

EXECUTIVE SUMMARY

HIBAH BERSAING



**PRODUKSI DAN DETEKSI PREBIOTIK
XILOOLIGOSAKARIDA serta SELEKSI KAPABILITASNYA
DALAM MENINGKATKAN PERTUMBUHAN BAKTERI
PROBIOTIK *Bifidobacterium* sp.**

drh Wuryanti Handayani, M. Si
Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S. Si, M. Si

**UNIVERSITAS JEMBER
DESEMBER 2013**

ABSTRAK

Produksi dan Deteksi Prebiotik Xilooligosakarida serta Seleksi Kapabilitasnya dalam Meningkatkan Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Bifidobacterium* sp.

¹drh Wuryanti Handayani, M. Si, ²Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S. Si, M. Si
^{1,2} Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Sumber Dana : DIPA 2013 Universitas Jember

Pemenuhan kebutuhan gizi masyarakat sebagai program kebijakan pemerintah dapat dilakukan melalui fortifikasi gizi terhadap produk pangan yang ada. *Booming*-nya prebiotik sebagai suatu bahan pangan fungsional atau memiliki karakteristik menyehatkan merupakan angin segar bagi kebutuhan fortifikasi tersebut. Oleh karena itu telah selayaknya apabila dilakukan suatu pengembangan produksi terhadap salah satu prebiotik potensial, seperti xilooligosakarida. Sebagai suatu prebiotik berbasis biomassa xilan yang melimpah di Indonesia dan berdasarkan kemampuannya mengakselerasi pertumbuhan bakteri menguntungkan (*Bifidobacterium* sp.), maka alternatif suplementasi xilooligosakarida dengan tujuan fortifikasi ke dalam bahan pangan akan sangat menarik dan menguntungkan. Lebih jauh lagi, penelitian ini bersifat urgen untuk dilakukan terkait dengan pengembangan potensi prebiotik xilooligosakarida dan bakteri probiotik *Bifidobacterium* sp. dalam mencegah akumulasi kanker intestinal yang merupakan penyebab kematian nomor dua di dunia serta nomor tiga di Indonesia. Bahan pangan yang mengandung xilooligosakarida nantinya diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu asupan berprebiotik yang dapat meningkatkan kesehatan terutama pada saluran pencernaan. Upaya tersebut dapat diwujudkan melalui pemurnian xilooligosakarida yang diiringi deteksinya secara kualitatif (estimasi jenis atau komponen) dan kuantitatif (estimasi kadar). Disamping itu, analisis kapabilitas terhadap salah satu jenis xilooligosakarida dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri menguntungkan bagi saluran pencernaan (*Bifidobacteria* sp.) mutlak harus dilakukan. Dalam penelitian ini telah menguji koleksi isolat bakteri yaitu isolat bakteri 23A, yang masih menunjukkan eksistensinya sebagai endoxilanase yaitu enzim yang ditargetkan menghasilkan xilooligosakarida dari produk hidrolisis dengan substrat xilan oat. Aktivitas enzim endoxilanase yang dihasilkan sebesar 3.19×10^{-2} pada kondisi 40°C . Pemurnian enzim endoxilanase telah dilakukan dengan fraksinasi amonium sulfat dan dialisis. Produk xilooligosakarida sebagai produk hidrolisis endoxilanase dengan substrat dideteksi dengan analisis TLC. Hasil menunjukkan produk xilooligosakarida dari hidrolisis endoxilanase diduga dalam bentuk xilobiosa (spot yang dihasilkan dalam TLC dibawah standar xilosa), walaupun yang dihasilkan sangat tipis. Penelitian selanjutnya akan dilakukan optimalisasi produk xilooligosakarida dengan memvariasi konsentrasi enzim, waktu inkubasi dan bufer hidrolisis sehingga mendapatkan produk hidrolisis dengan konsentrasi yang lebih besar.

Kata Kunci : Endoxilanase, Oat spelt xilan, Xiloologosakarida, dan *Bifidobacterium* sp

PRODUKSI DAN DETEKSI PREBIOTIK XILOOLIGOSAKARIDA serta SELEKSI KAPABILITASNYA DALAM MENINGKATKAN PERTUMBUHAN BAKTERI PROBIOTIK *Bifidobacterium* sp.

¹drh Wuryanti Handayani, M. Si , ²Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S. Si, M. Si
^{1,2} Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

LATAR BELAKANG

Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor HK 00.05.52.0685 tentang Ketentuan Pokok Pengawasan Pangan Fungsional, menegaskan bahwa xilooligosakarida dikelompokkan sebagai bahan pangan fungsional (Badan POM, 2005) dan dapat pula digunakan dalam aspek kosmetika, produk-produk farmasi, hingga agrikultur. Meningkatnya kepentingan komersial terhadap oligosakarida ini terletak pada potensi dan karakteristik prebiotiknya, yang mampu meningkatkan pertumbuhan *Bifidobacterium* sp., dimana efek biologis pentingnya dapat menekan aktivitas bakteri intestinal patogen dan *enteroputrefactive* serta memfasilitasi absorpsi nutrisi. Sejumlah prebiotik sebenarnya telah dapat dikembangkan di Indonesia, salah satunya xilooligosakarida, mengingat Indonesia memiliki sumber biomassa xilan yang berlimpah, teknologi proses produksi yang layak untuk dikembangkan, serta megabiodiversitas mikroorganismenya.

Berdasarkan paparan tersebut maka pada penelitian ini telah dilakukan suatu preparasi xilooligosakarida yang memanfaatkan kemampuan akseleratif suatu enzim dalam mendekomposisi (menghidrolisis) biomassa xilan dari oat. Upaya tersebut dapat diwujudkan melalui pemurnian yang didahului dengan produksi sebagai upaya untuk memperoleh material xilooligosakarida yang bebas dari interferensi produk reaksi enzimatik lainnya. Lebih jauh keberhasilan penelitian ini akan menjadi parameter untuk dikembangkannya produk-produk pangan berprebiotik yang dapat dikonsumsi oleh seluruh lapisan masyarakat.

TUJUAN PENELITIAN

Mengungkap segi kualitatif (jenis atau komponen penyusun) maupun kuantitatif (kadar atau prosentase kelimpahan) xilooligosakarida hasil pemurnian secara kromatografi kolom melalui deteksi dengan kromatografi lapis tipis (KLT)

Xilooligosakarida sebagai prebiotik yang diproduksi dari produk hidrolisis endoxilanase untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik *Bifidobacterium* sp yang menguntungkan bagi kesehatan. Selain itu penelitian ini dapat mengungkap komponen xilooligosakarida yang lebih berperan sebagai prebiotik

METODE PENELITIAN

Peremajaan Bakteri Pensekresi *endo-β-1,4-D-Xilanase*

Koloni tunggal koleksi bakteri pensekresi *endo-β-1,4-D-Xilanase* diambil dengan ose steril dan ditumbuhkan pada media padat media Luria Bertani (LB). Selanjutnya diinkubasi pada 37 °C selama 16–18 jam.

Isolasi *endo-β-1,4-D-Xilanase*

Media inokulum merupakan media cair Luria Bertani (LB). Inokulum dibuat dengan menginokulasikan biakan bakteri yang mengandung *endo-β-1,4-D-xilanase* ke dalam 10 mL media inokulum. Biakan di inokulasi pada temperatur 37 °C dengan kecepatan 150 rpm selama ±16–18 jam. Satu persen biakan inokulum dimasukkan ke dalam 250 mL media produksi. Sel dipanen setelah waktu inkubasi berakhir selama ±16–18 jam, dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 15.000×g selama 10 menit pada 4 °C. Enzim *endo-β-1,4-D-Xilanase* diperoleh dalam supernatan.

Penentuan Aktivitas Enzim *endo-β-1,4-D-Xilanase*

Aktivitas enzim *endo-β-1,4-D-xilanase* ditentukan berdasarkan konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan (Miller, 1959; Sripo *et al.*, 1997).

Hidrolisis Enzimatis Xilan Berbasis Waktu Inkubasi dan Kadar Xilan (Produksi Xilooligosakarida)

Hidrolisis xilan dilakukan dengan menggunakan kondisi optimum hidrolisis yang meliputi waktu inkubasi (waktu hidrolisis) dan kadar xilan (substrat yang akan dihidrolisis oleh enzim *endo-β-1,4-D-xilanase*). Waktu

inkubasi adalah waktu yang dibutuhkan enzim *endo-β-1,4-D-xilanase* (dengan aktivitas X U.ml⁻¹ dan pada pH serta temperatur optimum) untuk menghidrolisis xilan (dengan kadar Y% b.V⁻¹) dan menghasilkan xilooligosakarida serta sedikit xilosa.

Pemurnian Produk Hidrolisat Enzimatis Xilan (Xilooligosakarida)

Suspensi hidrolisat enzimatis xilan terlebih dahulu ditambahkan larutan asam trikloroasetat untuk mengendapkan protein yang selanjutnya dapat dipisahkan melalui sentrifugasi (Choi *et al.*, 2006). Hidrolisat selanjutnya dialirkan ke dalam kolom kromatografi yang telah berisi matriks permeasi gel (Sephadex[®]G-25) dengan pengelusi ammonium asetat 0,15 M yang mengandung propanol 7,0% (V.V⁻¹) (Louch and Miller, 2001). Xilooligosakarida kemudian dipisahkan dari komponen hidrolisat lainnya melalui penggunaan kromatografi permeasi gel berbasis matriks Bio-Gel P dan Toyopearl HW-40F dengan aqua-demineralisasi sebagai pengelusi (Sun *et al.*, 2002).

Deteksi Produk Pemurnian Hidrolisat Enzimatis Xilan (Xilooligosakarida Hasil Pemurnian)

Hidrolisat atau produk-produk hidrolisis xilan termasuk xilooligosakarida (derajat polimerisasi 2 hingga 8) dideteksi secara kromatografi melalui penggunaan kromatografi lapis tipis atau KLT (*thin-layer chromatography*, TLC)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Xilooligosakarida (XOs) adalah gula oligomer yang diproduksi dari hidrolisis xilan. Xilan merupakan komponen mayor dari hemiselulosa dalam tumbuhan. Sejak xilooligosakarida mengefektifkan host dengan menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas pada bakteri yang jumlahnya sedikit dalam kolon dan meningkatkan kesehatan, xilooligosakarida digunakan sebagai prebiotik yang sangat penting ingredient of functional food. Di samping itu xilooligosakarida mempunyai variasi fisiologikal penting seperti (a) mereduksi level kolesterol (b) Memelihara kesehatan gastrointestinal (c) meningkatkan ketersediaan calsium (d) mereduksi kanker kolon.

Komposisi dan struktur xilooligosakarida tergantung sumber dan proses produksi. Xilooligosakarida dapat disediakan dari autohidrolisis dari biomassa lignoselulosa atau dapat disiapkan dari parsial asam atau hidrolisis enzimatis xilan dari material hemiselulosa seperti birchwood, beechwood, corncob dan oat spelt. Xilooligosakarida merupakan salah satu prebiotik yang dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik seperti bakterium *Bifidobacterium spp.*

Dalam penelitian ini Xilooligoakarida diperoleh dari aktivitas endoxilanase yang bersumber dari *Basillus sp* dalam abdominal rayap. Enzim endoxilanase yang digunakan bersumber dari isolat bakteri koleksi yang diperoleh dari penelitian sebelumnya (Ratnadewi *et.al.*, 2006).

Dalam pembahasan ini akan dibahas mengenai pengujian kapabilitas isolat bakteri yang mampu menghasilkan enzim endoxilanase dengan menguji aktivitas enzim. Pengujian ini melalui tahapan produksi dan purifikasi enzim. Selanjutnya menguji xilooligosakarida sebagai produk hidrolisis enzim endoxilanase melalui TLC.

Analisis aktivitas enzim endoxilanase diawali dengan memproduksi enzim yaitu dengan koleksi isolat bakteri 23A asal mikroorganisme abdominal rayap ditumbuhkan pada media padat Luria Bertani (LB) dan dilanjutkan dengan inokulasi bakteri dengan pada media LB cair dengan penambahan substrat xilan oat sebagai induser enzim. Selanjutnya 1 % inokulum bakteri di masukkan dalam media produksi (Media LB) kemudian di *shaking* selama 16 jam pada suhu ruang. Enzim di isolasi dari media produksi, supernatan yang dihasilkan merupakan enzim ekstrak kasar endo β -1,4-D- xilanase.

Pengukuran aktivitas endoxilanase pada isolat bakteri 23A menggunakan substrat xilan oat sebesar $1,2 \times 10^{-1}$ (U/ml). Perhitungan konsentrasi xilosa yang dilepaskan menggunakan standar xilosa terlampir. Kontrol yang digunakan enzim non aktif, diperlakukan sama dengan kondisi di atas. Pengukuran aktivitas dengan menggunakan perhitungan sebagai berikut

$$\text{Aktivitas (U/ml)} = \frac{(\text{Konst}_{\text{Sampel}} - \text{Konst}_{\text{Kontrol}}) \times 50 \times (V_{\text{total}}/V_{\text{enzim}})}{\text{Waktu} \times \text{BM}_{\text{xilosa}}}$$

Pengujian aktivitas endoxilase terhadap substrat spesifik alami seperti xilan oat, ditentukan secara spektrofotometri berdasarkan kadar gula reduksi yang dihasilkan (Miller, 1959). Gula reduksi yang dihasilkan ekuivalen dengan xilosa yang terbentuk dari reaksi hidrolisis substrat. Eksistensi xilosa sebagai produk reaksi yang merupakan parameter kapabilitas endoxilase terhadap berbagai substrat spesifik

Metode spektrofotometri untuk analisis kimia kuantitatif dipengaruhi oleh reaksi antara sampel dengan pereaksi yang sesuai agar terbentuk produk berwarna yang terkuantisasi. Pada penelitian ini DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat) digunakan sebagai pereaksi uji untuk penentuan xilosa, dimana intensitas warna yang dihasilkan dari reduksi DNS adalah berbanding lurus dengan kadar xilosa atau arabinosa yang terbentuk. Dasar penentuan ini adalah reduksi DNS yang berwarna kuning menjadi ANS (asam 3-amino-5-nitrosalisilat) yang berwarna coklat tua oleh xilosa (Baum *et al.*, 1981). Tahap penentuan aktivitas endoxilase diawali dengan proses inkubasi dengan substrat pada temperatur optimum (40 °C) selama 30 menit diukur pada panjang gelombang 550 nm.

Pengukuran aktivitas enzim endoxilase asal isolat bakteri yaitu isolat bakteri 23A masih menunjukkan aktivitas endoxilase. Satu Unit Aktifitas (U/ml) didefinisikan sebagai jumlah enzim endoxilase yang dapat menghasilkan mMol xilosa dalam waktu 60 menit inkubasi pada kondisi suhu 40 °C

Pemurnian endoxilase dilakukan beberapa tahapan yaitu fraksinasi ammonium sulfat dan dialisis. Ekstrak kasar enzim endoxilase merupakan campuran dari beberapa enzim atau protein sejenis dan biomolekul sel lainnya serta media kultur yang tidak terendapkan pada proses sentrifugasi sehingga perlu dilakukan pemurnian parsial terhadap ekstrak kasar enzim tersebut. Pemurnian parsial yang dilakukan pertama kali pada ekstrak kasar enzim ini adalah fraksinasi dengan ammonium sulfat (NH₄)₂SO₄. Fraksinasi adalah presipitasi ekstrak kasar enzim menggunakan ammonium sulfat jenuh. Presipitasi (pengendapan) ini merupakan tahap pemurnian parsial yang pada dasarnya menurut Englard and Seifter (1990) bertujuan agar enzim yang terdapat dalam ekstrak kasar terendapkan.

Untuk mengetahui tingkat kejenuhan ammonium sulfat pada saat enzim xilanase diendapkan dari ekstrak kasar dan memiliki aktivitas yang optimum maka perlu dilakukan optimasi. Fraksinasi ammonium sulfat yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. jenuh. Penambahan ammonium sulfat dapat menarik molekul air yang pada awalnya mensolvasi pada permukaan protein enzim sehingga residu hidrofob pada permukaan protein terekspose dan menyebabkan protein mengendap (Scopes,1982). Hal ini terjadi karena penambahan suatu garam (ammonium sulfat) dapat memperlemah ikatan hidrogen antara protein dengan air. Semakin tinggi jumlah garam, maka jumlah ikatan hidrogen protein dengan air akan semakin kecil, dan akibatnya konsentrasi larutan protein dalam air semakin kecil. Proses ini lebih dikenal dengan sebutan *salting-out*. Ammonium sulfat lebih dipilih sebagai garam yang digunakan karena memiliki kelarutan dan daya pengendapan yang tinggi, memiliki panas pelarutan yang rendah dan fleksibilitas pH serta tidak akan mempengaruhi bentuk dan fungsi enzim (Winarno, 1995). Ammonium sulfat adalah garam bervalensi dua dengan kekuatan ion yang lebih besar dari garam bervalensi satu (Scopes, 1982).

Presipitasi ammonium sulfat dilakukan dengan menambahkan sedikit demi sedikit amonium sulfat yang telah dihaluskan ke dalam campuran enzim disertai dengan pengadukan dengan magnetik bar (batang magnetik). Penambahan dengan cara demikian akan mengurangi ketersediaan air yang berinteraksi dengan protein. Pengadukan dengan kecepatan yang rendah dan konstan akan menghindari terbentuknya busa, yang menandakan bahwa enzim telah terdenaturasi. Pengadukan ini bertujuan untuk meratakan preparasi agar terhindar dari akumulasi elektrolit pada satu tempat dan untuk meningkatkan kontak antara ammonium sulfat dengan air sehingga akan terjadi pengendapan protein atau enzim dalam sampel.

Dalam penelitian ini diperoleh menunjukkan fraksi 60% ammonium sulfat merupakan fraksi enzim endoxilanase karena mampu meningkatkan aktivitas crude endoxilanase dari isolat 23A bakteri sistem abdomen rayap. Berdasarkan uraian diatas konsentrasi ammonium sulfat sebesar 60% diketahui mampu

menghasilkan protein enzim endoxilanase dengan aktivitas yang ditunjukkan seperti Tabel 1.

Enzim endoxilanase hasil presipitasi ammonium sulfat (*salting-out*) diprediksikan masih banyak mengandung garam ammonium sulfat, molekul-molekul higroskopis atau partikel-partikel kecil lainnya, sehingga pada tahap ini dilakukan proses dialisis. Dialisis berfungsi untuk mengeluarkan ammonium sulfat, molekul-molekul higroskopis dan partikel-partikel kecil yang berinteraksi secara fisik dalam larutan protein enzim yang dapat menurunkan aktivitas enzim *endo- β -1,4-D-xilanase*.

Tahap dialisis dilakukan pada temperatur 4⁰C dengan tujuan untuk mengantisipasi adanya aktivitas protease yang mungkin ada. Aktivitas protease mapu merusak struktur protein enzim dan akhirnya dapat menurunkan aktivitas katalitiknya. Pellet hasil fraksi 60% yang telah diresuspensi ke dalam buffer dimasukkan ke dalam kantung dialisis. Larutan enzim dalam kantung dialisis dimasukkan dalam wadah berisi buffer yang sudah siap diekuilibrasi (diaduk) dengan pengaduk magnetik.

Selama kurang lebih 24 jam dilakukan pengadukan dalam larutan buffer dan penggantian larutan buffer setiap selang dua jam hingga tercapai kesetimbangan konsentrasi antara larutan enzim (dalam kantung dialisis) dengan larutan buffer (larutan di luar kantung dialisis). Pada kondisi ini konsentrasi zat terlarut akan sama baik di luar maupun di dalam kantung dialisis. Hal ini dikarenakan pada awal dialisis terjadi gradien konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam kantung dialisis, sehingga kedua larutan ini akan mengalami kesetimbangan melalui proses difusi mikromolekul melalui membran *semipermeable*. Semua molekul dalam kantung dialisis yang ukurannya lebih kecil dari pori membran *semipermeable* akan bergerak atau berdifusi menuju daerah yang berkonsentrasi rendah. Dalam hal ini molekul yang mengalami difusi adalah garam ammonium sulfat, molekul higroskopis dan partikel-partikel kecil lainnya yang mungkin terdapat dalam larutan enzim.

Pergantian larutan buffer dilakukan untuk mengantisipasi masih adanya molekul-molekul pengotor dalam larutan enzim. Melalui upaya pergantian ini diharapkan molekul kecil tersebut akan berdifusi menuju larutan buffer yang telah

diganti, sebagai akibat dari penurunan konsentrasi zat terlarut. Selama proses dialisis larutan buffer selalu diaduk menggunakan magnetik bar dengan tujuan menghindarkan terjadinya peningkatan konsentrasi ditempat tertentu saja. Enzim hasil dialisis selanjutnya diukur aktivitas dan kadar proteinnya seperti yang diberikan pada Tabel 1

Tabel 1. Aktivitas endoxilanase

Sampel	Aktivitas (U/ml)	Aktivitas spesifik (U/mg)
Ekstrak enzim	0.120	0.328
Enzim fraksi 60%	0.164	0.81
Dialisat enzim	0.221	0.83

Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa tahap dialisis mempunyai peranan yang cukup penting dalam pemurnian suspensi pellet enzim endoxilanase. Hal ini tampak dengan meningkatnya tingkat kemurnian daripada ekstrak kasarnya. Hal ini terjadi karena dalam proses dialisis terjadi difusi mikromolekul termasuk peptida sehingga kadar protein totalnya semakin rendah. Akibatnya aktivitas spesifik enzim endoxilanase akan semakin meningkat. Meningkatnya aktivitas spesifik ini sesuai dengan harapan yaitu semakin murni suatu protein maka aktivitasnya akan semakin tinggi.

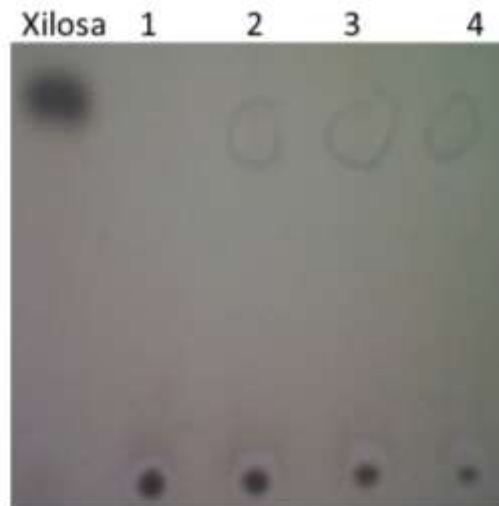
Proses hidrolisis dalam penelitian ini menggunakan substrat xilan oat. Xilan adalah polisakarida linear yang terdiri dari β -D-(1 \rightarrow 4) xilopiranosida sebagai tulang punggung, dan beberapa variasi gugus fungsional seperti (1 \rightarrow 2)- dan atau (1 \rightarrow 3)- α -L-arabinofuranosidase, (1 \rightarrow 2)- α -D-asam glukoronik, dan O-2- dan atau O-3- group asetil yang terikat pada tulang punggung. Tipe dan jenis gugus fungsional yang terikat pada xilopiranosida sebagai tulang punggung tergantung pada sumber xilan (Biely, 2003; Saha, 2003; Shallom et al., 2003).

Dalam proses hidrolisis dengan memvariasi perbandingan jumlah enzim dan substrat dengan memvariasi masa waktu inkubasi. Pada penelitian ini menggunakan perbandingan yang sama antara jumlah enzim dan substrat dengan waktu inkubasi 5 jam dan 20 jam. Pemberian masa waktu inkubasi memberikan kesempatan enzim endoxilanase untuk menghidrolisis xilan oat untuk menghasilkan xilooligosakrida.

Hidrolisis xilan dapat dilakukan oleh enzim endoxilanase (xilanase, endoxilanase), suatu *O*-glikosida hidrolase yang mengkatalisis hidrolisis ikatan glikosida β -1,4 internal *D*-xilan menghasilkan β -anomerik xiloöligosakarida (Collins *et al.*, 2005; Jänis *et al.*, 2005). Berkenaan dengan mode aksinya yang bersifat *endo*, maka pemotongan ikatan-ikatan substrat oleh xilanase berlokasi sepanjang proteinnya dan dapat mengakomodasi 4-7 residu xilosa (Pell *et al.*, 2004).

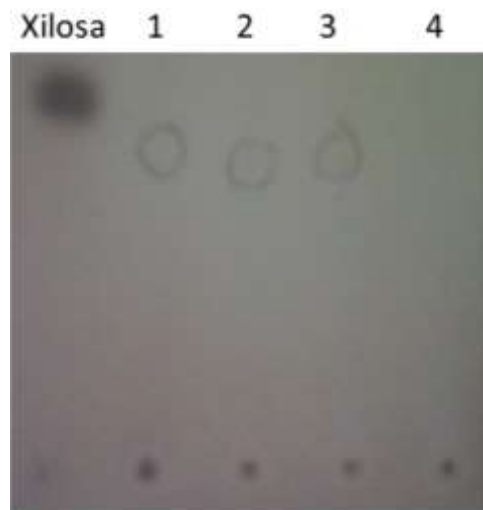
Pengujian xilooligosakarida sebagai produk hidrolisis enzim, pada tahap awal digunakan ekstrak kasar endoxilanase dengan substrat xilan oat. Tahapan ini dilakukan dengan bervariasi enzim – substrat dengan inkubasi 5 jam dan 20 jam, hasil ditunjukkan pada Gambar 2 dan 3.

Pada hasil TLC menampakkan produk hidrolisis dari ekstrak kasar endoxilanase masih diduga dalam bentuk xilobiosa, yang ditunjukkan spot dibawah standar xilosa. Spot yang dihasilkan tipis, menunjukkan produk hidrolisis sangat kecil. Pada waktu inkubasi 5 jam, masih adanya sisa substrat xilan oat yang ditunjukkan oleh adanya spot awal yang masih tebal. Namun pada saat waktu inkubasi di tingkatkan sampai 20 jam, spot awal nampak lebih tipis, hal ini menunjukkan tidak adanya sisa substrat, yang artinya semua substrat telah habis bereaksi dengan endoxilanase seperti yang ditunjukkan pada gambar 3



Gambar 2 Produk Hidrolisis xilan oat oleh endoxilanase dalam waktu inkubasi 5 jam, dengan standar xilosa, line (1) variasi Enzim : Substrat; Bufer (3 mL : 3 mL : 4 ml), line (2) variasi Enzim :

Substrat; Bufer (5 mL : 5 mL: 0 mL), (3) variasi Enzim :
Substrat; Bufer (10 mL : 5 mL : 0 mL), (4) variasi Enzim :
Substrat; Bufer (15 mL : 5 mL : 0 mL)



Gambar 3. Produk Hidrolisis xilan oat oleh endoxilanase dalam waktu inkubasi 20 jam, dengan standar xilosa, line (1) variasi Enzim : Substrat; Bufer (3 mL : 3 mL : 4 ml), line (2) variasi Enzim : Substrat; Bufer (5 mL : 5 mL: 0 mL), (3) variasi Enzim : Substrat; Bufer (10 mL : 5 mL : 0 mL), (4) variasi Enzim : Substrat; Bufer (15 mL : 5 mL : 0 mL)

KESIMPULAN

1. Endosilanase asal koleksi isolat bakteri dalam abdominal rayap masih menunjukkan adanya aktifitas enzim
2. Hasil aktifitas spesifik berturut-turut dari ekstrak kasar, fraksi 60% dan dialisis sebagai berikut : 0.328 U/mg, 0.81 U/mg dan 0.83 U/mg.
3. Produk Hidrolisis endoxilanase menghasilkan xilooligosakarida dalam derajat polimerasi xilobiosa.

Kata Kunci : Endoxilanase, Xilooligosakarida dan Produk Hidrolisis