



**Optimasi Kondisi Hidrolisis Xilan *Oat* dengan Endo- β -1,4-D-Xilanase
Asal Mikroorganisme dalam Sistem Abdomenal Rayap
untuk Produksi Xilooligosakarida**

SKRIPSI

Oleh

Andika Ade Kurniawan

NIM 101810301048

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**Optimasi Kondisi Hidrolisis Xilan *Oat* dengan Endo- β -1,4-D-Xilanase
Asal Mikroorganisme dalam Sistem Abdomenal Rayap
untuk Produksi Xilooligosakarida**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar sarjana sains

Oleh

Andika Ade Kurniawan

NIM 101810301048

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ibunda Sri Mulyani dan Ayahanda Sudirman serta semua keluarga, terima kasih atas doa, kasih sayang, motivasi dan perhatian yang selalu diberikan;
2. Guru-guru di TK Al-Hidayah, SDN Kademangan 1, SMPN 1 Bondowoso, dan SMAN 1 Tenggarang serta dosen-dosen di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, mendidik, dan membimbing dengan penuh kesabaran;
3. Almamater tercinta Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.

(terjemahan Surat *Al-Insyirah* ayat 5).*)

Hidup bukan tuk berdiam diri, hidup ada tuk kita jalani.

Cobaan bukan tuk ditakuti, cobaan harus kita hadapi.**)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Bandung : CV. Diponegoro

***) Mojo, A. D. 2013. “Berlayar Denganku”. *Berlayar* [CD]. Jakarta : Sony Music Indonesia

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Andika Ade Kurniawan

NIM : 101810301048

menyetakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Optimasi Kondisi Hidrolisis Xilan *Oat* dengan Endo- β -1,4-D-Xilanase Asal Mikroorganisme dalam Sistem Abdomenal Rayap untuk Produksi Xilooligosakarida” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 14 Januari 2015

Yang menyatakan,

Andika Ade Kurniawan

101810301048

SKRIPSI

Optimasi Kondisi Hidrolisis Xilan *Oat* dengan Endo- β -1,4-D-Xilanase Asal Mikroorganisme dalam Sistem Abdomenal Rayap untuk Produksi Xilooligosakarida

Oleh

Andika Ade Kurniawan

NIM 101810301048

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drh. Wuryanti Handayani, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Optimasi Kondisi Hidrolisis Xilan *Oat* dengan Endo- β -1,4-D-Xilanase Asal Mikroorganisme dalam Sistem Abdomenal Rayap untuk Produksi Xilooligosakarida” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada :

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Penguji:

Ketua (DPU),

Sekretaris (DPA),

drh. Wuryanti Handayani, M.Si

Dr. A. A. I. Ratnadewi, S.Si., M.Si

NIP. 196008221985032002

NIP. 197012251997022001

Penguji I,

Penguji II,

Agung Budi Santoso, S.Si., M.Si

Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc

NIP. 197104301998031003

NIP. 198010012003122001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember

Prof. Drs. Kusno, DEA., Ph.D

NIP. 196101081986021001

RINGKASAN

Optimasi Kondisi Hidrolisis Xilan Oat dengan Endo- β -1,4-D-Xilanase Asal Mikroorganisme dalam Sistem Abdomenal Rayap untuk Produksi Xilooligosakarida; Andika Ade Kurniawan, 101810301048; 2015: 49 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Endo- β -1,4-D-xilanase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis ikatan β -1,4-D-xilosida pada xilan untuk menghasilkan Xilooligosakarida (XO). Endo- β -1,4-D-xilanase dapat dihasilkan oleh berbagai mikroorganisme, diantaranya *Bacillus sp.* yang berasal dari sistem abdomen rayap tanah. Optimasi kondisi hidrolisis endo- β -1,4-D-xilanase dilakukan dengan tujuan untuk menghasilkan produk XO dengan kadar optimal. Tahapan yang dilakukan untuk optimasi produksi XO diawali dengan isolasi endo- β -1,4-D-xilanase dari isolat terpilih dan pemurnian dengan fraksinasi amonium sulfat serta dialisis. Optimasi kondisi hidrolisis berupa pH dan suhu dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum yang menghasilkan XO dengan kadar optimal. Pengaruh pengenceran terhadap aktivitas enzim juga dilakukan dalam penelitian ini. Produk XO dianalisa keberadaannya dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan ditentukan kadarnya dengan Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi (KCKT).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas endo- β -1,4-D-xilanase setelah dimurnikan dengan fraksinasi amonium sulfat dan dialisis memiliki aktivitas spesifik sebesar 2,865 U/mg. Analisa KLT yang dilakukan pada semua produk hidrolisis (variasi pH dan suhu) menunjukkan bahwa terdapat *spot* yang tebal pada produk XO dengan derajat polimerisasi 5 (xilopentaosa). Analisa KCKT yang dilakukan pada sampel juga menunjukkan bahwa produk utama yang dihasilkan adalah xilopentaosa dengan produk samping berupa xilotetraosa, xilotriosa, xilobiosa, dan xilosa. Kondisi hidrolisis optimum yaitu pada pH 5 dan suhu 40 °C menghasilkan produk hidrolisis

berupa xilopentaosa (3588 ppm), xilotetraosa (16 ppm), xilotriosa (30 ppm), xilobiosa (8 ppm), dan xilosa (11 ppm).

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kondisi hidrolisis optimum endo- β -1,4-D-xilanase pada pH 5 dan suhu 40 °C. Dan pengenceran enzim sebanyak 5 kali tidak menurunkan aktivitas enzim secara berbanding lurus. Hidrolisis endo- β -1,4-D-xilanase pada substrat xilan *oat* menghasilkan produk utama XO dengan jenis xilopentaosa dan produk samping xilotetraosa, xilotriosa, xilobiosa, dan xilosa. Produk XO yang dihasilkan dapat menjadi kandidat sebagai prebiotik yang dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri menguntungkan dalam sistem pencernaan.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Optimasi Kondisi Hidrolisis Xilan *Oat* dengan Endo- β -1,4-D-Xilanase Asal Mikroorganisme dalam Sistem Abdomenal Rayap untuk Produksi Xilooligosakarida”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Drs. Kusno, DEA., PhD., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. drh. Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama serta Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan, waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Agung Budi Santoso, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji I serta Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya guna menguji, serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Novita Andarini, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
6. teman-teman Rumpis angkatan 2010 terima kasih atas semangat, bantuan, kritik, saran, pengalaman dan kenangan yang telah diberikan;
7. teman-teman seperjuangan *xylanase group*, Luluk Masnia, Ani Harfilia Hafidah, Eka Yuni Kurniawati, terima kasih atas saran, kerjasama, dan bantuannya;

8. teman-teman tim futsal dan kontrakan Nutopia terima kasih atas semangat, perhatian dan pengalaman yang telah diberikan;
9. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan.

Jember, Januari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. Tinjauan Pustaka	4
2.1 Xilan	4
2.2 Xilooligosakarida (XO).....	6
2.3 Enzim Hidrolase.....	7
2.4 Endo-β-1,4-D-Xilanase.....	11
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	13
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	13

3.2 Alat Penelitian	13
3.3 Bahan Penelitian	14
3.4 Diagram Alir Penelitian	15
3.5 Persiapan Media, Reagen, dan Bufer.....	16
3.5.1 Pembuatan Media Luria Bertani (LB) Padat	16
3.5.2 Pembuatan Media Inokulum Cair	16
3.5.3 Pembuatan Reagen Miller.....	16
3.5.4 Pembuatan Reagen Bradford	16
3.5.5 Pembuatan Bufer Sitrat-fosfat	17
3.6 Peremajaan Bakteri Pensekresi Endo-β-1,4-D-Xilanase.....	17
3.7 Produksi Endo-β-1,4-D-Xilanase	17
3.8 Isolasi Ekstrak Kasar Endo-β-1,4-D-Xilanase	17
3.9 Penentuan Aktivitas Endo-β-1,4-D-Xilanase.....	18
3.9.1 Kurva Standar Xilosa.....	18
3.9.2 Pengujian Endo- β -1,4-D-Xilanase	18
3.9.3 Perhitungan Aktivitas	19
3.10 Penentuan Kadar Protein Endo-β-1,4-D-Xilanase.....	19
3.10.1 Kurva Standar BSA (<i>Bovine Serum Albumin</i>).....	19
3.10.2 Pengujian Endo- β -1,4-D-Xilanase	19
3.10.3 Perhitungan Kadar Protein.....	20
3.11 Pemurnian Endo-β-1,4-D-Xilanase.....	20
3.11.1 Fraksinasi Amonium Sulfat	20
3.11.2 Dialisis	20
3.12 Optimasi Kondisi Hidrolisis Enzimatis Xilan	21
3.13 Deteksi Produk Pemurnian Hidrolisat.....	21
3.13.1 Deteksi dengan KLT.....	21
3.13.2 Deteksi dengan KCKT.....	22

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Koloni Bakteri <i>Bacillus sp.</i> Pensekresi Endo-β-1,4-D-Xilanase	24
4.2 Ekstrak Kasar Endo-β-1,4-D-Xilanase	25
4.3 Aktivitas Endo-β-1,4-D-Xilanase	26
4.4 Endo-β-1,4-D-Xilanase Hasil Pemurnian Parsial.....	27
4.4.1 Endo- β -1,4-D-Xilanase Hasil Fraksinasi (NH ₄) ₂ SO ₄	27
4.4.2 Endo- β -1,4-D-Xilanase Hasil Dialisis	29
4.5 Xilooligosakarida Produk Hidrolisis Endo-β-1,4-D-Xilanase	30
4.5.1 Nilai pH Optimum Hidrolisis oleh Endo- β -1,4-D-Xilanase	31
4.5.2 Suhu Optimum Hidrolisis dengan Endo- β -1,4-D-Xilanase	37
4.6 Pengaruh Pengenceran Terhadap Aktivitas	
Endo-β-1,4-D-Xilanase	41
BAB 5. PENUTUP.....	45
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR TABEL

2.1 Persentasi komposisi kayu dalam Cemara dan Birch	5
2.2 Jenis prebiotik	7
2.3 Jenis enzim dan substrat yang dapat dihidrolisis	11
4.1 Aktivitas dan kadar protein ekstrak kasar endo- β -1,4-D-xilanase	27
4.2 Optimasi tingkat kejenuhan fraksinasi amonium sulfat	28
4.3 Aktivitas dan kadar protein endo- β -1,4-D-xilanase setelah proses fraksinasi amonium sulfat	29
4.4 Aktivitas dan kadar protein endo- β -1,4-D-xilanase setelah dialisis	30

DAFTAR GAMBAR

2.1 Struktur xilan dan lokasi pemotongan oleh enzim endo-xilanase.....	4
2.2 Struktur xilan penyusun sel tumbuhan	5
2.3 Mekanisme reaksi hidrolisis secara <i>invertin</i> g	8
2.4 Mekanisme reaksi hidrolisis secara <i>retainin</i> g	8
2.5 Pengaruh suhu, pH, dan konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim.....	10
3.1 Diagram alir penelitian.....	15
4.1 Koloni Bakteri tumbuh pada media LB	24
4.2 Reaksi perubahan warna pada uji aktivitas enzim	26
4.3 Kurva kadar total gula reduksi dalam berbagai variasi pH.....	33
4.4 Reaksi Visualisasi KLT.....	34
4.5 Hasil KLT hidrolisat dengan variasi nilai pH	35
4.6 Kromatogram KCKT hidrolisat pH 5 dan pH 6.....	37
4.7 Kurva kadar total gula reduksi dalam berbagai variasi suhu	38
4.8 Hasil KLT hidrolisat dengan variasi suhu inkubasi	39
4.9 Kromatogram KCKT sampel suhu 40°C.....	40
4.10 Kurva kadar total gula reduksi dalam berbagai variasi konsentrasi enzim.....	42
4.11 Hasil KLT hidrolisat dengan variasi konsentrasi enzim	43
4.12 Kromatogram KCKT hidrolisat enzim dialisat	44

DAFTAR LAMPIRAN

A. <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Reagen Miller	50
B. Pembuatan Bufer Sitrat-fosfat	51
C. Kurva Regresi Hasil Penelitian	52
C.1 Kurva Standar Xilosa pada 540 nm	52
C.2 Kurva Standar BSA pada 595 nm.....	53
D. Data Hasil Pengamatan	54
D.1 Pengukuran Aktivitas Endo- β -1,4-D-Xilanase dengan Metode Miller	54
D.2 Pengukuran Kadar Protein Endo- β -1,4-D-Xilanase dengan Metode Bradford dan Aktivitas Spesifik	56
D.3 Optimasi Variasi Nilai pH Endo- β -1,4-D-Xilanase	57
D.4 Optimasi Variasi Suhu Hidrolisis Endo- β -1,4-D-Xilanase	59
D.5 Pengaruh Pengenceran Terhadap Aktivitas Endo- β -1,4-D-Xilanase	63
E. Perhitungan Nilai Rf Standar Hasil KLT.....	65
F. Kromatogram KCKT	66
F.1 Standar Xilosa	66
F.2 Standar Xilobiosa	67
F.3 Standar Xilooligosakarida.....	68
F.4 Sampel 1 (Enzim dialisat, pH 5, dan suhu 40 °C).....	69
F.5 Sampel 2 (Enzim dialisat, pH 6, dan suhu 40 °C).....	70
G. Perhitungan Kadar Produk Hidrolisis	71
G.1 Kadar Standar Xilosa, Xilobiosa, dan Xilooligosakarida.....	71
G.2 Kadar Sampel 1 (Enzim dialisat, pH 5, dan suhu 40 °C)	71
G.3 Kadar Sampel 2(Enzim dialisat, pH 6, dan suhu 40 °C)	72