

Deteksi Kandungan Xilan Dari Ampas Kedelai Dan Reaktivitas-Nya Terhadap *Endo-β-1,4-Xilanase*

Wardatul B., A. A. I. Ratnadewi*, Agung Budi S., Wuryanti H., dan Ika Oktavianawati

Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember

**Email : dewi_pjw2003yahoo.com*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi xilan dari ampas kedelai dan untuk mengetahui xilan yang dihasilkan dapat digunakan sebagai substrat untuk enzim endo-β-1,4-xilanase. Dalam penelitian ini, ada dua metode yang digunakan untuk mengekstraksi xilan. Metode pertama, ampas kedelai yang digunakan dipretreatment dengan penghilangan lipid dan pengurangan protein (deproteinasi) terlebih dahulu. Selanjutnya, ampas kedelai ditreatment dengan menggunakan NaOH 4, 8, dan 12% pada suhu kamar selama 24 jam. Xilan yang dihasilkan sebesar 0,4; 2,1; dan 6,7%. Metode kedua, ampas kedelai ditreatment dengan menggunakan NaOH 4, 8, dan 12% pada suhu kamar selama 24 jam dihasilkan xilan sebesar 2,8; 3,0; dan 11,8%. Fraksi xilan yang dihasilkan dari kedua metode dihidrolisis dengan menggunakan enzim endo-β-1,4-xilanase. Hasil hidrolisis diuji dengan metode DNS, total gula reduksi yang dihasilkan sebesar 0,140 mg/mL (metode pertama) dan 0,118 mg/mL (metode kedua). Berdasarkan hasil penelitian ini, ampas kedelai bisa digunakan sebagai sumber xilan dan xilan yang diisolasi dapat digunakan sebagai substrat untuk enzim endo-β-1,4-xilanase.

Kata Kunci : ampas kedelai, ekstraksi, xilan, xilanase

PENDAHULUAN

Ampas kedelai adalah produk samping yang dihasilkan dari proses pengolahan tahu dan susu kedelai. Sebagian besar ampas kedelai hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak atau dibuang dan dibakar, padahal ampas kedelai masih mengandung nutrisi yang baik dan masih berguna. Menurut Mateos *et al.*, (2010), dalam 100 g ampas kedelai kering terdapat sekitar 33,4 g protein, 8,5 g lemak, 54,3 g serat, 3,9 g karbohidrat, dan 3,7 g abu.

Ampas kedelai juga mengandung beberapa polisakarida seperti galaktan, arabinan, arabinogalaktan, xilolakturonan, xiloglukan, xilan dan selulosa (Li Bo *et al.*, 2012). Hemiselulosa yang terkandung pada ampas kedelai sebesar 10% (Matsuo, 2004). Xilan adalah hemiselulosa yang merupakan polimer dari pentosa (xilosa) dengan ikatan β-1,4 yang jumlah monomernya berkisar antara 150-200 unit (Sunna dan Antranikian, 1997; Richana *et al.*, 2007). Rantai utama xilan terdiri atas kerangka yang mengandung unit-unit ikatan glikosida β-1,4-D-xilopiranosida (Richana *et al.*, 2002). Xilan merupakan substrat dari enzim endo-β-1,4-xilanase (Collins *et al.*, 2005).

Xilanase merupakan kelompok enzim yang mampu menghidrolisis xilan dan xilo-oligosakarida. Xilanase umumnya merupakan protein kecil yang memiliki berat molekul 15.000-30.000 Dalton dan aktif pada suhu 55° C dengan pH 9 (Yang *et al.*, 1988). Berdasarkan substrat yang dihidrolisis, xilanase dapat diklasifikasikan menjadi β-xilosidase, eksoxilanase, dan endoxilanase. Endoxilanase adalah enzim yang memiliki kemampuan memutus ikatan glikosida dengan posisi β→1,4 pada rantai utama xilan untuk menghasilkan xilooligosakarida (Richana *et al.*, 2002).

Ekstraksi xilan pada limbah pertanian telah dilakukan oleh Richana *et al.* (2007) dengan memodifikasi metode dari Yoshida *et al.* (1994). Richana berhasil mengekstraksi xilan dari limbah tongkol jagung. Xilan yang dihasilkan, diuji menggunakan kromatografi cairan kinerja tinggi dengan hasil xilan tertinggi sebesar 12,95%. Ekstraksi xilan dari limbah tongkol jagung juga telah dilakukan oleh Anggraeni (2003) dengan menggunakan metode ekstraksi netralisasi dan asidifikasi. Berdasarkan uji kualitatif dengan menggunakan ZnCl₂ dan I₂, diketahui bahwa xilan hasil metode asidifikasi memiliki kemurnian lebih tinggi dibanding xilan metode netralisasi. Hal ini dapat dilihat dari kuatnya warna biru yang terbentuk pada reaksi warna. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi xilan dari ampas kedelai dan untuk mengetahui reaktivitasnya terhadap enzim endo-β-1,4-xilanase.

METODE PENELITIAN

Bahan

Ampas kedelai, xilosa (Japan), etanol (E-Merck), NaOH (E-Merck), HCl (E-Merck), Na₂HPO₄ (E-Merck), asam sitrat (E-Merck), KNaTartrat (E-Merck), asam 3,5-dinitrosalisilat (E-Merck), fenol (E-Merck), Na₂SO₃ (E-Merck), n-heksan (E-Merck).

Metode

Ekstraksi Lipid pada Ampas Kedelai

Sebanyak 5 gram sampel ditempatkan ke dalam labu alas bulat dan dimasukkan 25 mL n-heksana kedalam labu alas bulat. Sampel direfluks pada suhu 60 °C selama 2 jam dan diaduk. Setelah 2 jam, campuran sampel didekantasi dan sampel dikeringkan sampai

berat sampel konstan. Sedangkan campuran minyak dan pelarut dievaporasi pada suhu 40 °C sampai berat konstan. Persentase lipid dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Ekstraksi Xilan} = \frac{\text{berat kering xilan yang diekstraksi (g)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\%$$

Keterangan:

Wa : Berat sampel awal
Wb : Berat Sampel Akhir
(Ozioko, 2012).

Penghilangan Protein (Deproteinasi) pada Ampas Kedelai

Sampel (yang telah dipisahkan minyaknya) sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam beaker gelas 100 mL dan dicampur dengan NaOH 1 M dengan perbandingan 1:10 (sampel:pelarut). Campuran sampel dipanaskan pada suhu 70 °C selama 2 jam dan dilakukan pengadukan terus-menerus. Kemudian disaring untuk memisahkan antara residu dengan filtrat. Selanjutnya, residu dicuci dengan akuades hingga pH netral (Naznin, 2005).

Ekstraksi Xilan pada Ampas Kedelai

Sebanyak 10 gram sampel dimasukkan ke dalam beaker gelas 250 mL dan dicampur dengan NaOH 4; 8; dan 12% dengan perbandingan 1:10 (sampel:pelarut) selama 24 jam pada suhu kamar. Selanjutnya, campuran sampel *dibuchner* untuk memisahkan residu dan filtrat. Filtrat yang dihasilkan ditampung dan dinetralkan pH-nya dengan menggunakan HCl 6 M. Larutan (dengan pH netral) disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit dan endapan dipisahkan dari supernatannya. Kemudian supernatan ditambahkan etanol 95 % dengan perbandingan 1:3 (supernatan:etanol). Campuran sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Endapan yang diperoleh dikeringkan pada suhu 65 °C sampai berat konstan.

Persentase xilan bisa dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Ekstraksi Xilan} = x \times 100$$

Keterangan:

W_{EX} : Berat sampel awal
W_S : Berat Sampel Akhir
(Samanta *et al.*, 2013).

Penentuan Total Gula Pereduksi (Uji DNS)

Substrat sebanyak 0,1 gram dilarutkan ke dalam 10 mL buffer fosfat sitrat pH 5. Larutan substrat 1% (b/v) diambil sebanyak 125 µl dan dimasukkan ke dalam *eppendorf*. Selanjutnya, ke dalam *eppendorf* dimasukkan enzim endo-β-1,4-xilanase sebanyak 125 µl. Campuran enzim dan substrat diinkubasi selama 16 jam pada suhu 40 °C. Selanjutnya campuran enzim dan substrat ditambahkan larutan DNS sebanyak 750 µl, campuran dipanaskan pada suhu 100 °C dalam *water bath* selama 15 menit dan didinginkan dalam es selama 20 menit. Warna yang timbul dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm. Absorbansi yang dihasilkan dimasukkan ke dalam persamaan regresi kurva standar xilosa untuk mengetahui total gula reduksinya (Miller, 1959; Ratnadewi *et al.*, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Lemak pada Ampas Kedelai

Lemak yang terdapat didalam ampas kedelai diekstraksi dengan menggunakan pelarut n-heksan. Lemak yang berhasil diekstraksi sebesar 11%, mendekati hasil penelitian yang dilaporkan oleh Rashad *et al.* (2011) sebesar 12%. Lemak bisa diekstraksi menggunakan pelarut non polar seperti n-heksan, hal ini dikarenakan lemak merupakan senyawa non polar yang hanya bisa larut dalam pelarut non polar.

Tabel 1. Penentuan Persentase Lipid yang Diekstrak

Penentuan	Hasil (g)
Berat sampel awal	5
Berat sampel akhir	4,40
Persentase lipid yang diekstrak	11%

Tabel 2. Persentase Hasil Ekstraksi Xilan

%NaOH	% Xilan yang Diekstrak	
	Metode Pertama	Metode Kedua
4	0,4	2,8
8	2,1	3,0
12	6,7	11,8

Tabel 3. Total Gula Pereduksi

Total gula pereduksi (metode pertama)	0,140 mg/mL
Total gula pereduksi (metode kedua)	0,118 mg/mL

Penghilangan Protein (Deproteinasi) pada Ampas Kedelai

Ampas kedelai yang telah diekstraksi lemaknya, dideproteinasi menggunakan NaOH 1M dengan perbandingan 1:10 (w/v). Proses deproteinasi menyebabkan protein yang terkandung didalam ampas kedelai akan terekstrak menjadi Na-proteinat, residu yang diperoleh dicuci dengan akuades sampai pH netral. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan NaOH yang masih tersisa dalam residu.

Ekstraksi Xilan pada Ampas Kedelai

Ekstraksi xilan pada ampas kedelai dilakukan dengan merendam xilan dengan pelarut NaOH selama 24 jam. Larutan alkali seperti NaOH lebih sering digunakan untuk mengekstraksi xilan karena kemampuannya untuk memisahkan hemiselulosa melalui hidrolisis ikatan ester dengan mengembungkan (*swelling*) selulosa dan menurunkan struktur kristalin dari selulosa. Ion hidroksil dari larutan NaOH menyebabkan pembengkakan (*swelling*) pada selulosa, menghidrolisis ikatan ester, dan memutus ikatan hidrogen antara selulosa dan hemiselulosa yang mengarah pada ekstraksi xilan pada ampas kedelai (Samanta *et al.*, 2013).

Ada dua metode yang digunakan untuk mengekstraksi xilan pada ampas kedelai. Pada metode pertama dilakukan pretreatment penghilangan lemak dan protein yang terkandung dalam ampas kedelai. Selanjutnya, Ampas kedelai direndam dengan pelarut NaOH dengan variasi konsentrasi 4, 8, dan 12% menghasilkan persen ekstraksi sebesar 0,4; 2,1; dan 6,7%. Sedangkan pada metode kedua, ampas kedelai direndam dengan pelarut NaOH dengan konsentrasi yang sama pada metode pertama. Persen ekstraksi xilan yang dihasilkan sebesar 2,8; 3,0; dan 11,8%. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Samanta *et al.* (2013), dimana semakin besar konsentrasi NaOH yang digunakan maka persen ekstraksi xilan yang diperoleh juga semakin besar. Persen ekstraksi xilan yang diperoleh pada metode kedua lebih besar daripada pada metode pertama. Hal ini disebabkan karena protein yang terkandung dalam ampas kedelai juga terekstrak saat proses ekstraksi xilan berlangsung sehingga menyebabkan persen ekstraksi xilan mengalami kenaikan dibandingkan pada metode pertama.

Penentuan Total Gula Pereduksi (Uji DNS)

Xilan yang berhasil diekstrak kemudian dihidrolisis dengan enzim endo- β -1,4-xilanase dan diinkubasi selama 16 jam pada suhu 40 °C dan pH 5. Gula pereduksi yang dihasilkan diukur menggunakan metode DNS. Gula reduksi merupakan senyawaan gula yang

memiliki gugus aldehid. Total gula pereduksi yang diukur sebesar 0,140 mg/mL (metode pertama) dan 0,118 (metode kedua).

KESIMPULAN

Xilan yang diekstraksi pada ampas kedelai dengan variasi konsentrasi NaOH 4, 8, dan 12% sebesar 0,4; 2,1; 6,7% (metode pertama) dan 2,8; 3,0; 11,8% (metode kedua). Xilan yang diekstraksi pada metode pertama dan kedua bisa digunakan sebagai substrat dari enzim endo- β -1,4-xilanase. Hal ini ditunjukkan dengan dihasilkannya gula pereduksi sebesar 0,140 mg/mL (metode pertama) dan 0,118 (metode kedua) setelah dihidrolisis dengan enzim endo- β -1,4-xilanase selama 16 jam pada suhu 40 °C dan pH 5.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, F. 2003. "Kajian Ekstraksi dan Hidrolisis Xilan dari Tongkol Jagung (*Zea mays L.*)". Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Collins, T., Gerday, C., & Feller, G. 2005. Xylanases, Xylanase Families and Extremophilic Xylanase. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews*, 29(1): 3-23.
- Li, B., Lu, F., Nan, H., & Liu, Y. 2012a. Isolations and Structural Characterisation of Okara Polysaccharides. *Molecules*, 17: 753-761.
- Mateos-Aparicio, I., Redondo-Cuenca, A., Villanueva-Suarez, M. J. 2010. Isolation and Characterisation of Cell Wall Polysaccharides from Legume by-Products: Okara (Soy milk Residue), Pea Pod, and Broad Bean Pod. *Food Chemistry* 122: 339-345.
- Matsuo, M. 2004. Saccharification of Okara Fiber by Plant Dietary Fiber Hydrolases. *Journal Nutrien Science Vitaminol*, 50: 291-294.
- Miller, G.R. 1959. Use of Dinitrosalicylic Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Journal of Analytical Chemistry*, 31: 426-428.
- Naznin, R. 2005. Extraction of Chitin and Chitosan from Shrimp (*Metapenaeus monoceros*) Shell by Chemical Method. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(7): 1051-1054.
- Ozioko, F. U. 2012. Extraction and Characterization of Soybean Oil Based Bio-Lubricant. *AU J.T.*, 15(4): 260-264.
- Rashad, M. M., Mahmoud, A. E., Abdou, H. M., & Nooman, M. U. 2011. Improvement of Nutritional Quality and Antioxidant Activities of Yeast Fermented Soybean Curd Residue. *African Journal of Biotechnology*, 10(28): 5504-5513.

- Ratnadewi, A. A. I., Handayani, W., & Puspaningsih, N. N. T. 2007. Produksi dan Karakterisasi, Enzim β -Endoxilanase dari Bakteri Sistem Intestinal Rayap. *Jurnal Ilmu Dasar*, 8(2): 110-117.
- Richana, N. 2002. Produksi dan Prospek Enzim xilanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia. *Buletin AgroBio*, 5(1): 29-36.
- Richana, N., Irawadi, T. T., Nur, M. A., Sailah, I., Syamsu, K., & Arkenan, Y. 2007. Ekstraksi Xilan dari Tongkol Jagung. *Jurnal Pascapanen*, 4(1): 38-43.
- Samanta, A. K., Jayanta N., Kolte A. K., Senani, S., Sridhar, M., Mishra, S., Prasad, C. S., & Suresh K. P. 2013. Application of Pigeon Pea (*Cajanus cajan*) Stalks as Raw Material for Xylooligosaccharides Production. *Applied Biochemical Biotechnology*, 169: 2392-2404.
- Sunna, A dan G. Antranikian. 1997. Xylanolytic Enzymes from Fungi and Bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 17(1): 39-67.
- Yang, R. C., McKenzi, C. R., Bilous, D., Seligy, V. I., & Narang, S. S. 1988. *Applied Enviromental Microbiology*, 54: 1023-1029.
- Yoshida, S., Satoh, T., Shimokawa, S., Oku, T., Ito, T., & Kusakabe, I. 1994. Substrate Specificity of *Strepyomyces* β -Xylanase toward Glucoxytan. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 58(6): 1041-1044.