

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Pemanfaatan Limbah Pertanian Untuk Produksi Xilanase Dari *Trichoderma viride* Menggunakan Metoda Fermentasi Semi Padat Sebagai Penunjang Pengolahan Pangan

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : Drs. Sutrisno, M.Si
NIDN : 0018036205
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Kimia
Nomor HP : 085649661044
Alamat surel (e-mail) : tris_mc@ub.ac.id

Anggota (1)
Nama Lengkap : Drs. Dinar Purwonugroho, M.Si
NIDN : 0010066007
Perguruan Tinggi Anggota (2) : Universitas Brawijaya

Perguruan Tinggi : -
Institusi Mitra (jika ada) : -
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke satu dari rencana dua tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp. 55.000.000,-
Biaya Keseluruhan : Rp. 105.548.000,-

Mengesahkan,
Dekan FMIPA

(Prof. Dr. Marjono, M.Pd.)
NIP. 196211161988031004

Malang, 20 Desember 2013

Ketua,

(Drs. Sutrisno, M.Si)
NIP. 196203181990021001

Menyetujui,
Pjs. Ketua KPPM UB

(Prof. Dr. Ir. Siti Chuzzaemi, MS)
NIP. 19530514 198002 2 001

The use of Agricultural waste for *Trichoderma viride* xylanase production using Semi Solid Fermentation as food processing support

Abstract

The aims of this research is to explore the potential agricultural waste as substrate of *Trichoderma viride* to produce xylanase . Xylanase was produced by using semi solid fermentation in various substrates such as peel of banana, soybean, melon, mungbean and corn husk. The protein and activity of xylanase were analyzed at various fermentation time . The crude xylanase was purified by using fractionation of unsaturated ammonium sulphate precipitation , which followed by dialysis. The purified xylanase was then characterized for optimum condition of xylanase activity, including optimum pH, temperature and incubation time ,and kinetic parameter and xylanase stability. The result showed that xylanase was maximally produced on semi solid fermentation at substrate of cornhusk within 60 hours , resulting in 14.60mg/mL of crude xylanase and 20.875 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. The highest purity of xylanase was found at fraction of 45-60% of unsaturated ammonium sulphate resulting in 29.124 unit/mg protein of specific activity. While the optimum condition of xylanase activity occurred at pH 5, 60°C and 55 mins of incubation time yielding in value of K_M and V_m were 0.257 %(b/v) and 28.571 $\mu\text{mol mL}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ respectively. Metal ion, Ca^{2+} and Mg^{2+} acted as inhibitor at concentration of 1.2mM, where as Fe^{3+} dan Zn^{2+} at 40 mM . The highest stability of *Trichoderma viride* xylanase was found at 60°C after 25 hours incubation and the remained activity of 59.02%

Keywords : activity, agricultural waste,optimum condition, *Trichoderma viride*, xylanase

RINGKASAN

Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis xilan menjadi gula pereduksi xilosa dan xilo-oligosakarida. Xilanase memiliki peranan penting dalam dunia industri, seperti industri kertas, farmasi, pakan dan pangan (1).

Xilanase dapat dihasilkan dari berbagai macam mikroorganisma seperti: *Trichoderma viride*, *Bacillus*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Aureo-basidium*, *Fusarium*, *Rhizomucor*, *Humicola*. *Trichoderma viride* mempunyai kelebihan dibandingkan dengan mikroorganisme lainnya, dikarenakan dapat tumbuh cepat di berbagai substrat dan menghasilkan xilanase yang dapat bekerja pada pH asam sampai netral, sehingga sangat sesuai bila digunakan pada pengolahan pangan. Limbah pertanian pada umumnya mengandung xilan dalam jumlah cukup banyak, sehingga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai substrat oleh *Trichoderma viride* dalam menghasilkan xilanase. Pada penelitian ini digunakan kulit pisang, kulit kedelai, kulit apel, kulit melon dan kulit jagung. Produksi xilanase pada berbagai substrat sudah banyak diteliti dengan metoda fermentasi terendam, tetapi dengan menggunakan metoda fermentasi semi-padat baru diterapkan pada substrat jerami, ampas tebu, gabah dan bekatul.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi limbah pertanian (kulit pisang, kulit kedelai, kulit apel, kulit melon dan kulit jagung) sebagai substrat *T. viride* dalam menghasilkan xilanase yang diketahui karakternya, dilanjutkan dengan proses amobilisasi sehingga didapatkan xilanase baik dalam keadaan bebas ataupun amobil. Penelitian ini akan dilakukan selama dua tahun melalui beberapa tahapan, yaitu pada tahun pertama akan dilakukan: 1) Produksi xilanase dari *T. viride* menggunakan substrat kulit pisang, kulit kedelai, kulit apel, kulit melon dan kulit jagung. 2) Isolasi dan pemurnian xilanase (3) karakterisasi xilanase yang dihasilkan.

Produksi xilanase dilakukan dengan metode fermentasi semi-padat dengan substrat berbagai macam limbah pertanian dan waktu fermentasi divariasikan, yaitu: 0, 12, 24, 36, 48, 60, dan 72 jam. Xilanase yang dihasilkan pada masing-masing substrat dan waktu fermentasi diisolasi dan diuji aktivitasnya terhadap xilan murni. Substrat limbah pertanian dan waktu fermentasi yang menghasilkan xilanase dengan aktivitas paling tinggi dipilih untuk produksi xilanase berikutnya. Enzim yang dihasilkan selanjutnya dimurnikan dengan metode pengendapan menggunakan ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan divariasikan, yaitu 0-30, 30-45, 45-60, dan 60-75%. Xilanase yang mengendap pada setiap fraksi ditentukan aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifiknya. Enzim paling murni ditandai dengan nilai aktivitas spesifik yang paling tinggi.

Xilanase murni selanjutnya ditentukan kondisi kerja optimumnya, meliputi: pH, temperatur dan waktu inkubasi optimum. Parameter kinetika reaksi, yang meliputi Nilai V_m dan K_M . Pengaruh ion logam (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} dan Zn^{2+}) terhadap aktivitas dan pengaruh temperatur terhadap kestabilan xilanase. Kondisi optimum ditentukan dengan cara mengukur aktivitas xilanase pada variasi pH, temperatur dan waktu inkubasi. Kondisi optimum adalah kondisi (pH, temperatur dan waktu inkubasi) pada saat xilanase mempunyai aktivitas maksimum. Parameter kinetika ditentukan dengan cara mengukur aktivitas xilanase pada variasi konsentrasi substrat xilan, selanjutnya dibuat kurva hubungan antara $1/v_0$ terhadap $1/[S]$ yang merupakan garis lurus dengan slope = K_M/V_m dan intersep = $1/V_m$. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas xilanase diamati dengan cara menentukan aktivitas xilanase pada variasi konsentrasi ion logam. Sedangkan pengaruh temperatur terhadap kestabilan xilanase diamati dengan cara menentukan aktivitas sisa setelah xilanase diinkubasi pada variasi temperatur.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa xilanase diproduksi paling optimum pada substrat kulit pisang dengan waktu fermentasi 60 jam menghasilkan ekstrak kasar xilanase konsentrasi 14,600 mg/mL dengan aktivitas xilanase 20,875 $\mu\text{g/mLmenit}$. Pemurnian xilanase dengan ammonium sulfat menghasilkan enzim murni dengan aktivitas spesifik 29,124 unit/mg protein, terdapat pada fraksi 45-60%. Xilanase yang dihasilkan dari *Trichoderma viride* bekerja optimum pada kondisi pH 5, temperatur 60°C dan waktu inkubasi 55 menit, mempunyai nilai K_M sebesar 0,257 % (b/v) dan nilai V_m sebesar 28,571 $\mu\text{mol/mLmenit}$. Semua ion logam yang digunakan dalam penelitian ini dapat berperan baik sebagai aktivator maupun inhibitor, tergantung pada konsentrasinya. Sampai pada konsentrasi 0,4 mM, Mg^{2+} berperan sebagai aktivator, pada konsentrasi diatas 0,4 mM dan dibawah 1,2mM, sebagian Mg^{2+} berperan sebagai aktivator dan sebagian sebagai inhibitor, sedangkan pada konsentrasi diatas atau sama dengan 1,2 mM, Mg^{2+} berperan sebagai inhibitor. Ca^{2+} masih mampu meningkatkan aktivitas xilanase pada konsentrasi lebih tinggi dari Mg^{2+} , yaitu 0,6mM. Sebagian Ca^{2+} berperan sebagai aktivator dan sebagian sebagai inhibitor pada konsentrasi antar 0,6-1,2mM, dan Ca^{2+} berperan sebagai inhibitor pada konsentrasi diatas 1,2mM. Pengaruh Fe^{3+} dan Zn^{2+} terhadap aktivitas xilanase mempunyai profil yang sama. Efek aktivator ditunjukkan oleh Fe^{3+} dan Zn^{2+} sampai pada konsentrasi 40mM, sedangkan pada konsentrasi lebih tinggi kedua ion menunjukkan efek inhibitor terhadap xilanase. Xilanase yang diisolasi dari *Trichoderma viride* masih stabil setelah diinkubasi pada temperatur 30, 50 dan 60°C selama 25 jam dengan aktivitas sisa masing-masing sebesar 54,14; 53,85 dan 59,02%. Pada temperatur 40°C, xilanase tetap stabil setelah diinkubasi selama 20 jam, dengan aktivitas sisa sebesar 56,95%, dan pada temperatur inkubasi 70°C xilanase stabil dalam kurun waktu lebih singkat, yaitu 15 jam dengan aktivitas sisa sebesar 48,08%.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, A. dan Nawfa R., 2009, **Amobilisasi Bromelin dengan Menggunakan Kitosan sebagai Matriks Pendukung**, *Prosiding Kimia FMIPA*, Surabaya.
- Beg, Q.K., Kapoor, M., Mahajan, L., Hoondal, G.S., 2001, **Microbial Xylanase and Their Industrial Applications : A Review**, *Appl Microbiol Biotechnol*, No. 56, Hal. 326-327, Department of Microbiology, University of Delhi South Campus, New Delhi
- Budiman, A., dan Setiawan S., 2010, **Pengaruh Konsentrasi Substrat, Lama Inkubasi dan pH dalam Proses Isolasi Enzim Xilanase dengan Menggunakan Media Jerami Padi**, <http://www.undip.ac.id/journal/albar-substrat.pdf>, diakses tanggal 25 september 2013
- Esawy, M. A., Mahmoud D. A. R. dan Fattah A. F. A., 2008, **Immobilisation of *Bacillus subtilis* NRC33a Levansucrase and Some Studies on Its Properties**, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, No. 2, Vol. 25, 237-246.
- Cao, L., 2005, **Carrier-Bound Immobilization Enzyme**, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinherm.
- Dashek, W.V., 1997, **Methods in Plant Biochemistry and Molecular Biology**, <http://www.en.wikipedia.org/wiki/xylanase>
- Djafaruddin, 2000, **Dasar-dasar Pengendalian Penyakit Tanaman**. Bumi Aksara. Jakarta
- Haltrich, D., Nidetzky, B., Kulbe, K.D., Steiner, W. and Zupaneic, S., 1996, Production of fungal xylanases, <http://www2.psu.ac.th/PresidentOffice/EduService/journal/27-2-pdf/10xylanase.pdf>
- Hoda M.A., Abdel D.A., Sherif, Arafat B.E., 2012, **Production of Xylanase by *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride* using Some Agriculture Residues**, docsdrive.com/pdfs/academicjournals/ijar/0000/38382-38382.pdf, diakses 19 September 2013
- Isil, S. and N. Aksoz, 2005, **Xylanase Production from *Trichoderma harzianum* 1073 D3 with Alternative Carbon and Nitrogen Sources**. *Brazilian Journal of Biology and Technology* 43(1) 37-40 (2005) UDC 582.282:577.152.321 ISSN 1330-9862,.
- Khandaparker, RDS and Bhosle NB, 2005, **Purification and Characterization of Thermoalkalophilic xylanase Isolated from *Enterobacter* sp MTCC 5112**, *Res. Microbiol.*
- Khandaparker, RDS and Bhosle NB, 2012, **Isolation, Purification and characterization of the xylanase produced by *Arthrobacter* sp MTCC 5214 when grown in Solid state fermentation**, National Institute of Oceanography, Goa
- Richana, N. dan Lestina, P. 2002, **Produksi Xilanase untuk Biokonversi Limbah Biji Kedelai**, Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Sax, N. I., dan Lewis, R. J., " *Hawley's : Condensed Chemical Dictionary* "12th ed, Van Norstand Reinhold Company, 1993
- Sutrisno, Roosdiana, Sasangka dan Safitri, 2011, **Isolasi Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Xilanase Termoalkalofilik dari *Bacillus* sp**, laporan Penelitian, Universitas Brawijaya
- Sutrisno dan Dianmaya, 2007, **Pengaruh induser ekstrak xilan dari limbah organik terhadap produksi xilanase oleh *Trichoderma viride***, laporan penelitian, Universitas Brawijaya

