

PRODUKSI ENZIM XYLANASE MELALUI SELEKTIFITAS MOISTENING AGENT SECARA FERMENTASI

S.P. Abrina Anggraini dan Fenni Suryanti

PS. Teknik Kimia, Fak. Teknik, Universitas Tribhuwana Tunggaladewi

Abstract

The environmental pollution is serious problems in the pulp and paper industry especially in lignin degradation process. Recently conventional bleaching process used toxic chemicals such as chlorine that is harm full for the environment. Therefore, an alternative technology, i.e enzyme technology that can reduce chlorine using is required. The goal of this project was to produce the best xylanase activity from *Aspergillus niger* using solid state fermentation method with wheat bran substrate in which several kind of moistening agent (MA) was selected and the effect of enzyme abilities to degradation hemicelluloses. The experimental result showed that the best xylanase activity was produced using wheat bran : MA ratio (w/v) 1:2, that is 3,1703 IU/ml and cellulase was found to be 1,5299 IU/ml after 4 days incubation with MA nitrogen organic salt solution. With the same variable, addition additive xylose give xylanase activity to be 3,856 IU/ml and cellulase is 1,614 IU/ml.

Key words : xylanase, selulase, *Aspergillus niger*, moistening agent

Pendahuluan

Salah satu kendala yang dihadapi dalam industri pulp dan kertas adalah masalah pencemaran lingkungan yang serius berkaitan dengan proses penghilangan kandungan lignin dalam bahan baku pulp dan kertas. Dalam proses pulping, lignin yang merupakan komponen pengikat serat di dalam kayu perlu dihilangkan sama sekali atau dikurangi sampai kadar tertentu, sehingga serat-serat kayu tersebut mudah dilepaskan. Proses pengurangan selama ini dengan menggunakan bahan-bahan kimia, seperti pada proses sulfat (*kraft pulp*). Pada proses ini sifat kekuatan lembaran pulp cukup tinggi tetapi biaya produksi juga tinggi karena adanya penggunaan bahan-bahan kimia dalam jumlah besar

dan mahal serta berpotensi besar menimbulkan adanya pencemaran (Lemos dan Pereira, 2000). Begitu juga pada proses pemutihan hasil pulp (*bleaching*) untuk mendapatkan hasil kertas yang baik juga masih banyak menggunakan bahan kimia pemutih seperti klor dan klorit yang berpotensi menimbulkan pencemaran yang tinggi terhadap manusia dan lingkungan hidup (Bajpai dan Bajpai, 1997).

Dengan semakin kuatnya tekanan masyarakat akan penggunaan teknologi ramah lingkungan maka perlu adanya teknologi alternatif pengganti akan penggunaan teknologi yang masih digunakan saat ini. Cara lain yang sedang dikembangkan sekarang ini yaitu proses penghilangan lignin dengan menggunakan cara biologi baik pada

proses pulping maupun pada proses bleaching. Proses pemutihan pulp secara biologi (*biobleaching*) menggunakan enzim xylanase, merupakan pendekatan baru yang menawarkan proses yang lebih ramah lingkungan dan kompatibel dengan proses pabrik yang ada di Indonesia. Artinya, mampu meminimalkan resiko pencemaran lingkungan yang sangat berat akibat pembuangan bahan-bahan kimia berbahaya dan beracun yang digunakan selama proses produksi (Viikari *et al.*, 1986).

Proses bleaching menggunakan klorin seperti yang umum dilakukan pada industri pembuatan kertas/pulping menimbulkan masalah pencemaran lingkungan yang serius. Aplikasi bioteknologi pada degradasi hemiselulosa, yang merupakan bahan perekat antara selulosa dan lignin, dengan menggunakan enzim xylanase memungkinkan dilakukannya proses delignifikasi yang ramah lingkungan yaitu tanpa menggunakan bahan-bahan kimia berbahaya.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam tiga tahap, yakni tahap persiapan, produksi enzim kasar (*crude enzyme*) dan analisa. Tahap persiapan merupakan pembiakan *Aspergillus niger* di dalam media agar miring. Tahap produksi enzim kasar adalah membuat suspensi jamur dari biakan *Aspergillus niger* pada media agar miring 80. Produksi *crude enzyme* xylanase dari jamur *A. niger* dilakukan dengan menginokulasikan biakan *A. niger* pada media padat steril berupa substrat dedak gandum yang telah dilembabkan (*moistened*) dengan beberapa jenis MA pada perbandingan konsentrasi tertentu. Tahap analisa meliputi analisa kadar

lignin, holoselulosa α -selulosa dan hemiselulosa.

Hasil dan Pembahasan

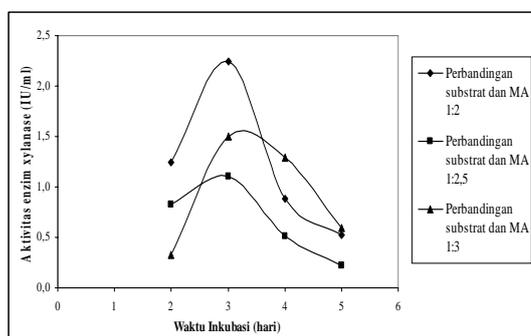
Nilai aktifitas enzim xylanase yang sesuai adalah untuk inkubasi hari ke-2, dimana aktifitas tertinggi diperoleh pada perbandingan konsentrasi rendah (Gambar 1).

Aktifitas tertinggi enzim xylanase untuk MA larutan garam+NO terjadi pada perbandingan 1:2 untuk waktu inkubasi 4 hari (Gambar 2). Penyimpangan terjadi pada waktu inkubasi 2 hari untuk perbandingan konsentrasi 1:2,5 dan 1:3; dimana aktifitasnya untuk perbandingan 1:2,5 lebih rendah dari 1:3 atau sebaliknya. Diduga karena spesifik larutan garam yang digunakan serta jamur *A. niger* strain 44 dibanding penelitian ini yang menggunakan strain jamur *A. niger* yang sudah mengalami beberapa kali pembiakan.

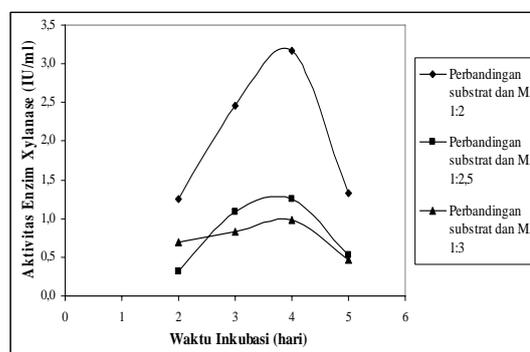
Crude enzyme xylanase dengan MA garam+NA mempunyai aktifitas tertinggi pada perbandingan 1:2,5 dengan waktu inkubasi 5 hari (Gambar 3). Disini terjadi beberapa penyimpangan pada perbandingan konsentrasi antara 1:2,5 dan 1:3, sama seperti sebelumnya yang disebabkan oleh kondisi kelembaban dari medium fermentasi dan unsur-unsur yang terkandung dalam nutrisi.

Pengaruh Waktu Inkubasi

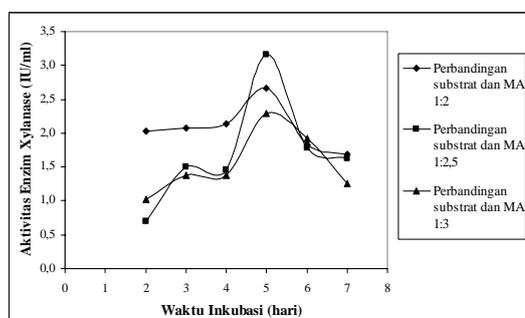
Fase pertumbuhan cepat jamur *A. niger* terjadi pada hari ke 3-4 sedangkan fase stasioner pada hari ke 5 dengan suhu pertumbuhan optimum jamur yaitu 35°C (Gambar 4), seperti yang dilaporkan Raimbault dan Alazard (1980). Hal ini juga didukung dengan jumlah spora 1.10^7 - 1.10^8 spora/ml serta ukuran substrat yaitu 40 mesh.



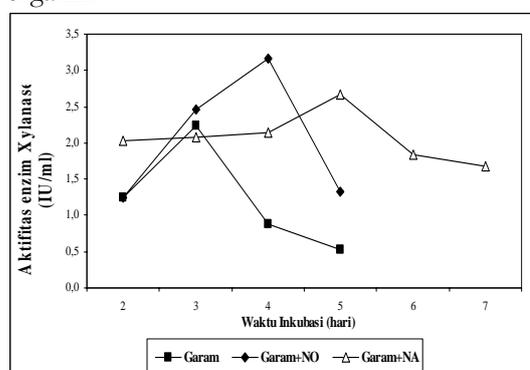
Gambar 1. Hubungan aktivitas enzim xylanase pada berbagai perbandingan terhadap waktu inkubasi untuk MA larutan garam.



Gambar 2. Hubungan aktivitas enzim xylanase pada berbagai perbandingan terhadap waktu inkubasi untuk MA larutan garam + nitrogen organik.



Gambar 3. Hubungan aktivitas enzim xylanase pada berbagai perbandingan terhadap waktu inkubasi untuk MA larutan garam + NA.



Gambar 4. Hubungan aktifitas *crude enzyme* xylanase pada perbandingan 1:2 terhadap waktu inkubasi pada berbagai jenis MA.

Pengaruh Perbandingan Konsentrasi (moisture level)

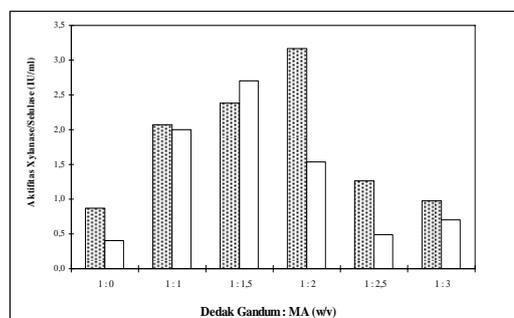
Pengaruh perbandingan konsentrasi yang disajikan pada Gambar 5 merupakan kondisi yang tepat bagi jamur untuk tumbuh pada keadaan kurang lembab, dimana air membentuk kompleks dengan solid matrik atau sebagai lapisan tipis yang teradsorpsi pada permukaan partikel sehingga substrat tidak mudah terkontaminasi dengan bakteri.

Pengaruh Efek Aditif

Dalam penelitian ini, untuk mengetahui efek aditif terhadap aktifitas enzim xylanase dilakukan kembali pembuatan

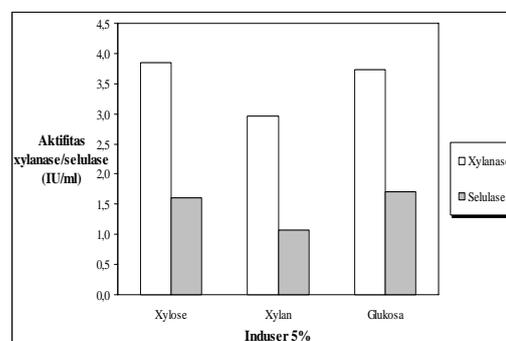
crude enzyme pada variabel dimana diperoleh aktifitas enzim xylanase tertinggi yaitu pada waktu inkubasi 4 hari untuk perbandingan 1:2 dengan MA larutan garam nitrogen organik. Penambahan aditif yaitu xylose, xylan dan glukosa sebesar 5% ditambahkan pada substrat dedak gandum. Gambar 6 menunjukkan bahwa aktifitas tertinggi enzim xylanase diperoleh pada penambahan aditif xylose yaitu sebesar 3,8558 IU/ml atau naik sebesar 22% dibanding tanpa penambahan. Sedangkan penambahan glukosa juga dapat menaikkan aktifitasnya sebesar 3,737 IU/ml. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penambahan xylose dapat lebih menstimulasi produksi

xylanase dibandingkan glukosa, ini berhubungan dengan aktifitas yang diperoleh dalam masa pertumbuhan pada medium dedak gandum serta



Gambar 5. Pengaruh aktifitas *crude enzyme* xylanase terhadap perbandingan konsentrasi antara dedak gandum dan MA larutan Garam + NO pada inkubasi 4 hari.

berhubungan dengan sintesa enzim oleh xylose dan glukosa dalam metabolisme gula (Lemos dan Pereira, 2000).



Gambar 6. Hubungan antara aktifitas xylanase terhadap inducer pada variabel perbandingan 1:2 dengan MA Garam+NO inkubasi 4 hari .

Selulase

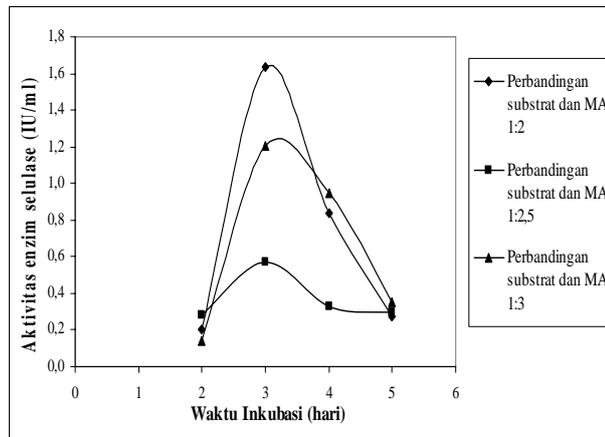
Perbandingan antara nilai aktifitas selulase terhadap enzim xylanase disajikan pada Gambar 7, 8 dan 9. Dketahui bahwa pada aktifitas tertinggi dari enzim xylanase diperoleh aktifitas enzim selulase bernilai rendah. Hal ini dikarenakan bahan yang digunakan sebagai media fermentasi merupakan substrat lignoselulosik yang banyak mengandung hemiselulosa, selulosa dan lignin. Selain itu jamur *Aspergillus niger* merupakan jamur yang spesifik dalam memproduksi enzim xylanase secara fermentasi media padat, dimana aktifitas selulase berada pada level terendah (Christov, 1996; Gawande dan Kamat, 1999).

Gambar 7 merupakan nilai aktifitas enzim selulase untuk nilai aktifitas xylanase pada Gambar 1 dimana ada beberapa penyimpangan nilai aktifitas, hal ini juga sama dengan yang terjadi pada enzim xylanase yaitu karena *crude*

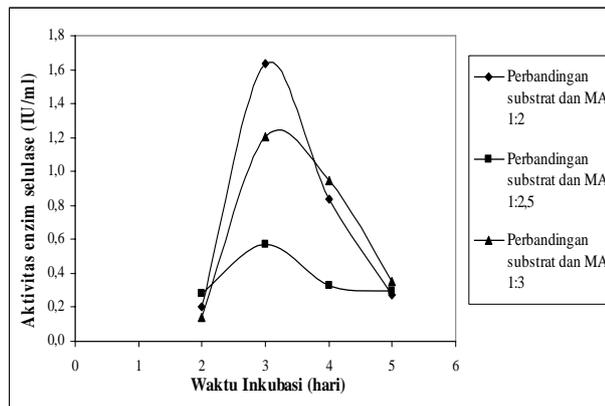
enzyme untuk pengujian adalah satu sehingga pengaruh kondisi kelembaban medium fermentasi maupun kandungan nutrisi yang ditambahkan merupakan faktor penentu.

Gambar 8. menunjukkan aktifitas selulase untuk larutan garam+NO Terlihat juga adanya beberapa penyimpangan nilai aktifitas seperti pada perbandingan 1:2,5 dan 1:3, tetapi nilai aktifitas selulase tidak ada yang bernilai melebihi aktifitas xylanase sehingga dapat disimpulkan bahwa hal ini tidak mempunyai pengaruh besar.

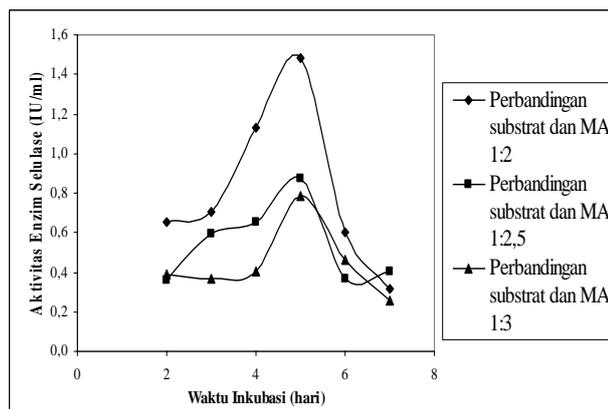
Gambar 9 menunjukkan aktifitas tertinggi dari enzim selulase rata-rata terjadi pada perbandingan 1:2 dengan nilai tertinggi 1,482 IU/ml dengan waktu inkubasi 5 hari walaupun terlihat ada beberapa penyimpangan nilai aktifitas tetapi besarnya tidak terlalu berpengaruh terhadap aktifitas enzim xylanase karena nilai aktifitas selulase diperoleh lebih rendah.



Gambar 7. Hubungan aktifitas enzim selulase pada berbagai perbandingan terhadap waktu inkubasi untuk MA larutan garam.



Gambar 8. Hubungan aktifitas enzim selulase pada berbagai perbandingan terhadap waktu inkubasi untuk MA larutan garam +NO.



Gambar 9. Hubungan aktifitas enzim selulase pada berbagai perbandingan terhadap waktu inkubasi untuk MA larutan garam+NA.

Konsentrasi protein pada penambahan aditif xylose diperoleh nilai tertinggi yaitu sebesar 9,7744 mg/ml (Tabel 1). Besarnya konsentrasi protein pada penambahan aditif tersebut, dikarenakan kemampuan dari mikroorganisme dalam mensintesis extracellular protein dan beberapa aditif tersebut dapat menstimulasi kemampuan enzim dalam menaikkan konsentrasi protein.

Tabel 1. Data konsentrasi protein pada penambahan aditif sebesar 5% terhadap substrat dedak gandum.

Aditif	Konsentrasi Protein (mg/ml)
Xylose	9,7744
Xylan	6,934
Glukosa	9,1896

Kesimpulan

Crude enzyme xylanase diproduksi oleh jamur *Aspergillus niger* secara fermentasi media padat (*solid state fermentation*) dengan aktifitas tertinggi diperoleh pada variabel waktu inkubasi 4 hari dengan *moistening agent* berupa larutan garam nitrogen organik untuk perbandingan 1:2 yaitu sebesar 3,1703 IU/ml dengan aktifitas enzim selulase sebesar 1,5299 IU/ml dan konsentrasi protein 1,0190 mg/ml. Pada variabel yang sama, penambahan aditif xylose dapat menaikkan aktifitas enzim xylanase sebesar 3,856 IU/ml dengan aktifitas enzim selulase 1,614 IU/ml dan konsentrasi protein sebesar 9,774 mg/ml.

Daftar Pustaka

- Bajpai, P., and Bajpai, P.K. 1997. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. eds: Springer-Verlag, Berlin. Vol.57, pp 213-259.
- Christov, L.P. 1996. *Impact of Xylanase and Fungal Pretreatment on Alkali Solubility and Brightness of Dissolving Pulp*. water de Gruyter, New York.
- Gawande, P. V dan Kamat, M. Y. 1999. *Production of Aspergillus xylanase by Lignocellulic Waste Fermentation and Its Application?*. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 87, hal. 511-519.
- Lemos, J.L.S., and Pereira, N. J. 2000. *Influence of Some Sugars on Xylanase Production by Aspergillus awamori in Solid State Fermentation*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, ISSN 1516-8913 version impresa.
- Raimbault, M. and Alazard, D. 1980. *Culture method to study fungal growth in solid fermentation*. *European Journal of Applied Microbiology* 9, pp.199-209.
- Viikari, L., Ranua, M., Kantelinen, A., Linko, M. and Sundquist, J. 1986. *Bleaching with enzymes*. *Proceeding of The Third International Conference on Biotechnology in The Pulp and Paper Industry*, Stockholm, pp. 67-69.