilakukan pula pengujian pada suhu 40°C karena *Bacillus* sp. yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari usus ayam yang memiliki suhu berkisar antara 39-40°C. Setelah didapatkan suhu optimum dilakukan pengujian pH optimum yang didapatkan pada suhu 70°C pH optimum menggunakan pH 5, sedangkan pada suhu 40°C optimum pada pH 7. Penelitian selanjutnya dilakukan pengujian terhadap kestabilan enzim setelah dilakukan penyimpanan. Berdasarkan pengujian diketahui pada suhu 70°C enzim xilanase tidak dapat disimpan karena pada lama waktu penyimpanan 1 jam aktivitas enzim xilanase mengalami penurunan lebih dari 50% dari aktivitas enzim pada jam ke-0, dan pada suhu 40°C aktivitas enzim xilanase masih dikatakan stabil sampai jam ke -5.

Kata kunci : enzim xilanase, lama waktu penyimpanan, pH optimum suhu optimum



PENDAHULUAN

Xilan dapat di pecah menjadi gula sederhana berupa xilosa dengan bantuan enzim xilanase (Richana, 2002). Enzim Xilanase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis ikatan 1,4- β yang terdapat pada xilan atau polimer dari xilosa dan xilo-oligosakarida (Richana, 2002). Pemanfaatan enzim xilanase dalam bidang industri telah banyak dilakukan seperti dalam industri kertas dan proses pemutihan pulp maupun industri pangan seperti dalam pembuatan permen, kopi, serta pakan ternak (Trismillah, *et al.*, 2000).

Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila memiliki *Bacillus* sp yang berasal dari saluran pencernaan ayam. *Bacillus* sp ini dapat menghasilkan zona jernih pada media pati yang terhidrolisis sehingga dapat dikatakan bakteri ini dapat menghasilkan enzim amilase (Rodiah, 2014). Berdasarkan uraian tersebut dilakukan pengujian enzim lain yang dapat dihasilkan oleh *Bacillus* sp., yaitu enzim xilanase. Pengujian dilakukan dengan pewarnaan *congo red* pada media agar modifikasi Mandels dan Reese. Dari hasil uji tersebut diketahui *Bacillus* sp. juga menghasilkan enzim xilanase, namun sifat dari enzim xilanase *Bacillus* sp. belum diketahui. Oleh karena itu perlu dilakukan karakterisasi enzim xilanase dari bakteri tersebut. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik enzim xilanase yang dihasilkan oleh *Bacillus* sp. yang meliputi suhu optimum, pH *buffer* optimum, dan lama penyimpanan terhadap kestabilan enzim.

METODE

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dari bulan Januari 2015

sampaibulan Mei 2015. Penelitian ini dilakukan secara deskriptif, dengan tiga faktor yang diamati, yaitu suhu, pH, dan kestabilan enzim terhadap lama penyimpanan. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cawan petri, erlenmeyer, gelas beaker, spatula, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, oven, inkubator, *water bath shaker*, *micropipet*, *tip*, *autoclave*, *laminar air flow*, *pH meter* dan *spektrofotometer*. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tepung bonggol jagung, *aquades*, *xylan beechwood* 0,5%, media modifikasi Mandels dan Reese ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, *NaCl*, *Tryptone water*, dan *Yeast extract*), *buffer* (*sitrat*, *fosfat*, *Tris-HCl*), *reagen DNS*, *congo red*, gula xilosa (koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila), dan *Bacillus* sp (koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila).

Peremajaan *Bacillus* sp. *Bacillus* sp. merupakan koleksi bakteri dari laboratorium mikrobiologi FMIPA UNILA. Bakteri ini diperoleh dari usus ayam. Peremajaan bakteri *Bacillus* sp. dilakukan dengan mengambil satu osestok *Bacillus* sp dan ditanam pada media miring yang terdiri dari media modifikasi Mandels dan Reese ditambah agar bacteriological 1,5%, kemudian diinkubasi pada suhu 39⁰C selama 12 jam.

Pembuatan Stater Bakteri. *Bacillus* sp. yang ditumbuhkan dalam media padat miring selama 12 jam diinokulasikan menggunakan jarum ose ke dalam erlenmeyer berukuran 100 mL yang berisi 20 mL media modifikasi Mandels dan Reese (Mandels & Reese, 1956) kemudian diinkubasi dengan menggunakan waterbath shaker kecepatan putar 100 rpm dengan suhu 39⁰C sampai jam ke-12.

Produksi Enzim. Proses produksi enzim dilakukan dengan cara mengambil 10% inokulum stater bakteri *Bacillus* sp. dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL yang

berisi 20 mL media modifikasi Mandels dan Reese steril, lalu diinkubasi sampai jam ke-12 dengan menggunakan waterbath shaker dengan suhu 39⁰C. Setelah masa inkubasi, dilakukan proses sentrifugasi selama 3 menit dengan kecepatan 1000 rpm. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar xilanase.

Penentuan Lama Waktu Inkubasi Untuk Mendapatkan Aktivitas tertinggi Enzim

Xilanase. Untuk mengetahui tingkat pertumbuhan dan aktivitas enzim ditetapkan dengan cara pengambilan sampel setiap 6 jam sekali pada jam ke-0, ke-6, ke-12, ke-16, ke-24, dan ke-30 jam. Aktivitas enzim ditentukan dengan mengukur gula reduksi yang diikat oleh DNS (Tabel 1). Pengukuran absorbansi menggunakan panjang gelombang 575 nm. Penentuan aktivitas enzim xilanase per unit dapat ditentukan dengan rumus :

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{\text{kadar xilosa } (\mu\text{g}) \times \text{faktor pengenceran}}{\text{BM Xilosa} \times \text{waktu inkubasi}}$$

$$\text{Aktivitas Enzim Relatif (\%)} = \frac{\text{Aktifitas enzim yang diperoleh (U/ml)}}{\text{Aktivitas enzim optimum (U/ml)}} \times 100\%$$

Karakterisasi Enzim Xilanase

Penentuan Suhu Inkubasi Optimum. Ekstrak kasar enzim yang telah didapatkan diuji aktivitasnya pada berbagai suhu untuk mendapatkan suhu optimum dalam menghasilkan enzim. Variasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30⁰C, 40⁰C, 50⁰C, 60⁰C, 70⁰C, 80⁰C, dan 90⁰C dengan lama waktu inkubasi 30 menit.

Penentuan pH inkubasi Optimum. Enzim yang dihasilkan diuji aktivitasnya pada berbagai macam pH *buffer*. Variasi pH yang digunakan *buffer sitrat* pH 4, 5, 6, *buffer fosfat* pH 7, dan *buffer Tris-HCl* pH 8, 9 pada suhu optimum dan suhu 40⁰C.

Penentuan Kestabilan Aktivitas Enzim Berdasarkan Lama Penyimpanan. Enzim kasar yang telah dihasilkan selanjutnya disimpan pada suhu tertentu. Pengujian terhadap lama penyimpanan dilakukan pada 5 variasi waktu yang terdiri dari 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kualitatif Xilanolitik Bakteri. Pada penelitian ini digunakan *Bacillus* sp. yang diperoleh dari usus ayam yang termasuk ke dalam genus *Bacillus*. Sebelum melakukan pengujian terhadap karakteristik enzim xilanase dilakukan terlebih dahulu uji kualitatif menggunakan pewarnaan *congo red* pada media agar modifikasi Mandels dan Reese. Berdasarkan hasil uji tersebut didapatkan zona jernih disekitar bakteri (Gambar 1).

Gambar 1.

Menurut Vanadianingrum (2008) zona jernih yang terbentuk pada pewarnaan *congo red* pada media yang mengandung xilan disebabkan oleh bakteri yang menghasilkan enzim xilanase sehingga terjadi penguraian dari struktur kompleks xilan menjadi xilosa. Berdasarkan zona jernih yang terbentuk, dapat dikatakan *Bacillus* sp. memiliki kemampuan xilanolitik.

Lama Waktu Inkubasi Untuk Produksi Enzim Xilanase. Hasil pengujian dan pengukuran tersebut didapatkan pada jam ke-12 merupakan waktu inkubasi tertinggi yang ditandai dengan nilai aktivitas relatif enzim 100% (Gambar 2).

Gambar 2.

Berdasarkan hasil lama waktu inkubasi, dalam pengujian selanjutnya digunakan waktu inkubasi selama 12 jam. Tiap-tiap bakteri memiliki lama produksi enzim xilanase yang berbeda – beda. Siahaan (2003), melakukan penelitian xilanase dari *Bacillus* sp. I-5

yang berasal dari sumber air panas Ciseeng memiliki waktu optimum produksi pada jam ke-20 inkubasi. Khandepaker (2011), menyatakan bahwa *Bacillus subtilis* ch40 dapat menghasilkan xilanase optimum setelah 4 hari inkubasi, sedangkan penelitian Fawzya, et al., (2013) menyatakan bahwa *Actinobacter baumannii* menghasilkan enzim xilanase bekerja optimum pada pH 8, suhu 70, dan aktivitas enzim tertinggi pada hari ke-2 inkubasi.

Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase. Pada penelitian ini didapatkan suhu 70⁰C sebagai suhu optimum dengan jumlah aktivitas relatif enzim 100% dalam menghasilkan enzim xilanase oleh *Bacillus* sp. (Gambar 3).

Gambar.3

Suhu optimum 70⁰C juga ditemukan pada *Actinobacter baumannii* M-13.2A (Fawzya et al., 2013). Murray et al. (2003) mengemukakan bahawa kenaikan suhu sampai suhu tertentu mengakibatkan sisi aktif enzim dan substrat makin sering bertumbukan sehingga terjadi peningkatan pada kecepatan reaksi dan aktivitas enzim. Suhu 70⁰C ini akan digunakan pada pengujian selanjutnya, selain suhu 70⁰C dipilih suhu 40⁰C dalam penelitian ini. Penggunaan suhu 40⁰C disebabkan *Bacillus* sp. yang digunakan berasal dari usus ayam yang memiliki suhu sekitar 39–40⁰C. Sehingga informasi yang didapatkan dapat diterapkan dalam penggunaan enzim xilanase pada pakan ayam ternak.

Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim Xilanase. Pengaruh pH *buffer* terhadap aktivitas xilanase di uji pada suhu 70⁰C dan suhu 40⁰C. Pemilihan *buffer* ditentukan berdasarkan dari tiga sifat bakteri terhadap pengaruh pH, yaitu alkalofilik, neutrofilik,

dan basofilik. Aktivitas relatif enzim tertinggi pada suhu 40⁰C memiliki pH optimum 7, sedangkan pada suhu 70⁰C pH *buffer* 5 (Gambar 4).

Gambar.4

Adanya perbedaan aktivitas optimum pH pada suhu 70⁰C dan 40⁰C dalam pH optimum dimungkinkan karena adanya dua jenis enzim xilanase. Pada bakteri BYL-15 dan BYL-28 yang termasuk golongan *Actinomycetes* ditemukan dua titik pH optimum diduga pada kedua bakteri ini menghasilkan lebih dari satu jenis enzim protease alkalin termostabil (Akhdiya, 2003).

Pengaruh Lama Waktu Penyimpanan Terhadap Kestabilan Enzim. Dari hasil penyimpanan ekstrak kasar enzim yang dilakukan dalam lima variasi waktu didapatkan dalam suhu penyimpanan 70⁰C enzim hanya mampu menjaga kestabilannya pada jam ke-0 sedangkan pada jam selanjutnya enzim mengalami penurunan lebih dari 50% pada aktivitas enzimnya. Hal ini disebabkan mulai terjadi denaturasi pada struktur protein enzim sehingga aktivitas enzim mulai menurun. Pada suhu 40⁰C enzim xilanase masih stabil sampai waktu penyimpanan ke -5, karena aktivitas relatif enzim tidak mengalami penurunan hingga 50% (Gambar 5).

Gambar.5

Menurut chasanah, *et al.* (2013) penurunan aktivitas enzim yang kurang dari 50% dari aktivitas awal dapat dikatakan enzim tersebut dalam keadaan stabil, sehingga enzim selulase masih dikatakan dalam keadaan stabil hingga jam ke-5 penyimpanan.

KESIMPULAN

Bacillus sp. yang berasal dari usus ayam memiliki kemampuan xilanolitik. Enzim xilanase yang dihasilkan memiliki aktivitas relatif enzim optimum pada suhu



70°C. Pada suhu 70°C aktivitas enzim xilanase tertinggi pada pH 5, sedangkan pada suhu 40°C aktivitas enzim optimum pada pH 7. Enzim xilanase yang disimpan selama 5 jam pada suhu 40°C dan pH 7 masih stabil aktivitasnya, namun pada suhu 70°C dan pH 5 enzim xilanase tidak dapat disimpan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhdiya A. 2003. Isolasi bakteri penghasil enzim protease alkalin termostabil. *Buletin Plasma Nutfah* 9(2): 38-44.
- Chasanah E, Dini I R, & Mubarik N R. 2013. *Karakterisasi Enzim Selulase Pmp 0126y Dari Limbah Pengolahan Agar*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, KKP. Jakarta.
- Fawzya NY, Prima RE, Mangunwardoyo W, Munifah I, & Patantis G. 2013. Produksi dan karakterisasi enzim xilanase dari isolat bakteri M – 13.2A asal air laut Manado. *JPB Kelautan dan Perikanan* 8(1): 55-64.
- Khandeparker R, Verma P, & Deobagkar D. 2011. A novel halotolerant xylanase from marine isolate *Bacillus subtilis* cho40: gene cloning and sequencing. *New Biotechnology* 6(28): 814–821.
- Mandels M & Reese ET. 1957. Induction of cellulase in *Trichoderma viride* as influenced by carbon sources and metals. *J. Bacteriol.* 73:269-278.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, & Rodwell VW. 2003. *Biokimia* Harper. Terj. Harper's biochemistry. Penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta. 1x + 891 pp.
- Richana N. 2002. Produksi dan prospek enzim xilanase dalam pengembangan bioindustri di Indonesia. *Buletin AgroBio.* 5(1): 29-36.
- Rodiah S. 2014. Uji Viabilitas Bakteri Amilolitik Dari Inokulum Probiotik untuk Pakan Ternak pada Berbagai Jenis Kemasan. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung
- Siahaan HM. 2003. Karakterisasi Xilanase Termostabil dari Isolat *Bacillus* spp. *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor
- Sumardi & Ekowati. 2013. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Lanjut*. Universitas Lampung. Lampung.



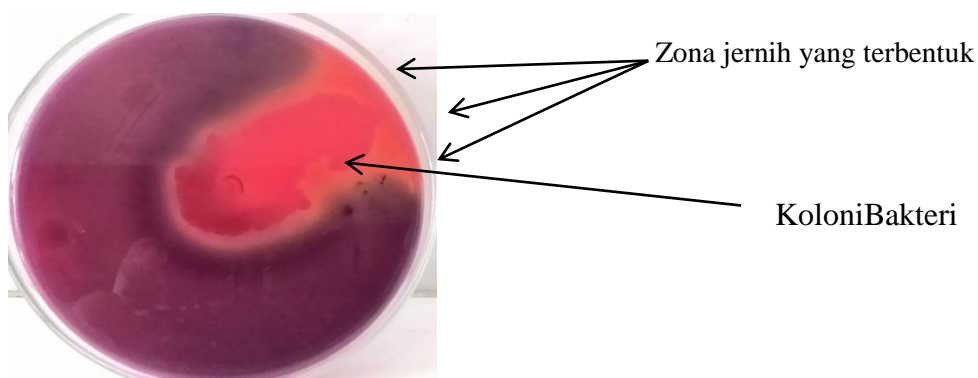
Trismilah & Sumaryanto. 2000. pemanfaatan kulit pisang sebagai sumber karbon oleh *Bacillus stearothermophilus* DSM 22 untuk produksi enzim xilanase, hlm 403-410. *Seminar Nasional Industri Enzim dan Teknologi II*. Jakarta, 15-16 Februari 2000.

Vanadianingrum. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Xilanase dari Cairan Rumen Kambing, Domba dan Sumber Air Panas. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor

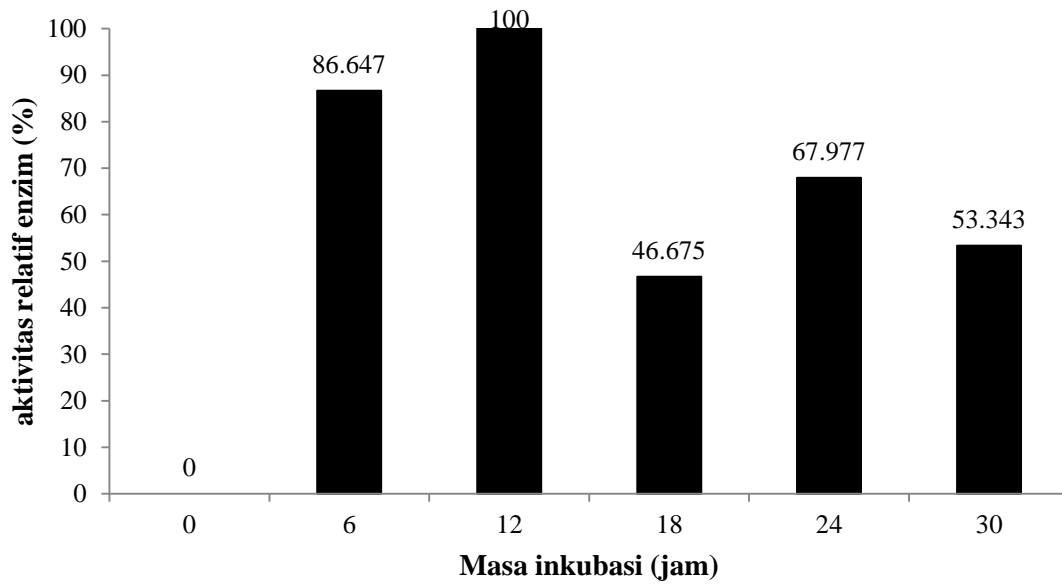
Tabel 1. Pengujian aktivitas enzim

| Bahan | Kontrol | Uji |
|--|---------|--------|
| Enzim | - | 0,5 mL |
| 0,5% <i>xylan beechwood</i> dalam buffer 0,05 M | 0,5 mL | 0,5 mL |
| Larutan diinkubasi (suhu optimum dan suhu 40°C) selama 30 menit | | |
| Larutan dimasukkan dalam air es (untuk menghentikan aktivitas enzim) | | |
| Larutan DNS | 1 mL | 1 mL |
| Enzim | 0,5 mL | - |
| Larutan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit | | |
| Larutan didinginkan di air dingin selama 20 menit, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 575 nm | | |

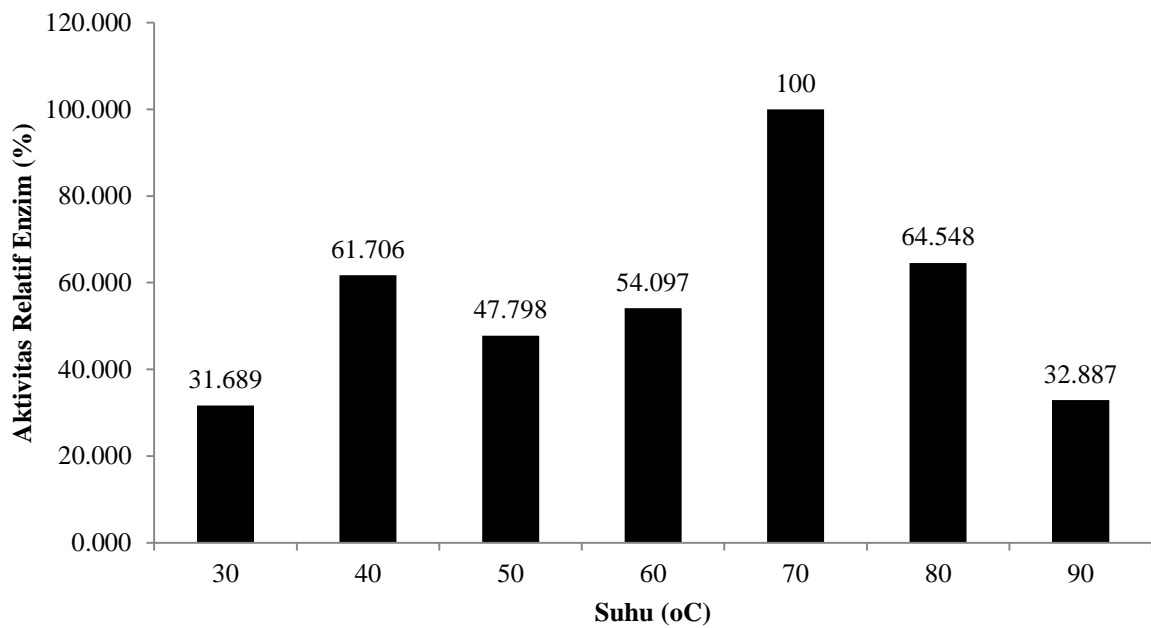
Sumber : Sumardi dan Ekowati (2013)



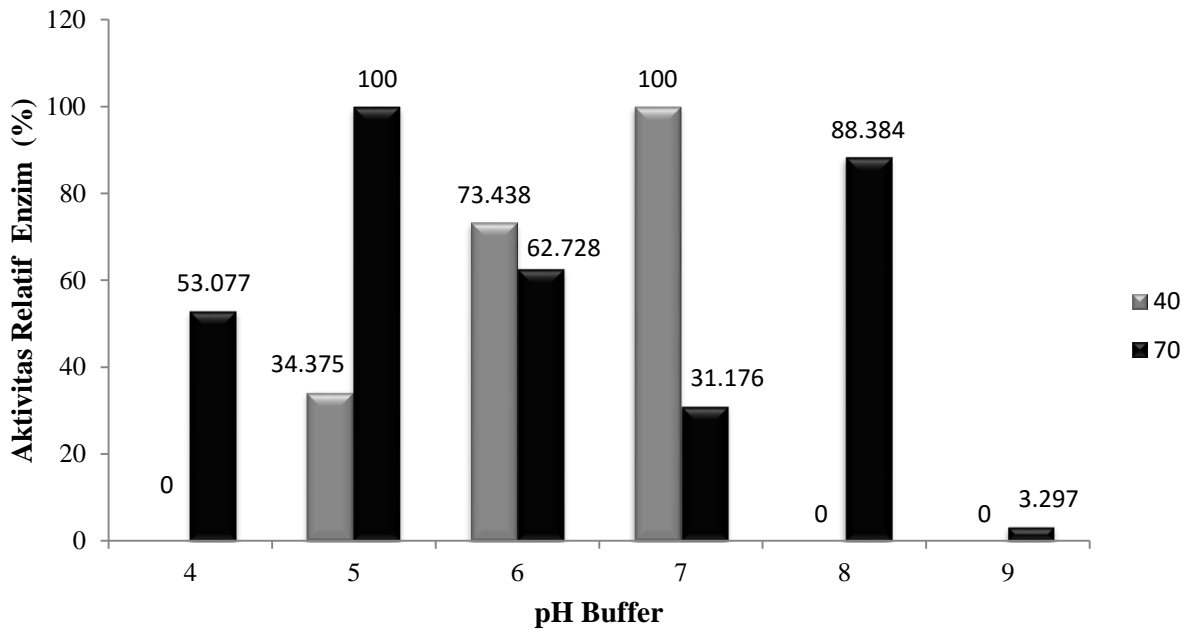
Gambar 1. Koloni bakteri *Bacillus* sp yang membentuk zona jernih



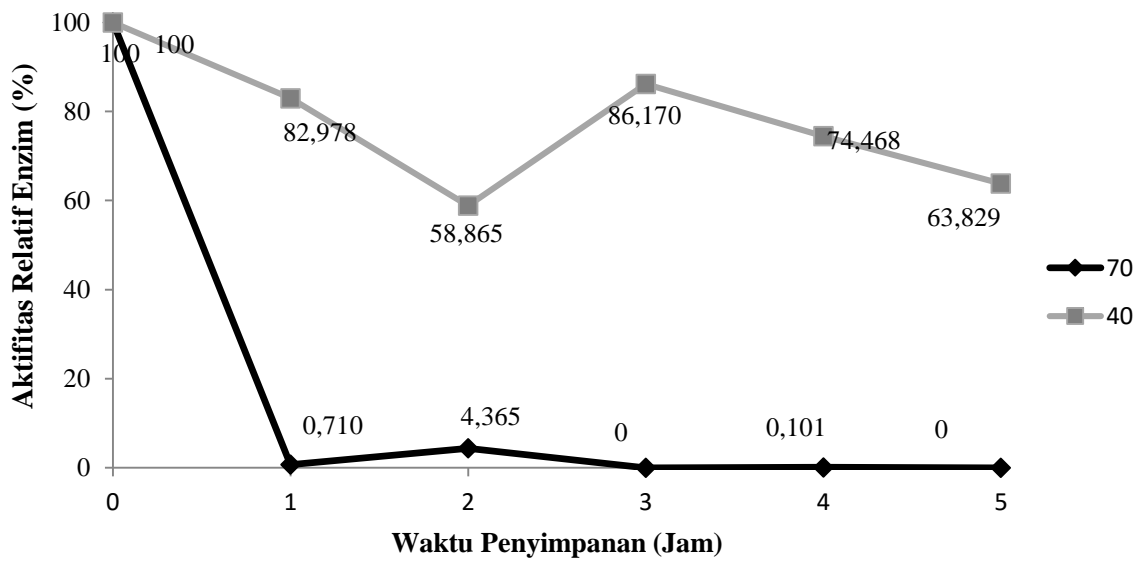
Gambar 2. Diagram hubungan lama waktu inkubasi *Bacillus* sp dengan aktivitas relatif enzim xilanase



Gambar 3. Diagram hubungan suhu optimum dengan aktivitas relatif enzim xilanase



Gambar 4. Grafik Hubungan antara pH *buffer* dengan aktivitas relatif enzim xilanase



Gambar 5. Grafik hubungan antara waktu penyimpanan kestabilan enzim terhadap aktivitas relatif enzim xilanase