



**EKSTRAKSI XILAN DARI LIMBAH AMPAS SINGKONG DAN  
PEMANFAATANNYA SEBAGAI SUBSTRAT  
ENDO- $\beta$ -1,4-D-XILANASE**

**SKRIPSI**

Oleh

**Fita Kurnia Firdausa**

**NIM 101810301031**

**JURUSAN KIMIA**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**



**EKSTRAKSI XILAN DARI LIMBAH AMPAS SINGKONG DAN  
PEMANFAATANNYA SEBAGAI SUBSTRAT  
ENDO- $\beta$ -1,4-D-XILANASE**

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Fita Kurnia Firdausa**

**NIM 101810301031**

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

**2016**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ayahanda Nur Choliq dan Ibunda Supriati serta semua keluarga, terima kasih atas doa, kasih sayang, motivasi dan perhatian yang selalu diberikan;
2. Guru-guru di TK RA.Muslimat NU 33, SDN Karang Bendo 3, SMPN 3 Lumajang, dan SMAN 3 Lumajang 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

...Allah meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

(terjemahan Surat *Al-Mujaadilah* ayat 58).<sup>\*)</sup>

Dan mereka yang berjuang dan bersungguh – sungguh datang kepada Kami, Kami pasti akan menunjukan mereka jalan – jalan Kami.

(terjemahan Surat *Al-Ankabuut* ayat 69).<sup>\*\*)</sup>

---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Bandung : CV. Diponegoro

<sup>\*\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Bandung: CV. Diponegoro.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Fita Kurnia Firdausa

NIM : 101810301031

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Ekstraksi Xilan dari Ampas Singkong dan Pemanfaatannya sebagai Substrat Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase” 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, 13 Juni 2016

Yang menyatakan,

Fita Kurnia Firdausa

101810301031

**SKRIPSI**

**EKSTRAKSI XILAN DARI LIMBAH AMPAS SINGKONG  
DAN PEMANFAATANNYA SEBAGAI SUBSTRAT  
ENDO- $\beta$ -1,4-D-XILANASE**

Oleh

Fita Kurnia Firdausa

NIM 101810301031

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Agung Budi Santoso, S.Si., M.Si

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

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Ekstraksi Xilan dari Limbah Ampas Singkong dan Pemanfaatannya sebagai Substrat Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase” 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),

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

drh. Wuryanti Handayani, M.Si

NIP. 197104301998031003

NIP. 196008221985032002

Penguji I,

Penguji II,

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

I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si.

NIP. 197012251997022001

NIP. 197105011998021002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Jember

Drs. Sujito, Ph.D

NIP. 198102041987111001

**Ekstraksi Xilan dari Limbah Ampas Singkong dan Pemanfaatannya sebagai Substrat Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase;** Fita Kurnia Firdausa, 101810301031; 2016: 58 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Singkong (*Manihot utilissima*) merupakan tanaman yang paling potensial untuk diolah menjadi tepung. Pengolahan singkong menjadi tepung, 1 ton singkong akan menghasilkan 0,1 ton ampas. Ampas singkong mengandung mengandung selulosa (36,6%), hemiselulosa (21,3%), dan lignin (17,3%). Hemiselulosa adalah heteropolisakarida yang tersusun atas satuan-satuan gula pentosa dan heksosa dimana komponen utamanya adalah xilan. Xilan dapat dimanfaatkan sebagai substrat untuk enzim endo- $\beta$ -1,4-xilanase dalam menghasilkan xilooligosakarida yang bersifat prebiotik.

Tujuan penelitian ini adalah mengekstraksi xilan dari ampas singkong. Pada proses ekstraksi xilan dilakukan variasi konsentrasi pelarut NaOH yaitu 4, 8, 12, dan 16%. Selain itu juga terdapat variasi perlakuan yaitu ekstraksi xilan dengan delignifikasi dan tanpa delignifikasi. Xilan yang berhasil diekstraksi, sebagian dipisahkan dan dimurnikan menggunakan kromatografi filtrasi gel dan dianalisis dengan metode KLT. Sebagian lagi, xilan dihidrolisis dengan enzim endo- $\beta$ -1,4-xilanase. Pada proses hidrolisis, dilakukan optimasi waktu inkubasi yaitu 5, 10, 16, 20 dan 25 jam. Produk hidrolisis yang dihasilkan dianalisis dengan KLT, total gula pereduksi dengan menggunakan metode DNS dan kromatografi cairan kinerja tinggi (KCKT).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ampas singkong yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kandungan HCN sebesar 16,10 ppm; kadar air sebesar 7,45%, dan kadar lignin sebesar 4,34%. Hasil ekstraksi diperoleh data yaitu rendemen xilan tertinggi dihasilkan pada konsentrasi NaOH 12% (b/v) yaitu sebesar 32,14% (delignifikasi) dan 52,36% (non-delignifikasi). Analisa xilan menggunakan KLT



menunjukkan bahwa xilan hasil ekstraksi yang telah dilewatkan kromatografi filtrasi gel telah murni dan tidak mengalami hidrolisis akibat penambahan asam dan basa selama proses ekstraksi. Waktu inkubasi optimum yang diperlukan untuk menghidrolisis xilan dari ampas singkong yaitu 16 jam pada kondisi hidrolisis pH 5 dan suhu 40°C. Total gula pereduksi yang dihasilkan yaitu 3,533 mg/mL (delignifikasi) dan 3,389 mg/mL (non-delignifikasi). Analisa KCKT pada produk hidrolisis menunjukkan jenis xilooligosakarida yaitu xilopentosa (5591 ppm), xilotetraosa (35,17 ppm), xilotriosa (89,80), dan xilosa (7,43 ppm).

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa xilan berhasil diekstraksi dari ampas singkong dan dapat digunakan sebagai substrat endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase. Waktu optimum untuk menghidrolisis xilan dari ampas singkong yaitu 16 jam dengan kondisi hidrolisis pada pH 5 dan suhu 40°C. Hidrolisis endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase pada substrat xilan dari ampas singkong menghasilkan produk xilooligosakarida dengan jenis xilopentosa, xilotetraosa, xilotriosa, dan xilosa.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Ekstraksi Xilan dari Limbah Ampas Singkong dan Pemanfaatannya sebagai Substrat Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase”. 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. Drs. Sujito, Ph.D., 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. Agung Budi Santoso, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama serta drh. Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan, waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji I serta I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya guna menguji, serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
6. Keluarga tercinta, ayahanda Nur Kholiq, Ibunda Supriyati, serta kakakku Vivin Veri Astuti, yang setia mendukung moril dan materil, mendidik, dan member kasih sayang dan pengorbanan yang tidak terhingga selama ini;
7. teman-teman RUMPIS angkatan 2010 terima kasih atas semangat, bantuan, kritik, saran, pengalaman dan kenangan yang telah diberikan;

8. sahabat seperjuangan, Manis rohmawati, Mukharomatus Siami, Yusril Ihza, Ida Maulida terimakasih atas doa dukungan, semangat dan perhatian yang diberikan selama ini;
9. teman-teman seperjuangan *xylanase group*, Okky Santi S, Wardhatul Baedho', Dewanti Oktavia, Melia Dwi R, dan Siti Nur Avida, terima kasih atas saran, kerjasama, dan bantuannya;
10. Widya Citya, Erryka Putri, Edi Siswanto, Maskur Hadi, Nico Dwi Cahya, Rita Mujiati, Zubaidah, Christin Hastutik, Andriani Damayanti, dan Ilham Setya Budi terima kasih atas doa, semangat dan perhatian yang diberikan selama ini;
11. Kawan seperjuangan dalam menyelesaikan skripsi di *Center for Development of Advance Science and Technology (CDAST)*, terimakasih atas saran, kerja sama dan bantuannya;
12. Semua pihak yang telah membantu 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, Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>2</b>
<b>1.3 Batasan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.5 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. Tinjauan Pustaka .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Ampas Singkong.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2 Asam Sianida (HCN) .....</b>	<b>5</b>
<b>2.3 Hemiselulosa .....</b>	<b>7</b>
2.3.1 Xilan.....	8
2.3.2 Ekstraksi Xilan.....	10
<b>2.4 Endo-<math>\beta</math>-1,4-D-Xilanase.....</b>	<b>11</b>

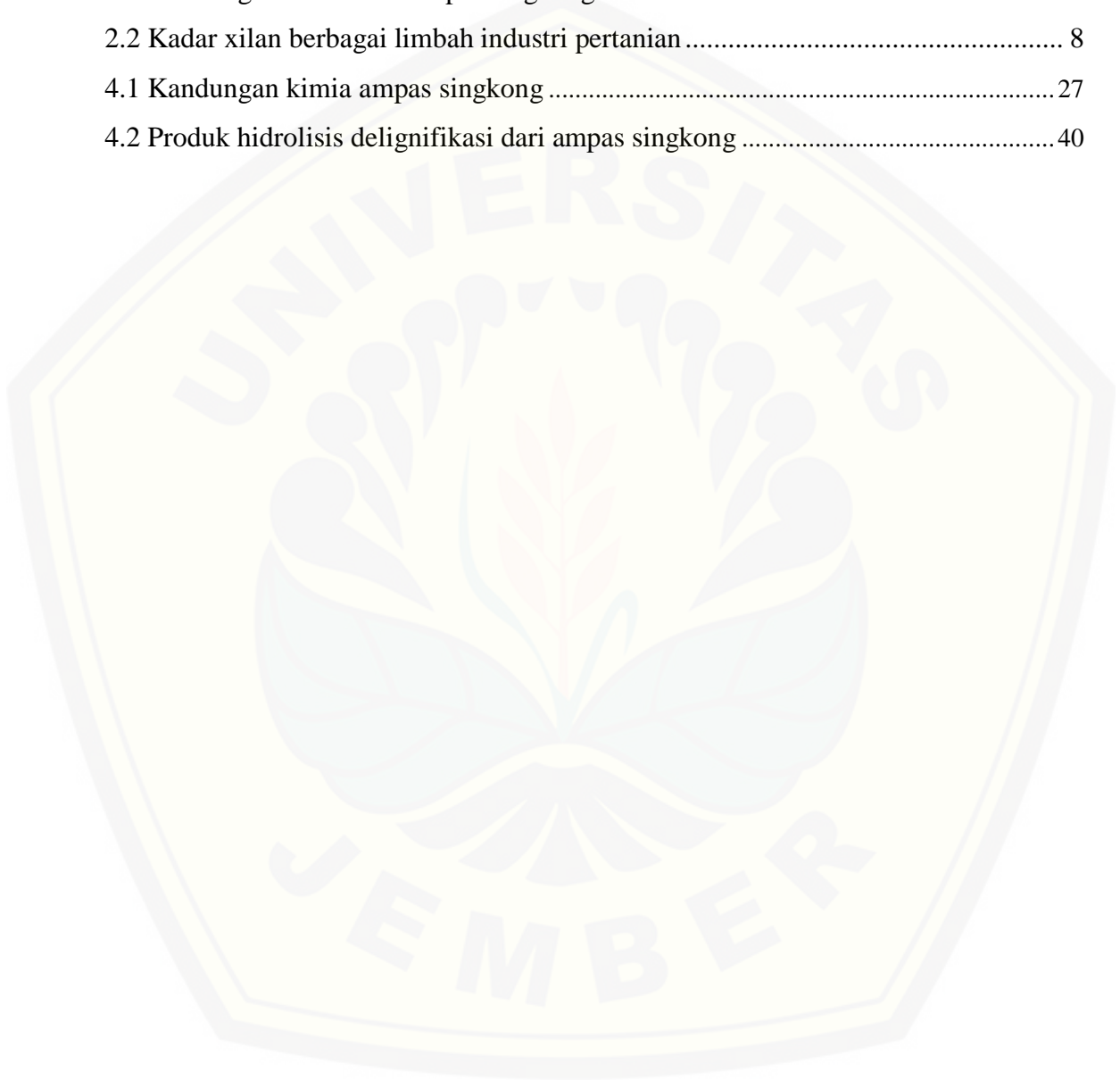
<b>2.5 Kromatografi</b> .....	<b>12</b>
2.5.1 Kromatografi Filtrasi Gel.....	12
2.5.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	13
2.5.3 Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi(KCKT).....	15
<b>2.6 Spektrofotometri UV-Vis</b> .....	<b>16</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>18</b>
<b>3.1 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	<b>18</b>
<b>3.2 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	<b>18</b>
3.2.1 Alat Penelitian.....	18
3.2.2 Bahan Penelitian .....	18
<b>3.3 Diagram Alir Penelitian</b> .....	<b>20</b>
<b>3.4 Prosedur Penelitian</b> .....	<b>21</b>
3.4.1 Preparasi Sampel.....	21
3.4.2 Analisa Kadar Air, Lignin, dan HCN pada Ampas Singkong .....	21
3.4.3 Delignifikasi dan Ekstraksi Xilan dari Ampas Singkong .....	22
3.4.4 Kromatografi Filtrasi Gel dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	23
3.4.5 Analisa Produk Hidrolisis Xilan dari Ampas Singkong .....	23
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>26</b>
<b>4.1 Kandungan HCN, Air, dan Lignin pada Ampas Singkong</b> .....	<b>26</b>
<b>4.2 Rendemen Xilan</b> .....	<b>28</b>
<b>4.3 Kromatogram Xilan Dengan Kromatografi Filtrasi Gel</b> <b>&amp;Kromatografi Lapis Tipis (KLT)</b> .....	<b>31</b>
<b>4.4 Produk Hidrolisis Xilan dari Ampas Singkong dengan Endo-<math>\beta</math>-1,4-</b> <b>D-Xilanase</b> .....	<b>36</b>
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	<b>41</b>
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	<b>41</b>
<b>5.2 Saran</b> .....	<b>41</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>43</b>

LAMPIRAN..... 49



**DAFTAR TABEL**

2.1 Kandungan kimia dari ampas singkong .....	5
2.2 Kadar xilan berbagai limbah industri pertanian .....	8
4.1 Kandungan kimia ampas singkong .....	27
4.2 Produk hidrolisis delignifikasi dari ampas singkong .....	40



**DAFTAR GAMBAR**

2.1 Struktur xilan dari kayu lunak dan kayu keras.....	9
2.2 Struktur xilan dan sisinya yang diserang oleh enzim xilanolitik .....	12
2.3 Proses elusi pada kromatografi filtrasi gel .....	13
2.4 Level energy elektronik dan keadaan transisi .....	17
3.3 Diagram alir penelitian.....	20
4.1 Pemecahan struktur lignoselulosa .....	28
4.2 Ampas singkong awal dan sesudah delignifikasi .....	29
4.3 Rendemen xilan dari ampas singkong.....	30
4.4 Xilan hasil ekstraksi dari ampas singkong .....	31
4.5 Kolom kromatografi filtrasi gel .....	32
4.6 Kromatogram KLTfraksi – fraksi pada kromatografi kolom.....	33
4.7 Kromatogram KLT produk hidrolisis xilan .....	36
4.8 Kurva pengaruh variasi waktu inkubasi terhadap kadar total gula pereduksi.....	37



**DAFTAR LAMPIRAN**

A. Pembuatan Larutan dan Reagen.....	49
A.1 Pembuatan Larutan NaOH 2,4,8, dan 12% .....	49
A.2 Pembuatan Larutan HCl 6M.....	49
A.3 Pembuatan Larutan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 72% .....	49
A.4 Pembuatan Reagen DNS .....	49
B. Kandungan Lignin, Air, dan HCN pada Ampas Singkong .....	50
B.1 Kandungan Lignin, Air, dan HCN.....	50
C. Rendemen Xilan dari Ampas Singkong .....	51
D. Kurva Standar Xilosa pada 550nm.....	52
E. Variasi Waktu Inkubasi Endo-β-1,4-D-Xilanase.....	53
F. Kromatogram KCKT .....	54
F.1 Standar Xilosa .....	54
F.2 Standar Xilobiosa.....	55
F.3 Standar Xilooligosakarida.....	56
F.4 Hasil Hidrolisis Xilan dari Ampas Singkong.....	57
G. Perhitungan Kadar Hasil Hidrolisis.....	58
G.1 Standar Xilooligosakarida .....	58
G.2 Kadar Hidrolisis Xilan dari Ampas Singkong.....	58

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Singkong (*Manihot utilissima*) merupakan bahan pangan yang banyak diproduksi di Indonesia. Singkong merupakan bahan baku yang paling potensial untuk diolah menjadi tepung. Berdasarkan Badan Pusat Statistik (BPS) (2013), Produksi singkong di provinsi Jawa Timur sebesar 3.601.074 ton.

Singkong segar mempunyai komposisi kimiawi terdiri atas 60% kadar air; 35% pati; 2,5% serat kasar; 1% kadar protein; 0,5% kadar lemak dan 1% kadar abu (Prabawati, 2011). Pemanfaatan singkong sebagai bahan baku pangan telah banyak dilakukan. Salah satu kegunaan singkong sebagai bahan baku utama pembuatan tepung tapioka. Proses pembuatan tepung tapioka menghasilkan limbah berupa ampas dan kulit singkong (Retnowati dan Sutanti, 2011). Pada pengolahan 1 ton singkong akan menghasilkan ampas sekitar 0,1 ton (Naufalina, 2004). Ditinjau dari komposisi kimianya, ampas singkong kering mengandung 1,57 g protein; 1,06 g lemak; 21,10 g serat dan 1,10 g abu (Pandey, 2000). Menurut Amenaghawon, *et al.* (2014), serat pada ampas yang berlignoselulosa mengandung selulosa 36,6%, hemiselulosa 21,3% dan lignin 17,3%.

Hemiselulosa dalam ampas singkong adalah komponen terbesar kedua setelah selulosa. Hemiselulosa merupakan heteropolisakarida yang tersusun atas satuan-satuan gula pentosa dan heksosa. Komponen utama dari hemiselulosa adalah xilan (Da Silva *et al.*, 2007). Selain terdapat pada ampas singkong, xilan juga ditemukan pada limbah – limbah pertanian seperti dedak gandum (12,3%), bagas tebu (9,6%) dan sekam padi (12,1%) (Richana *et al.*, 2004).

Xilan merupakan polimer dari pentosa atau xilosa dengan ikatan  $\beta$ -1,4 yang jumlah monomernya berkisar antara 150-200 unit (Richana *et al.*, 2007). Xilan

mempunyai banyak manfaat sebagai bahan baku industri, diantaranya sebagai *thickening agent* (pengental) dan bahan baku pembuatan film. Selain itu xilan juga digunakan sebagai substrat enzim endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase. Enzim endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase menghidrolisis xilan menjadi xilooligosakarida dan sedikit xilosa sebagai produk samping (Jiang *et al.*, 2004). Xilooligosakarida sangat bermanfaat bagi kesehatan yaitu untuk merangsang pertumbuhan bifidobakteri di usus manusia sehingga xilooligosakarida dipertimbangkan sebagai prebiotik (Yang *et al.*, 2005).

Tahap awal sebelum dilakukan hidrolisis pada ampas singkong adalah menentukan kandungan xilan yang terdapat di dalam ampas tersebut. Kandungan xilan dari ampas singkong dapat ditentukan dengan metode ekstraksi. Proses ekstraksi xilan pernah dilakukan oleh Richana (2007) pada tongkol jagung dengan memodifikasi metode Yoshida *et al.*, (1994). Richana berhasil mengekstraksi xilan dari limbah tongkol jagung. Xilan yang diperoleh diuji dengan Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi (KCKT). Kadar xilan yang diperoleh sebesar 12,95%.

Berdasarkan keterangan diatas, pada penelitian ini dilakukan ekstraksi xilan dari ampas singkong untuk mengetahui kandungan xilan. Xilan yang terkandung dalam ampas singkong ditentukan dengan kromatografi cairan kinerja tinggi. Penelitian ini juga akan mengetahui waktu inkubasi optimum yang dibutuhkan oleh endoxilanase yang berasal dari abdominal rayap untuk menghidrolisis substrat xilan sumber ampas singkong.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Berapa rendemen xilan optimum pada ampas singkong dengan berbagai variasi konsentrasi NaOH?
2. Apakah xilan yang diekstraksi dari ampas singkong dapat digunakan sebagai substrat untuk enzim endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase?

3. Berapa waktu optimum yang dibutuhkan enzim endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase untuk menghidrolisis substrat xilan dari ampas singkong?

### 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini antara lain :

- Enzim yang digunakan adalah endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang berasal dari abdomen rayap.
- Enzim yang digunakan memiliki aktifitas spesifik sebesar 0,481 U/mL.
- Kondisi hidrolisis yang digunakan yaitu pada pH 5, suhu 40 °C, dan perbandingan enzim dan substrat xilan 1:1 (v/v).

### 1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui rendemen xilan pada ampas singkong.
2. Mengetahui aplikasi xilan dari ampas singkong sebagai substrat untuk enzim endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase.
3. Mengetahui waktu optimum yang diperlukan xilanase untuk menghidrolisis substrat xilan dari ampas singkong.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk:

1. Memberikan pengetahuan manfaat xilan dari ampas singkong sebagai substrat dan mengganti substrat sintesis untuk enzim endoxilanase
2. Meningkatkan nilai tambah ampas singkong.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ampas Singkong

Singkong (*Manihot utilissima*) merupakan pohon tahunan tropika dan subtropika dari keluarga *Eurphobiaceae*. Umbinya dikenal sebagai makanan pokok penghasil karbohidrat dan daunnya sebagai sayuran (Hartati, 2008). Singkong merupakan tanaman perdu yang berasal dari benua Amerika, tepatnya dari negara Brasil, tanaman ini masuk ke Indonesia pada tahun 1852 (Purwono, 2009). Produktivitas singkong di Indonesia sebesar 22.677.866 ton, sedangkan di Jawa Timur produktivitas singkong mencapai 5 juta ton (Badan Pusat Statistika, 2012).

Singkong segar mempunyai komposisi kimia antara lain 60% kadar air, 35% pati, 2,5% serat kasar, 1% kadar protein, 0,5% kadar lemak dan 1% kadar abu (Prabawati, 2011). Tanaman ini merupakan bahan baku yang paling potensial untuk diolah menjadi tepung. Proses pengolahan singkong menjadi tepung tapioka, dari 1 ton singkong akan menghasilkan ampas sekitar 0,1 ton (Naufalina, 2004). Limbah tersebut berupa limbah padat (onggok) dan kulit singkong (Retnowati dan Sutanti, 2009).

Sebagian masyarakat menganggap bahwa ampas singkong merupakan limbah yang tidak dapat dimanfaatkan lagi menjadi sumber makanan. Oleh karena itu pemanfaatan ampas masih sebatas sebagai pakan ternak, padahal ampas singkong masih memiliki banyak manfaat. Ampas singkong dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan etanol (Retnowati dan Sutanti, 2009) dan juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan plastik yang mudah terurai (*biodegradable*). Selain itu, ampas singkong juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan sumber prebiotik.

Berdasarkan penelitian Amenaghawon, *et al.*, (2014), ampas singkong mengandung selulosa 36,6%, hemiselulosa 21,3% dan lignin 17,3%. Ampas singkong masih mempunyai kandungan nutrisi yang masih bisa dimanfaatkan.

Tabel 2.1 Kandungan Nutrisi dari Ampas Singkong

Kelembaban	5,02
Protein	1,57
Lemak	1,06
Serat	50,55
Abu	1,10

(Sumber: Pandey, 2000).

## 2.2 Asam Sianida (HCN)

Sianida merupakan senyawa anti nutrisi yang banyak terkandung pada beberapa jenis tumbuhan, seperti ketela pohon, gadung, rebung, dan lain-lain. (Pambayun, 2007). Asam sianida (HCN) merupakan salah satu racun yang paling berbahaya dan paling cepat reaksinya dalam tubuh hewan maupun manusia dibandingkan dengan racun lainnya. Aktivitas enzim linamarase menyebabkan linamarin mengalami hidrolisis menjadi glukosa sianogenik dan sianohidrin yang lebih lanjut dapat dipecah menjadi HCN dan aseton (Widodo, 2005).

Menurut Winarno (2004), HCN bersifat mudah menguap di udara terutama pada suhu lebih tinggi dari 25°C. HCN termasuk senyawa volatil tidak berwarna, berbau menyengat sebagaimana asam lainnya, dan berasa pahit. Senyawa ini mempunyai titik didih 25,7°C, sangat mudah larut dalam air dalam keadaan bebas dan akan terakumulasi dalam jaringan (Pambayun, 2007).

Menurut FAO/ WHO 1991 kandungan sianida yang diperbolehkan pada makanan maksimal 10 ppm (Askurrahman, 2010). Menurut Widyastutik (2012), kandungan HCN pada singkong, digolongkan sebagai berikut:

1. Tidak beracun : 20-50 mg HCN/kg parutan
2. Beracun sedang : 50-100 mg HCN/kg parutan
3. Sangat beracun : >100 mg HCN/kg parutan

Kandungan sianida dalam bahan pangan berbeda- beda. Pada koro benguk 19, 49 ppm (Sudiyono, 2010), umbi singkong kurang dari 50 ppm (Yuningsih, 2009), gadung 50-400 mg/Kg , sedangkan pada sayur-sayuran seperti buncis, kembang kol, kangkung dan sawi sekitar 2-18 mg/ 100 g berat mentah (Murdiana, 2001). Menurut Marlina (2000), kandungan sianida pada tanaman singkong diagi ke dalam tiga jenis yaitu:

1. Singkong manis dengan kandungan HCN 50mg/kg umbi segar
2. Singkong (tidak manis dan tidak pahit) dengan kandungan HCN antara 50-100 mg/kg umbi segar
3. Singkong pahit dengan kandungan HCN diatas 100 mg/kg umbi segar

Agar bahan pangan yang mengandung sianida seperti singkong dan gadung dapat dikonsumsi maka kadar sianida pada tanaman tersebut harus dikurangi. Selain itu, sianida juga bisa dihilangkan dengan beberapa perlakuan antara lain: fermentasi, perebusan (air rebusan dibuang), perendaman/ pencucian (air cucian dibuang), pengeringan, pengukusan, pamarutan (Widyastuti, 2012).

- a. Proses fermentasi dapat meningkatkan kandungan energy dan protein, serta dapat menurunkan kandungan sianida dan kandungan serat kasar yang dapat meningkatkan daya cerna bahan makanan berkualitas rendah. Dalam proses fermentasi, mikroba yang digunakan akan menghasilkan enzim yang akan mendegradasi senyawa – senyawa kompleks menjadi lebih sederhana dan mikroba akan mensintesis protein yang merupakan proses *protein enrichmen* yaitu pengkayaan protein bahan (Juliarti dan Iis., 2013).
- b. Perebusan atau pengukusan dapat menghilangkan 90% sianida bebas dengan waktu 15 menit. Ikatan sianida dapat dihilangkan 55% dengan cara merebus atau mengukus setelah 25 menit. Perebusan dapat merusak enzim linamarase pada suhu 72<sup>0</sup>C.
- c. Proses perendaman dapat menghilangkan 20% sianida bebas pada *chips* singkong setelah 4 jam. Ikatan sianida mulai berkurang setelah dimulainya fermentasi.

Pengurangan sianida yang signifikan jika direndam dengan air dan diganti secara rutin selama 3 – 5 hari.

- d. Penjemuran atau pengeringan adalah proses penguapan menggunakan sinar matahari langsung dan menggunakan oven. Pengurangan kandungan sianida yang paling tinggi dengan menggunakan oven yaitu mengeringkan dengan suhu 60<sup>0</sup>C selama 48 jam. Pengurangan kandungan sianida dengan sinar matahari langsung dapat dilakukan dengan menjemur selama 1 – 3 hari selama musim kemarau, sedangkan saat musim hujan dapat dilakukan selama 8 hari.
- e. Pamarutan adalah proses setelah pengupasan. Konsentrasi HCN pada hasil parutan tergantung pada waktu saat glukosida dan glukosidase berinteraksi dalam medium cair. Pamarutan juga memberikan area permukaan untuk proses fermentasi.

### 2.3 Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan polimer yang terdiri dari dua sampai tujuh residu gula yang berbeda, seperti D-xilosa, D-mannosa, D-galaktosa, D-glukosa, L-arabinosa, asam 4-O-metilglukuronat, asam D-galakturonat, dan asam glukuronat (Gong, *et al.*, 1981). Kandungan hemiselulosa pada tanaman berkisar antara 20-30% berat kering kayu, sedangkan pada daun kadarnya mencapai 80-85%. Keberadaan hemiselulosa di alam dan sifatnya dapat diperbaharui sehingga hemiselulosa dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk diolah menjadi produk yang bernilai ekonomis (Meryandini, 2008). Hemiselulosa memiliki derajat polimerasi hanya sampai 200. Hemiselulosa mengikat fibril-fibril selulosa untuk membentuk mikrofibril yang dapat meningkatkan stabilitas dinding sel (Putri, 2008).

Hemiselulosa bersifat tidak tahan terhadap panas, strukturnya *amorf* dan mudah dimasuki pelarut, dapat diekstraksi menggunakan alkali dan ikatannya lemah sehingga mudah dihidrolisis (Sjostrom, 1995). Komposisi dan struktur hemiselulosa dalam kayu lunak berbeda dengan hemiselulosa dalam kayu keras. Secara umum hemiselulosa dapat dibagi menjadi tiga subgroup yaitu xilan, mannan, dan galaktan (Putri, 2008).



### 2.3.1 Xilan

Komponen utama dari hemiselulosa adalah xilan. Xilan merupakan polisakarida terbesar di sel tumbuhan dan terbanyak kedua di alam. Xilan terdapat hampir disemua tanaman, kebanyakan dijumpai pada tanaman-tanaman tahunan dan khususnya pada limbah-limbah pertanian seperti tongkol jagung, ampas tebu, jerami padi, biji kapas dan ampas singkong. Kandungan xilan dalam bahan-bahan tersebut berkisar antara 15-30% bobot kering (Whistler, 1950).

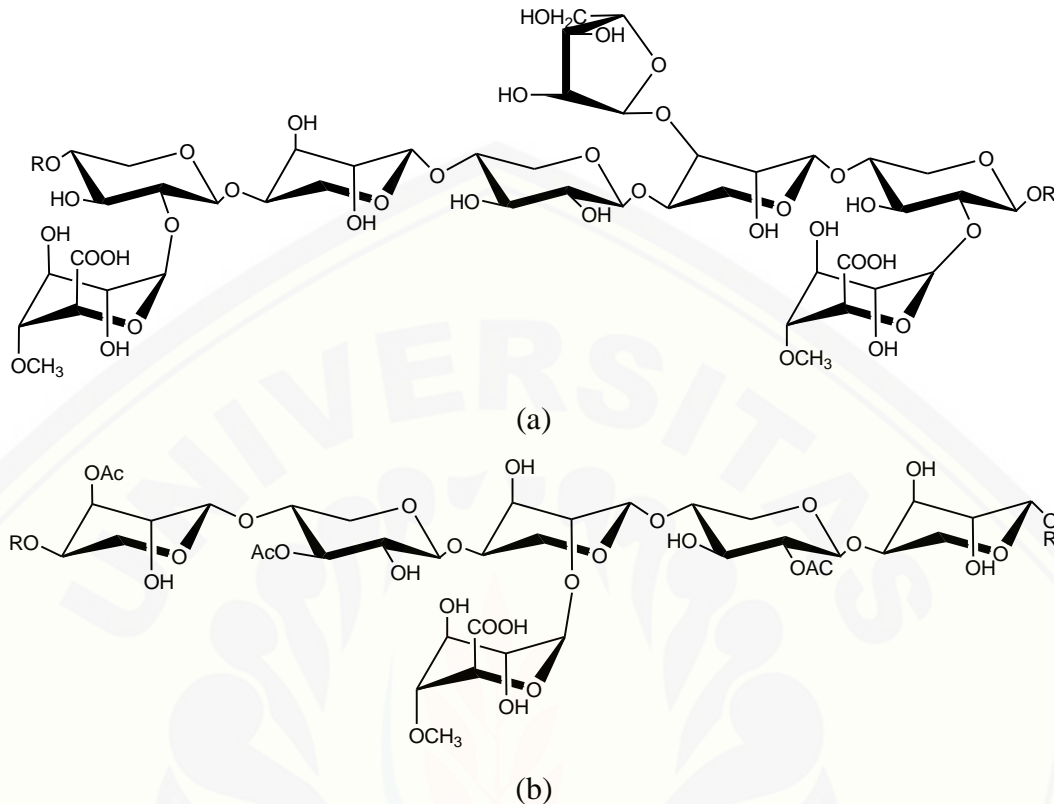
Tabel 2.2. Kadar Xilan Berbagai Limbah Industri Pertanian

Limbah industri pertanian	Kadar xilan %
Tongkol jagung	31,94
Ampas umbi garut	6,86
Onggok	0,4
Sekam	29,91
Bekatul	10,25

Sumber: Agustina (2002)

Xilan adalah polimer dari pentosa atau xilosa dengan ikatan  $\beta$ -1,4 yang jumlah monomernya berkisar 150-200 unit (Richana, 2007). Xilan terikat pada selulosa, pektin, lignin, dan polisakarida lainnya untuk membentuk dinding sel tanaman.

Hemiselulosa yang terkandung pada *hardwood* (angiospermae) utamanya adalah xilan (15-30%) yang terdiri atas unit-unit xilosa yang dihubungkan oleh ikatan  $\beta$ -(1,4)-glikosida dengan percabangan berupa unit asam *4-o-methylglucuronic* dan ikatan  $\alpha$ -(1,2)-glikosida. Sedangkan pada *softwood* (gymnospermae) kandungan hemiselulosa terbesar adalah galaktoglukomanan (15-20%), xilan (7-10%), dan gugus asetil. Xilan pada *softwood* memiliki cabang berupa unit arabinofuranosa yang dihubungkan oleh ikatan  $\alpha$ -(1,3)-glikosida (Gambar 2.3).



Gambar 2.1. Struktur Xilan dari Kayu Lunak dan Kayu keras. (a) struktur dasar arabino-4-O-metilglukuronoxilan dan (b) struktur dasar O-asetil-4-O-metilglukuronoxilan

Secara umum xilan terdiri dari rantai utama xilosa yang terikat pada  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 dan terdapat susbtituen arabinofuranosil, asam 4-O-metilglukoronat, atau asetil melalui proses esterifikasi (Haan dan Zyl, 2003). Contoh gymnospermae yang mengandung xilan adalah pinus, sedangkan angiospermae adalah padi, jagung, dan serealia lainnya.

Ditinjau dari segi industri, xilan mempunyai banyak kegunaan, diantaranya:

1. Dapat diubah menjadi xilosa
2. Menghasilkan fulfural, yang dapat digunakan sebagai pelarut dalam industri, disinfektan atau pengawet dan pelarut dalam penyulingan minyak bumi.

3. Sebagai substrat untuk memproduksi enzim xilanase, yang sangat bermanfaat dalam industri pangan antara lain meningkatkan mutu produk makanan dan minuman

(Richana *et al.*, 2004)

### 2.3.2 Ekstraksi Xilan

Ekstraksi merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan pelarut tertentu. Prinsip dasar ekstraksi adalah distribusi komponen dalam dua fase yang saling tidak bercampur dengan cara melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non-polar dalam pelarut non-polar. Ekstraksi berlangsung dengan adanya interaksi antara pelarut dengan sampel dan xilan berpindah dari jaringan ke dalam pelarut (Harborne, 1987).

Xilan diekstrak dari bahan berlignoselulosa. Bahan berlignoselulosa merupakan komponen organik di alam yang terdiri dari tiga polimer, yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Beberapa pelarut dapat digunakan untuk mengekstraksi xilan, diantaranya adalah natrium hidroksida (NaOH), ammonium hidroksida (NH<sub>4</sub>OH), dan kalium hidroksida (KOH). Menurut Richana *et al.*, (2004), xilan dapat larut dalam larutan alkali (NaOH atau KOH sebesar 2 – 15%). Pemilihan pelarut didasarkan pada beberapa hal, yaitu berdasarkan sifat dan jumlah pelarut. Sifat pelarut yang dipilih adalah pelarut yang selektif (Gamse, 2002). Menurut Hespell (1998), diantara ketiga pelarut tersebut yang paling baik adalah NaOH karena menghasilkan xilan yang relatif bersih dari pengotor.

Ekstraksi xilan dari tongkol jagung dilakukan oleh Anggraini (2003). Kadar xilan yang diperoleh sebesar 31,94%. Tahapan proses ekstraksi xilan dari limbah berlignoselulosa sebagai berikut:

#### 1. Delignifikasi

Proses delignifikasi dilakukan menggunakan pelarut natrium hipoklorit (NaOCl) karena pelarut tersebut mengandung ion-ion yang mampu memecah ikatan karbon dalam struktur lignin sehingga lignin akan terpisah dari selulosa dan

hemiselulosa Lignin tersusun atas jaringan polimer fenolik yang berfungsi melekatkan serat selulosa dan hemiselulosa sehingga menjadi sangat kuat (Sun dan Jiayang, 2002).

## 2. Ekstraksi xilan

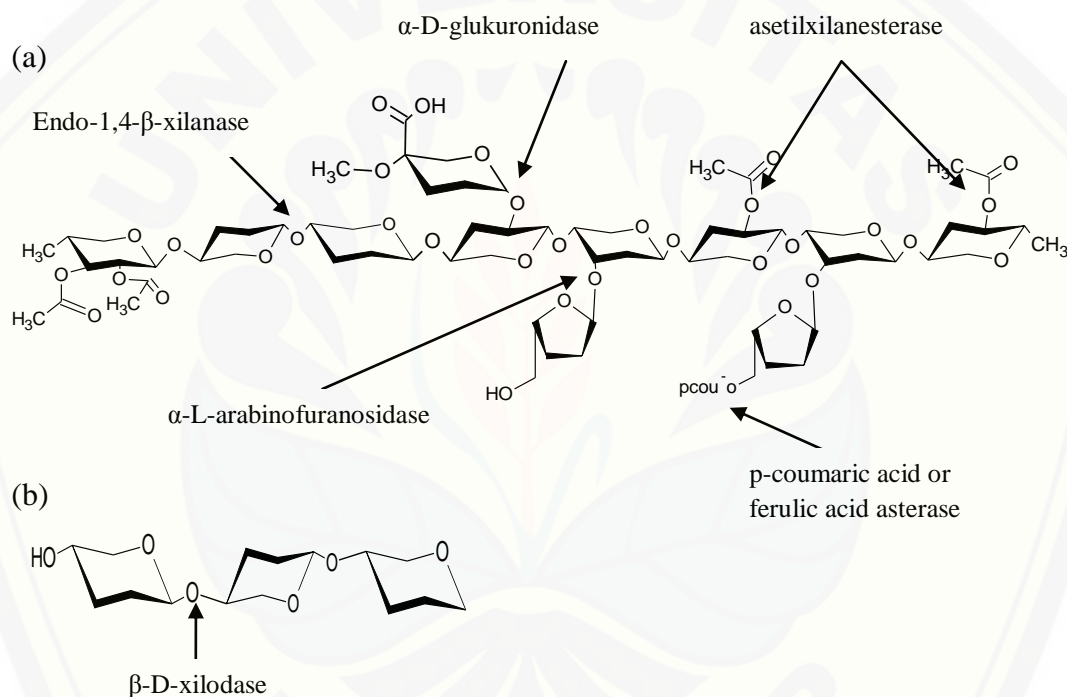
Padatan hasil delignifikasi direndam dalam larutan NaOH 10% selama 24 jam pada 28°C. Kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat yang dihasilkan diukur pH-nya dan dinetralkan dengan HCl 6M. Setelah dinetralkan, dilakukan sentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 8000 rpm untuk memisahkan endapan dengan supernatan. Xilan yang larut dalam supernatan dipisahkan dengan menambahkan etanol 95%. Xilan akan mengendap dalam etanol (Richana, 2007).

### 2.4 Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase

Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang dapat merombak xilan menjadi xilooligosakarida dan selanjutnya menjadi xilosa. Xilanase umumnya merupakan protein kecil dengan berat molekul antara 15.000–30.000 Dalton, aktif pada suhu 55°C dengan pH 9. Pada suhu 60°C dan pH normal, xilanase lebih stabil. Xilanase dapat diklasifikasikan berdasarkan substrat yang dihidrolisis yaitu  $\beta$ -xilodase, eksoxilanas, dan endoxilanase.  $\beta$ -xilodase merupakan xilanase yang mampu menghidrolisis xilooligosakarida rantai pendek menjadi xilosa. Eksosilanase merupakan xilanase yang mampu memutus rantai polimer xilosa (xilan) pada ujung reduksi, sehingga menghasilkan xilosa sebagai produk utama dan oligosakarida rantai pendek. Endoxilanase merupakan enzim yang dapat memutus ikatan  $\beta$  1-4 pada bagian dalam rantai xilan secara teratur (Richana, 2002).

$\beta$ -endoxilanase (1,4- $\beta$ -D-xilanxilanohidrolase, EC.3.2.1.8) termasuk klasifikasi enzim xilanolitik. Pada umumnya enzim ini dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri dan jamur, namun beberapa dapat dihasilkan dari tumbuhan dan hewan (Ratnadewi *et al.*, 2007). Aktivitas xilanase dalam merombak xilan sangat diperlukan untuk pertumbuhan mikrobial di alam. Enzim xilanolitik sangat

potensial dalam beberapa aplikasi di bidang bioteknologi. Aktivitas xilanase dalam merombak xilan sangat diperlukan untuk pertumbuhan mikrobia di alam. Enzim xilanolitik sangat potensial dalam beberapa aplikasi di bidang bioteknologi. Aplikasi xilanase secara komersial digunakan dalam industri makanan dan pemanfaatan limbah pertanian untuk produksi xilosa. Pada industri pulp dan kertas, xilanase dapat menggantikan klorin yang digunakan dalam proses pemutihan bubur kertas (Sjostrom, 1981).



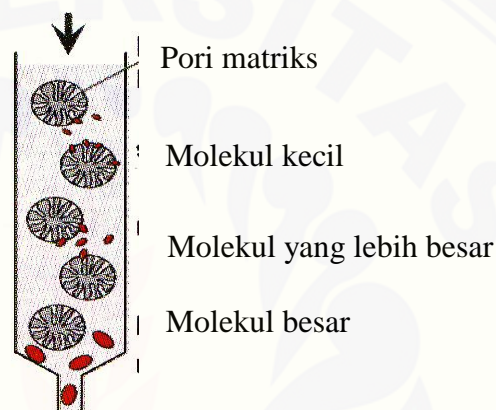
Gambar 2.2 (a) Struktur xilan dan sisinya yang diserang oleh enzim xilanolitik. (b) Hidrolisis xilooligosakarida oleh  $\beta$ -xilodase. (Collin *et al.*, 2005).

## 2.5 Kromatografi

### 2.5.1 Kromatografi Filtrasi Gel

Kromatografi filtrasi gel digunakan untuk memisahkan molekul-molekul yang larut dalam air berdasarkan perbedaan ukuran atau berat molekul yang melewati

kolom dengan media gel (Skoog *et al.*, 2004). Gel atau matriks terbentuk dari polimer melalui ikatan silang untuk membentuk jaringan tiga dimensi. Contohnya adalah gel *sephadex* yang terbentuk melalui ikatan silang dextran dengan epiklorohidrin. Matriks yang digunakan pada kromatografi gel bermacam – macam jenis dan penggunaannya yang sesuai dengan ukuran molekul yang akan dipisahkan. Matriks berfungsi sebagai fase diam memiliki pori yang seragam sehingga pelarut dan analit dapat berdifusi.



Gambar 2.3 Proses elusi pada kromatografi filtrasi gel (Manz *et al.*, 2004).

Pemisahan terjadi jika pori sesuai dengan ukuran molekul yang melewati gel. Molekul secara efektif akan terjebak di dalam pori dan terpisah dari aliran pelarut. Molekul dengan ukuran yang besar tidak dapat melewati pori gel sehingga akan terelusi paling awal bersamaan dengan fase gerak. Molekul yang lebih kecil akan memasuki pori dan terjebak pada waktu yang lebih lama tergantung pada ukuran dan bentuk dari molekul. Molekul yang jauh lebih kecil dari ukuran pori akan memasuki pori dan terelusi dengan waktu yang paling lama (Manz *et al.*, 2004).

#### 2.5.2 Kromatografi Lapis tipis (KLT)

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas). Fase diam akan menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran.

Komponen yang mudah tertahan pada fase diam akan tertinggal, sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat (Haqiqi, 2008).

Kandungan senyawa kimia dalam suatu tanaman dapat diketahui dengan menggunakan metode KLT (kromatografi lapis tipis). Kromatografi lapis tipis dapat dipakai dengan tujuan sebagai metode untuk mencapai hasil kualitatif (letak, warna, bentuk, dan ukuran suatu bercak) (Rengginasti, 2008). Pelarut yang dipilih untuk pengembangan dalam KLT disesuaikan dengan sifat kelarutan senyawa yang dianalisis. Bahan lapisan tipis seperti silika gel adalah senyawa yang tidak bereaksi dengan pereaksi-pereaksi yang lebih reaktif seperti asam sulfat (Gritter, 1991).

Pelaksanaan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan sebuah lapis tipis silika atau alumida yang seragam pada sebuah lempeng gelas atau logam atau plastic yang keras. Jel silika (atau alumina) merupakan fase diam. Fase diam untuk KLT seringkali juga mengandung substansi yang mana dapat berpendar *flour* dalam sinar ultraviolet. Fase gerak merupakan pelarut atau campuran pelarut yang sesuai (Haqiqi, 2008). Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30  $\mu\text{m}$ . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya. Penjerap yang paling sering digunakan adalah silika dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi yang utama pada KLT adalah adsorpsi dan partisi (Gritter, 1991).

Data yang diperoleh dari KLT adalah  $R_f$  yang berguna untuk identifikasi senyawa. Nilai  $R_f$  untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan nilai  $R_f$  senyawa standar. Nilai  $R_f$  didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal. Oleh karena itu bilangan  $R_f$  selalu lebih kecil dari 1,0 (Gritter, 1991). Secara matematis dapat ditulis:

$$R_f = \frac{l}{h}$$

dimana:  $l$  = jarak noda dari titik awal ke titik akhir setelah proses pengembangan

$h$  = jarak eluen dari titik awal ke batas akhir eluen.

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapis tipis sehingga mempengaruhi harga  $R_f$  antara lain struktur kimia senyawa yang dipisahkan, sifat penyerap, tebal dan kerapatan lapisan penyerap, pelarut (fasa gerak), derajat kejenuhan, teknik pemisahan, jumlah cuplikan, dan suhu (Sastrohamidjojo, 1991 ).

Faktor-faktor yang mempengaruhi harga  $R_f$  (Sastromidjoyo, 1991) adalah:

- a. Struktur senyawa yang sedang dipisahkan.
- b. Sifat adsorben, jenis adsorben, dan derajat aktivitasnya.
- c. Tebal dan kerataan lapisan adsorben.
- d. Pelarut fasa gerak (dan tingkat kemurniannya).
- e. Derajat kejenuhan dan uap dalam bejana pengembangan yang digunakan.
- f. Teknik percobaan.
- g. Jumlah cuplikan yang digunakan. Penetasan jumlah cuplikan yang berlebihan memberikan tendensi penyebaran noda-noda dengan kemungkinan terbentuknya ekor.
- h. Suhu, untuk mencegah perubahan-perubahan dalam komposisi pelarut yang disebabkan oleh penguapan-penguapan atau perubahan-perubahan fasa.

### 2.5.3 Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan satu metode kromatografi cair yang menggunakan fasa diam yang ditempatkan dalam kolom tertutup dan juga fasa geraknya berupa pelarut yang dialirkan dengan cepat ke dalam kolom dengan bantuan pompa/ tekanan (Anshori, 2007).

Prinsip kerja dari KCKT adalah adanya perbedaan interaksi antara analit dengan fase diam dan fase gerak. Analit yang kurang kuat berinteraksi dengan fasa diam akan keluar lebih dulu dari kolom, sedangkan analit yang berinteraksi kuat dengan fasa diam maka akan keluar lebih lama. Setiap komponen campuran yang keluar dari kolom dideteksi oleh detektor dan informasi ditampilkan dalam bentuk kromatogram (Hendayana, 2010). Kemampuan proses kromatografi untuk



memisahkan dua komponen dalam sampel disebut resolusi. Semakin besar nilai resolusi yang dihasilkan menunjukkan senyawa – senyawa dalam sampel dapat dipisahkan dengan baik (Holme Peck, 1998).

Indeks refraktif biasanya digunakan sebagai detektor pada KCKT karena sifatnya yang universal dan cukup sensitif. Alternatif detektor lainnya adalah spektrofotometer UV yang juga cukup sensitif. Detektor UV dapat diatur pada panjang gelombang tertentu yang sensitif terhadap sampel, atau aliran eluen dapat dipisah sehingga dapat mengalirkan hanya bagian yang diinginkan untuk di deteksi (Miller, 1959).

Menurut Putra (2004), banyak kelebihan metode ini jika dibandingkan dengan metode lainnya, yakni :

1. Mampu memisahkan molekul – molekul dari suatu campuran
2. Mudah melaksanakannya
3. Kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi
4. Dapat dihindari terjadinya dekomposisi/ kerusakan bahan yang dianalisis
5. Resulasi yang baik
6. Dapat digunakan bermacam – macam detector
7. Kolom dapat digunakan kembali
8. Mudah melakukan *sample recovery*

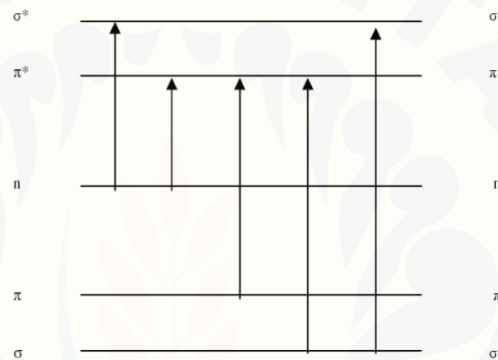
#### 2.5.4 Spektrofotometri Ultraviolet-Visible (UV-Vis)

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380) dan sinar tampak (380-780) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif ketimbang kualitatif (Mulja dan Suharman, 1995).

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Peralatan yang

digunakan dalam spektrofotometri disebut spektrofotometer. Cahaya yang dimaksud dapat berupa cahaya visibel, UV dan inframerah, sedangkan materi dapat berupa atom dan molekul namun yang lebih berperan adalah elektron valensi.

Proses absorbs cahaya UV – Vis berkaitan dengan promosi elektron dari satu orbital molekul dengan tingkat energi elektronik tertentu ke orbital molekul lain dengan energi elektronik yang lebih tinggi. Transisi elektronik tersebut biasanya adalah  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $\sigma^* \rightarrow \sigma^*$  atau  $n \rightarrow \sigma^*$  (bersesuaian dengan energi cahaya UV), dan  $\pi \rightarrow \pi^*$  atau  $n \rightarrow \pi^*$  (bersesuaian dengan energi cahaya Vis) (Siswoyo & Asnawati, 2007).



Gambar 2.4 Level Energi Elektronik dan Keadaan Transisi (Pavia *et al.*, 2001).

Menurut Day & Underwood (1998), Komponen spektrofotometer terdiri dari:

1. Sumber cahaya, yaitu energi radiasi yang berkesinambungan yang meliputi daerah spektrum sinar tampak berupa kawat wolfram.
2. Monokromator, yaitu suatu alat yang berfungsi untuk memilih panjang gelombang yang diinginkan.
3. Sel, yaitu wadah sampel yang terbuat dari bahan yang dapat meneruskan energi radiasi dari sumber cahaya.
4. Detektor, dalam spektrofotometer diinginkan detektor yang memiliki kepekaan tinggi pada daerah spektra yang diinginkan, respon yang linier terhadap daya radiasi, waktu respon yang cepat, dan kestabilan yang tinggi.
5. *Amplifier* atau suatu pengganda untuk memberikan isyarat listrik yang bisa dibaca.
6. *Reader* atau suatu sistem pembaca isyarat listrik dari *amplifier*.

## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilakukan mulai bulan Oktober sampai Februari dan tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Laboratorium Terpadu Fakultas Teknologi Pertanian, serta Laboratorium CDAST (*Centre of Development for Advance Science and Technology*) Universitas Jember.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian digolongkan menjadi peralatan gelas, peralatan bukan gelas, dan instrumen.

Peralatan gelas meliputi gelas Beaker, labu ukur, gelas ukur, pipet volume, pipet Mohr, pipet tetes, kolom dengan diameter 3 mm, cawan petri, tabung *sentrifugasi*, *chamber* persegi kromatografi, cawan petri, tabung reaksi, dan labu erlenmeyer berbagai volume.

Peralatan bukan gelas antara lain spatula logam, mistar, gunting, timer, jarum ose, *ball* pipet, lemari asam, pinset logam, pipet mikro, *sprayer*, bak alat, botol semprot, kertas label dan tisu.

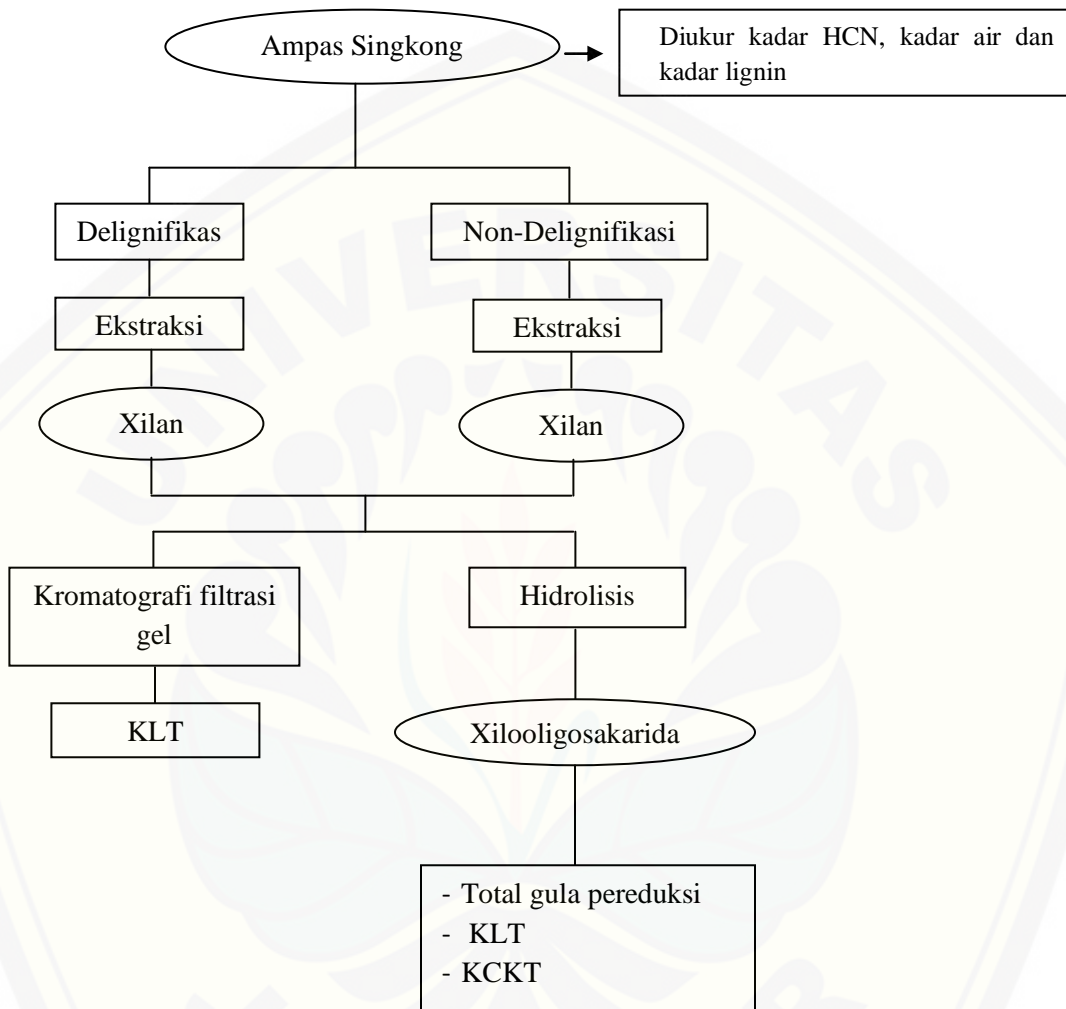
Instrumen meliputi neraca analitik, *stirrer magnet*, *hot plate*, kulkas, tabung *Eppendorf*, laminar bakteri, *autoclave*, *shaker incubator*, pH meter, statip, sentifuse, spektrofotometer UV-Vis dengan kuvet, sentrifuse dingin, oven, dan kantong dialisis.

#### 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ampas tahu, xilosa,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (E-Merck, Mr: 141,96 g/mol,  $\rho$ :1,70 g/mL), asam sitrat  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (E-Merck, Mr: 210,14 g/mol,  $\rho$ :1,50 g/mL), NaOH (E-Merck, Mr: 39,99 g/mol,

$\rho$ :2,10 g/mL), KnaTartrat  $C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$  (E-Merck, Mr: 282,1 g/mol,  $\rho$ :0,63 g/mL), asam 3,5-dinitrosalisilat(E-Merck),  $C_6H_5OH$  (E-Merck, Mr: 94,11 g/mol,  $\rho$ :1,07 g/mL),  $Na_2SO_3$ (E-Merck, Mr: 126,04 g/mol,  $\rho$ :1,56 g/mL), NaOCl (E-Merck),HCl (E-Merck), etanol (E-Merck, Mr: 46,07 g/mol,  $\rho$ :0,789 g/mL), larutan  $H_2SO_4$ (E-Merck, Mr: 98,07 g/mol,  $\rho$ :1,84 g/ml), $\alpha$ -naftol (Merck, Mr:144,17), 1-butanol (Merck, Mr:74,12 g/mol), asam asetat (Merck, Mr:60,05), silika gel 60F<sub>254</sub> (Merck, Darmstaad, Germany), Sephadex G-25, dan akuades

### 3.3 Diagram Alir Penelitian



### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Preparasi Sampel

Singkong dikupas kulitnya dan dicuci dengan air bersih, kemudian singkong diparut. Hasil parutan dicuci berulang dengan air mengalir dan diperas sampai patinya terpisah dari ampas. Kemudian ampas dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 65 °C. Setelah kering, ampas digiling menggunakan mesin penggiling sehingga ampas yang diperoleh berbentuk tepung. Ampas yang sudah digiling kemudian dikukus selama 30 menit. Setelah dikukus kemudian dikeringkan di ruang.

#### 3.4.2 Analisa Kandungan Air, HCN, dan Lignin

##### a. Penentuan Kadar Air pada Ampas Singkong (Wrolstad *et al.*, 2005)

Sebanyak 2 gram sampel ditempatkan pada cawan petri dan dipanaskan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 4 jam. Kemudian cawan petri yang berisi sampel didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Cawan petri dan sampel dipanaskan kembali pada suhu 105°C selama 1 jam. Cawan petri dan sampel didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan tersebut dilakukan berulang-ulang hingga berat sampel konstan. Presentase kadar air dihitung dengan menggunakan rumus 3.1.

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{a-b}{a} \times 100 \quad (3.1)$$

Keterangan; a = massa sampel sebelum pemanasan

b = massa sampel setelah pemanasan

##### b. Penentuan Kadar Asam Sianida (HCN) pada Ampas Singkong (Nebiyu & Getachew, 2011).

Pengukuran kadar HCN dilakukan dengan cara kertas pikrat direndam ke dalam sampel yang telah ditambahkan 5 mL akuades selama 30 menit. Kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 510 nm. Larutan blanko yang digunakan yakni asam pikrat direndam ke akuades tanpa sampel.

Kadar HCN total dihitung sebagai berikut:

$$\text{HCN total (ppm)} = 396 \times \text{absorbansi} \quad (3.2)$$

c. Penentuan Kadar Lignin pada Ampas Singkong (Adaganti *et al.*, 2014)

Sebanyak 1 gram sampel ditempatkan pada beaker gelas 100 mL dan ditambahkan 15 mL asam sulfat 72% (v/v). Campuran larutan didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Larutan dituang kedalam tabung Erlenmeyer 1L dan ditambah dengan 560 mL akuades. Larutan diautoclave selama 2 jam dan endapan yang terbentuk disaring. Selanjutnya, endapan dikeringkan pada suhu 40 °C sampai berat konstan dan ditimbang. Presentase kadar lignin dihitung dengan menggunakan persamaan 3.3.

$$\% \text{ Kadar lignin} = \frac{\text{berat endapan yang terbentuk}}{\text{berat sampel awal}} \times 100 \quad (3.3)$$

### 3.4.3 Delignifikasi dan Ekstraksi Xilan dari Ampas singkong

#### a. Delignifikasi

5 gr sampel direndam dengan larutan NaOCl 0,5% pada suhu 28<sup>0</sup>C selama 5 jam. Kemudian dibilas dengan akuades dan disaring. Padatan yang diperoleh digunakan untuk ekstraksi xilan pada sub bab 3.4.3.b

#### b. Ekstraksi Xilan dari Ampas Singkong

Padatan yang dihasilkan direndam dalam larutan NaOH dengan variasi konsentrasi 4, 8, 12, 16, dan 18% (b/v) selama 24 jam pada suhu 28<sup>0</sup>C kemudian disaring. Supernatan yang dihasilkan diukur pH-nya menggunakan pH meter. Kemudian supernatan dinetralkan dengan menambahkan tetes demi tetes HCl 6 N sampai pH netral (pH = 7) dan disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifugasi dipisahkan dengan cara dekantasi. Kemudian supernatan ditambahkan etanol 95% dengan perbandingan 1:3 (supernatant : etanol) dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Endapan yang diperoleh dikeringkan pada suhu 40<sup>0</sup>C sampai beratnya konstan (Richana *et al.*, 2007).

Berat xilan dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Rendemen xilan (\%)} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\% \quad (3.4)$$

#### 3.4.4 Kromatografi Filtrasi Gel dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Ratnadewi *et al.*, 2007)

Xilan hasil ekstraksi dikromatografi filtrasi gel. Xilan dilarutkan dengan buffer. Fase diam yang digunakan adalah Sephadex G25. Sampel sebanyak 1000  $\mu\text{l}$  dialirkan ke dalam kolom dan *buffer* dielusikan (@ 200  $\mu\text{l}$ ) ke dalam kolom kromatografi gel. Eluen yang keluar dari kolom ditampung pada tabung *eppendorf* setiap 200  $\mu\text{l}$  hingga dihasilkan beberapa fraksi.

Fraksi yang dihasilkan diuji dengan KLT untuk menguji adanya xilan. Sebanyak 8 $\mu\text{l}$  (pada masing-masing fraksi) ditotolkan pada plat silika yang sudah diberi tanda nomor pada tempat penotolannya. Eluen yang digunakan adalah 1-butanol:asetat:akuades (2:1:1, v/v/v). Plat silika dimasukkan ke dalam *chamber* yang diisi dengan eluen. Elusi dilakukan hingga 1,5 cm di bawah tepi atas plat silika. Plat diambil dan dikeringkan selama 30 menit. Spot yang dihasilkan divisualisasikan dengan menyemprotkan larutan naftol dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dalam etanol kemudian dioven pada suhu 100<sup>0</sup>C selama 5 menit (Ratnadewi *et al.*, 2007).

#### 1.4.5 Analisis Produk Hidrolisis Xilan dari Ampas Singkong

##### a. Pembuatan Kurva Standar Xilosa

Larutan standar xilosa disiapkan dengan konsentrasi yang berbeda (0,25-1,25 mg/ml dengan selisih 0,05 mg/mL). Sebanyak 250  $\mu\text{L}$  dari masing-masing konsentrasi dicampurkan dengan 750  $\mu\text{L}$  reagen DNS dalam tabung reaksi. Campuran ini dipanaskan dalam air mendidih selama 20 menit dan langsung didinginkan dalam air es selama 20 menit. Warna yang dihasilkan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm dan dibuat grafik antara sumbu *x* (konsentrasi xilosa) dan sumbu *y* (nilai absorbansi).



## b. Hidrolisis Xilan Dengan Optimasi Waktu Inkubasi

Sebanyak 125 $\mu$ L enzim endoxilanase ditambahkan dengan 125  $\mu$ L substrat (0,5% b/v) xilan dari ampas singkong dalam buffer fosfat-sitrat pH 5. Kemudian diinkubasi dalam *waterbath* pada 40<sup>0</sup>C dengan variasi waktu inkubasi 5 jam, 10 jam, 16 jam, 20 jam, dan 24 jam. Produk hidrolisis dianalisis dengan metode DNS, KLT dan KCKT.

### ➤ Analisis Total Gula pereduksi

Produk hidrolisis yang dihasilkan pada tiap-tiap waktu inkubasi, selanjutnya ditambahkan masing-masing 600 $\mu$ L larutan DNS dan dipanaskan pada suhu 100<sup>0</sup>C dalam *waterbath* selama 15 menit. Setelah dipanaskan, larutan didinginkan dalam air es selama 20 menit. Warna yang dihasilkan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm.

### ➤ Kromatografi Lapis Tipis

Sebanyak 8 $\mu$ l (pada masing-masing waktu inkubasi) ditotolkan pada plat silika yang sudah diberi tanda nomor pada tempat penotolannya. Eluen yang digunakan adalah 1-butanol: asetat: akuades (2:1:1, v/v/v). Plat silika dimasukkan ke dalam *chamber* yang diisi dengan eluen. Elusi dilakukan hingga 1,5 cm di bawah tepi atas plat silika. Plat diambil dan dikeringkan selama 30 menit. Spot yang dihasilkan divisualisasikan dengan menyemprotkan larutan naftol dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam etanol kemudian dioven pada suhu 100<sup>0</sup>C selama 5 menit (Ratnadewi *et al.*, 2007).

### ➤ Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi (KCKT)

#### - Uji Larutan Standar Xilooligosakarida

Larutan standar xilan sebanyak 10  $\mu$ L pada konsentrasi 100 ppm diinjeksikan ke dalam kromatografi dan dielusi menggunakan air dengan kecepatan alir 0,8mL/menit. Instrumen yang digunakan yaitu KCKT dengan jenis kolom C<sub>18</sub> sebagai fase diam, fase gerak : air, volume injeksi sebanyak 10  $\mu$ L, detektor refraktif indeks dengan kecepatan alir 0,8 mL/menit (Richana *et al.*, 2007).

#### - Deteksi Produk Hidrolisis Xilan dari Ampas Singkong

Larutan sampel sebanyak 10  $\mu\text{L}$  diinjekkan ke dalam kromatografi dan dielusi menggunakan air dengan kecepatan alir 0,8mL/menit. Instrumen yang digunakan yaitu KCKT dengan jenis kolom  $\text{C}_{18}$  sebagai fase diam, fase gerak : air, volume injeksi sebanyak 10  $\mu\text{L}$ , detektor refraktif indeks dengan kecepatan alir 0,8 mL/menit. Analisis kuantitatif dilakukan dengan membandingkan puncak kromatogram xilan uji dan luas puncak kromatogram larutan baku xilan terhadap konsentrasi larutan baku (Rihanna et al., 2007):

$$\text{Kadar sampel} = \frac{\text{luas area sampel}}{\text{luas area standar}} \times \text{kadar standar} \quad (3.5)$$

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

1. Terdapat 2 sampel xilan yang dihasilkan dari proses ekstraksi yaitu xilan dari ampas singkong yang telah didelignifikasi dan xilan dari ampas singkong tanpa delignifikasi. Konsentrasi NaOH 12% menghasilkan rendemen xilan paling tinggi pada sampel delignifikasi dan non-delignifikasi yaitu sebesar 32,14% dan 52,36%. Rendemen xilan pada sampel non-delignifikasi lebih tinggi dari pada sampel delignifikasi karena lignin pada sampel ikut terekstrak.
2. Xilan dari ampas singkong dapat digunakan sebagai substrat enzim endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang ditunjukkan dengan dihasilkannya produk hidrolisis. Hal ini berdasarkan analisis total gula pereduksi sebesar 3,533 mg/mL dan analisis KCKT. Dari hasil analisis KCKT diperoleh informasi jenis xilooligosakarida serta kadarnya yaitu X5 (5591,15 ppm), X4 (35,17 ppm), X3 (89,80 ppm) dan X1 (7,43 ppm).
3. Waktu inkubasi optimum xilan dari ampas singkong adalah 16 jam dengan konsentrasi total gula reduksi sebesar 3,533 mg/mL pada sampel delignifikasi dan 3,389 mg/mL pada sampel non-delignifikasi.

### 5.2 Saran

1. Sampel yang akan diekstraksi xilannya sebaiknya dilakukan steam dan delignifikasi terlebih dahulu untuk memperoleh berat xilan lebih banyak.
2. Xilan hasil ekstraksi belum diketahui kadarnya sehingga perlu dilakukan penentuan kadar xilan
3. Xilan hasil ekstraksi belum diketahui jenis xilannya sehingga perlu dilakukan analisis penentuan jenis xilan

4. Xilan hasil ekstraksi belum diketahui derajat polimerisasi (DP) sehingga perlu dilakukan analisis penentuan DP
5. Analisis jenis dan kadar xilooligosakarida menggunakan KCKT, sebaiknya dilakukan pengukuran berulang untuk memperoleh data yang lebih kuat.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Adaganti, S. Y., Kulkarni, B. M., Desai, G. P., & Shanmukhappa, S. 2014. Isolation and Characterization of Lignin obtained from *Calliandra calothyrsus* Shrub using FT-IR Spectroscopy. *International journal of Current Engineering and Technology*, Vol 4: No. 2.
- Agustina, S.W. 2002. *Penetapan Kadar Xilan Dari Berbagai Limbah Industri Pertanian Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Skripsi. Jakarta: Universitas Pancasila
- Akaracharanya, A., Jutarat K., Natchanun, L., Teerapatr, S., Vichien, K., & Vasana, T. 2010. Evaluation of the waste from cassava starch production as a substrate for ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Annals of Microbiology*.61: 431-434
- Al-Anshori, J. 2007.*HPLC (High Performance Liquid Chromatography)*. Bandung: Universitas Padjajaran
- Amenaghawon, N. A., Samuel, E.O., & Charity, O.O. 2014. Application of Statistical Experimental Design for the Optimisation of Dilute Sulphuric Acid Hydrolysis of Cassava Bagasse. *Acta Polytechnica Hungarica*. 11: 242-243
- AOAC. 1984. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist Vol. IIA. AOAC Int.* Washington.
- Askurrahman. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Linamaras Hasil Isolasi dari Umbi Singkong (*Manihot esculenta crantz*).*AGROINTEK*: Vol IV.
- Badan Pusat Statistika. 2012. *Luas Produktivitas Tanaman Ubi Kayu di Seluruh Provinsi Tahun 2012*. Badan Statistika.
- Bradbury, M.G., Sylvia, E.,& Bradbury, J.H. Picrate Paper Kits For Determination Of Total Cyanogens In Casava Roots And All Forms Of Cyanogens In Casava. *Science Of Food and Agricultur*. 79: 593- 595

- Collins, T., Charles, G., & Georges, F. 2005. Xylanases, Xylanase Families and Extremophilic Xylanases. *FEMS Microbiology Reviews* 29 (2005) 3 – 23.
- Day, R. A., & Underwood, A. L. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Keenam*. Jakarta: Erlangga.
- Food Standart Australia New Zealand. 2005. Cyanogenic Glycosidies In Cassava And Bamboo Shoots. *A Human Health Risk Assessment*. Technical Series N0.28: 8-9
- Gamse, T. 2002. *Liquid - liquid Extraction and Solid - Liquid Extraction*. Institute of Thermal Process and Enviromental Engineering. Graz University of Tecnology. hal.2-24.
- Gritter, R. J., J. M. Bobbit, & A. E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Bandung: ITB
- Gong C.S., Michael C.F. & George T.S. 1981. Conversion of Hemicellulose Carbohydrates. *Advances in Biochemical Engineering* Vol.20.
- Haan, R. D. & Van Zyl, W. H. V. 2003. Enhanced Xylan Degradation and Utilisation by *Pichia stipitis* Overproducing Fungal Xylanolytic Enzymes. *Journal of Enzyme and Microbial Technology*, 33 (5): 620–628.
- Haqiqi, S. H. 2008. *Kromatografi Lapis Tipis*. Bandung: ITB
- Harborne, J. B., 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB.
- Hartati, I., L. Kurniasari., & M.E. Yulianto. 2008. Inaktivasi Enzimatis Pada Produksi Linamarin Dari Daun Singkong Sebagai Senyawa Anti Neoplastik. *Momentum*. Vol. 4, No. 2: 1-2
- Hendayana, S. 2010. Kimia Pemisahan: *Metode Kromatografi Modern dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Hespell, B. 1998. Extraction and Characterization of Hemicellulose from The Corn Fiber Produced by Corn Wet-Milling Processes. *Journal of Agriculture & Food Chemistry*, 46: 2615-2619.
- Holme, D. J., & Peck, H. 1998. *Analitycal Biochemistry*. Third Edition. Singapore: Singapore Publisher Ltd.

- Hsu, W.E., Schwald W, Schwald, J & Shields, J.A. 2010. Chemical and physical changes required for producing dimensionally stable wood-based composites. *Wood Science and Technology* 22:281-289.
- Jiang, Z. Q., Deng, W., Zhu, Y. P., Sheng, Y.J., & Hayashi, K. 2004. The Recombinant Xylanase B of *Thermotoga maritima* is Highly Xylan Specific 46 and Produces exclusively Xylobiose from Xylans, a Unique Character for Industrial Applications. *J. Mol Catal B Enzym*, 27: 13-207.
- Juliarti, E., & Iis, A. 2013. Optimasi Penambahan Nutrien Terhadap Kadar Protein Pada Fermentasi Pada Kulit Ubi Kayu Menggunakan *Response Surface Methods* (RSM). *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri* Vol. 2, No. 2, Halaman 25 – 32.
- Kulkarni, N.A., Shendye, & M. Rao. 1999. Molecular And Biotechnological Aspects of Xylanase. *FEMS Microbiol.Rev.* 23: 411-415.
- Kurniawan, A. A. 2015. “Optimasi Kondisi Hidrolisis Xilan *Oat* dengan Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal Mikroorganisme dalam Sistem Abdominal Rayap untuk Produksi Xilooligosakarida”. Skripsi. Universitas Jember.
- Manz, A., Pamme, N., & Iossifidis, D. 2004. *Bioanalytical Chemistry*. Singapore: Imperial Cilage Press
- Marlina, Nina. 2000. *Analisis Sianida Dalam Singkong Dengan Metode Lian Dan Hamir Yang Dimodifikasi*. Bogor: Balai Penelitian Ternak
- Masnia, L. 2014. “Pemurnian Produk Hidrolisis Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus sp.* dengan Kromatografi Filtrasi Gel”. Skripsi. Universitas Jember.
- Meryandini, A., Nunuk, W., & Yulin, L. 2008. Pemurnian Dan Karakterisasi Xilanase *Streptomyces sp.* SKKI-8. *Makara, Sains*. Vol 12 No. 2: 55-56
- Miller, G.R. 1959. *Use of Dinitrosalicylic Reagen for Determination of Reducting Sugar*. *Journal of Analytical Chemistry*, 31: 426-428.
- Mulja, M., & Suharman. 1995. *Analisis Instrumen*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Murdiana, A. & Sukati S. 2001. Kadar sianida Dalam Sayuran Ubi-Umbian Di Daerah Gangguan Akibat Kurang Yodium (GAKY). *PGM*. 24: 34-36

- Naufalina, R. & Condro W. 2004. Pemanfaatan Hasil Samping Pengolahan Tepung Tapioka Untuk Pembuatan Nata *De Cassava*. *Teknologi Dan Industri Pangan*. Vol XV:153
- Nebiyu, A., & Esubalew G. 2011. Soaking and Drying of Cassava Roots Reduced Cyanogenic Potential of Three Cassava Varieties at Jimma, Southwest Ethipioa. *World Journal of Agricultural Sciences* 7(4): 439 – 443.
- Pambayun, R. 2007. *Kiat Sukses Teknologi Pengolahan Umbi Gadung*. Yogyakarta: Ardana Media.
- Pandey, A., Carlos R.S., Poonam, N., Vanete, T. S., Luciana, P.S., Vandenberghe., & Radjiskumar, M. 2000. Biotechnological potential of agro-industrial residues. II: cassava bagasse. *Bioresource Technology*. 74: 82-84
- Pavia, L., Lampman, G., & George, S. 2001. *Introduction to Spectroscopy: a Guide for Students or Organic Chemistry*. Philadelphia :Harcourt College.
- Prabawati S. 2011. *Inovasi Pengolahan Singkong Meningkatkan Pendapatan dan Diversifikasi Pangan*. Bogor: Sinar Tani
- Purwono. 2009. *Budidaya 8 Jenis Tanaman Unggul*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Putra, E. 2004. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi*. Sumatera Utara : FMIPA UNSU.
- Putri, N. E. 2008. “Produksi Xilitol dari Hidrolisat Tongkol Jagung oleh Khamir Penghasil Enzim Xylose Reductase (XR)”. Skripsi. Universitas Indonesia.
- Ratnadewi, A. A. I., Handayani, W., & Puspaningsih, N. N. T. 2007. Produksi dan Karakterisasi, Enzim  $\beta$ -Endoxilanase dari Bakteri Sistem Intestinal Rayap. *Jurnal Ilmu Dasar*, 8(2): 110-117.
- Rengginasti, A.D. 2008. *Pemisahan Senyawa Minyak Atsiri Rimpang Lempuyang Gajah (Zingger zerumbet) Secara Kromatografi Lapis Tipis Dan Aktivitasnya Terhadap Malassezia Furfur In Vitro*. Skripsi. Universitas Diponegoro
- Retnowati, D. & Rini, S. 2009. *Pemanfaatan Limbah Padat Ampas Singkong dan Lindur Sebagai Bahan Baku Pembuatan Etanol*. Skripsi. Semarang: Universitas Diponegoro
- Richana, N. 2002. Produksi dan Prospek Enzim Xilanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia. *Buletin AgroBio* 5(1) : 29 – 36.



- Richana, N., Pia, L., & Tun T. 2004. Karakterisasi Lignoselulosa Dari Limbah Tanaman Pangan Dan Pemanfaatannya Untuk Pertumbuhan Bakteri RXA III-5 Penghasil Xilanase. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan Vol. 23 No.3 2004*.
- Richana, N., Tun T.I., M. Anwar Nur., Illah S., Khaswar S & Yandra A. 2007. Ekstraksi Xilan Dari Tongkol Jagung. *Pascapanen*. 4: 38-37
- Roy J. G., James M. B., & Arthur E. S., 1991. Pengantar Kromatografi. Penerbit ITB. Bandung
- Sastrohamidjojo H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta : Liberty.
- Siswoyo & Asnawati. 2007. *Analisis Spektrometri*. Jember : Universitas Jember.
- Sjostrom, E. 1981. *Wood Chemsitry Fundamentals and Applications*. New York: Academic Press.
- Sjostrom, E. 1995. Wood Chemistry. Jilid II. Diterjemahkan oleh Hardjono S. UGM Press, Yogyakarta.
- Skoog, West, Holler, & Crouch. 2004. *Fundamental of Analitical Chemistry*. Eighth Edition. Canada: Cengage Learning.
- Sudiyono. 2010. Penggunaan  $\text{Na}_2\text{HCO}_3$  Untuk Mengurangi Kandungan Asam Sianida (HCN) Koro Benguk Pada Pembuatan Koro Benguk Goreng. *AGRIKA*. Vol 4 No 1: 48-51
- Sun, Ye & Jiayang, C. 2002. Hydrolysis Of Lignocellulosic Materials For Ethanol production. *Bioresource Technology*. Vol 83: 1-9
- Taherzadeh, M.J. & Keikhosro, K. 2008. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *Molecular Science*. 9: 1621-1651
- Yoshida, S., Satoh, T., Shimokawa, S., Oku, T., Ito, T., & Kusakabe, I. 1994. Substrate Specifity of *Strepyomyces  $\beta$ -Xylanase* toward Glucoxylan. *Biosci.Biotech. Biochem*, 58(6): 1041-1044.
- Yuningsih. 2009. Perlakuan Penurunan Kandungan Sianida Ubi Kayu untuk Pakan Ternak. *Pertanian Tanaman Pangan*. 28: 58-59

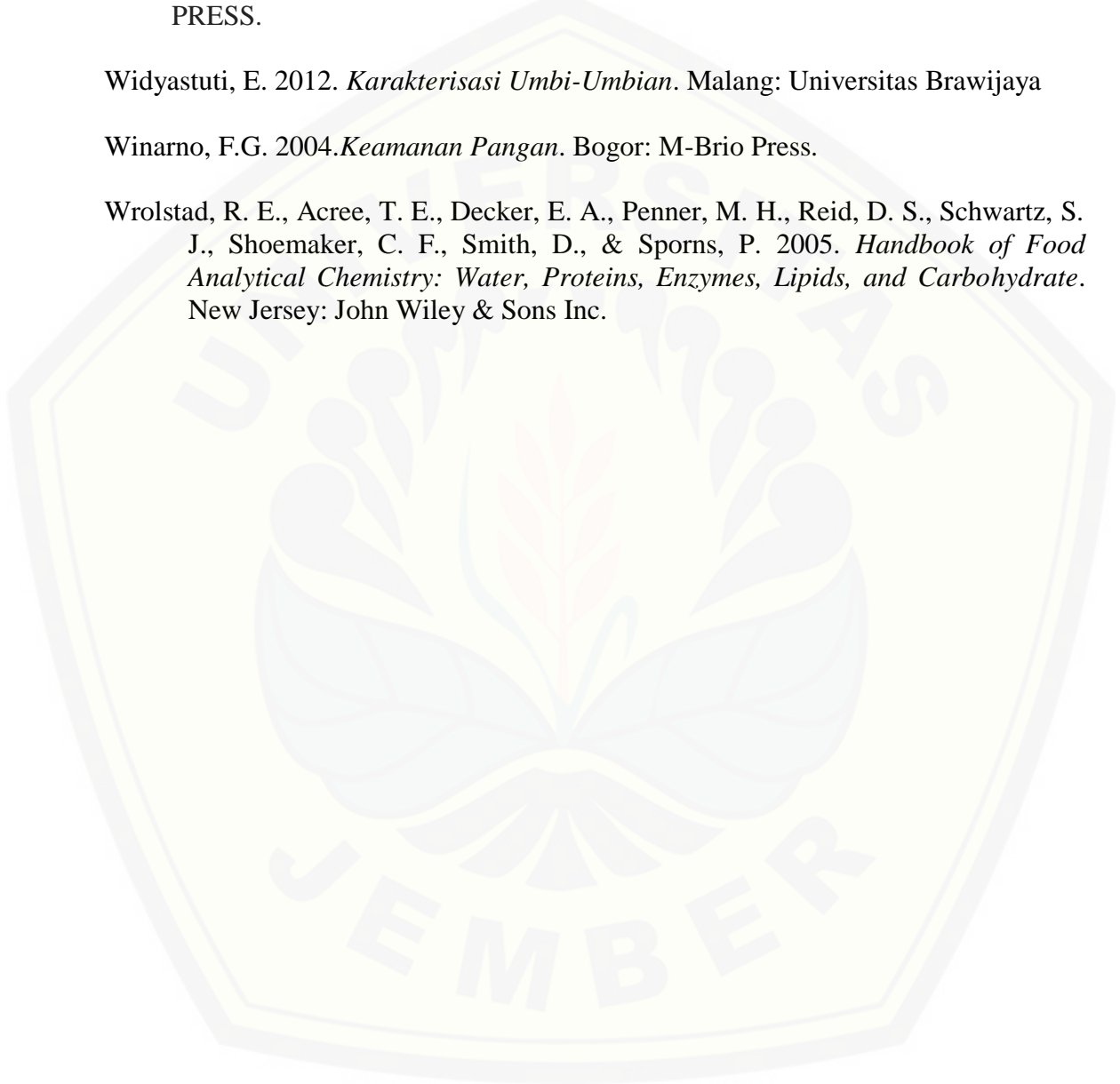
Whistler, R.L. 1950. Xylan. *Advances in Carbohydrate Chemistry. General Polysaccharides*. Volume 5. Academic Press, New York

Widodo, W. 2005. *Tanaman Beracun dalam Kehidupan Ternak*. Malang : UMM PRESS.

Widyastuti, E. 2012. *Karakterisasi Umbi-Umbian*. Malang: Universitas Brawijaya

Winarno, F.G. 2004. *Keamanan Pangan*. Bogor: M-Brio Press.

Wrolstad, R. E., Acree, T. E., Decker, E. A., Penner, M. H., Reid, D. S., Schwartz, S. J., Shoemaker, C. F., Smith, D., & Sporns, P. 2005. *Handbook of Food Analytical Chemistry: Water, Proteins, Enzymes, Lipids, and Carbohydrate*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.



## Lampiran

### Lampiran A. Pembuatan Larutan dan Reagent

#### A.1 Pembuatan Larutan NaOH 2, 4, 8, 12 dan 16% (b/v)

Sebanyak 2, 4, 8, 12 dan 16 gram padatan NaOH dilarutkan dengan 100 mL akuades dan dimasukkan ke dalam labu ukur dan kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas.

#### A.2 Pembuatan Larutan HCl 6 M

Larutan induk HCl 12 M sebanyak 50 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian diencerkan dengan akuades sampai tanda batas.

#### A.3 Pembuatan Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% (v/v)

Larutan induk H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98% sebanyak 73,5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98% dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas.

#### A.4 Pembuatan Reagen DNS

Reagen DNS dibuat dengan cara mencampurkan bahan – bahan berikut ini:

- a. 60 ml H<sub>2</sub>O
- b. 1 gram NaOH
- c. 18,2 gram K/Na-Tartat
- d. 1 gram DNS
- e. 0,05 gram Na-Sulfit
- f. 0,2 gram fenol
- g. Ditambah akuades hingga 100 ml

Semua bahan tersebut ditambahkan secara urut hingga benar-benar homogen.

**Lampiran B. Kandungan Lignin, Air, dan HCN pada Kulit Singkong**

$$\text{Kadar lignin} = \frac{\text{Berat akhir} \times 100\%}{\text{Berat awal}}$$

$$\text{Kadar Air} = \frac{b-c}{a} \times 100\%$$

Keterangan : a = berat sampel

b = berat sampel + cawan porselin sebelum dioven

c = berat sampel + cawan porselin setelah dioven

$$\text{Kadar HCN} = 396 \times \text{absorbansi (ppm)}$$

**B.1 Kandungan Lignin, Air, dan HCN**

Kandungan	Kadar			Rata-rata	Standar Deviasi
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
Lignin (%)	4,00	4,00	5,00	4,34	0,57
Air (%)	7,34	7,67	7,34	7,45	0,19
HCN (ppm)	15,45	16,63	16,23	16,10	0,60

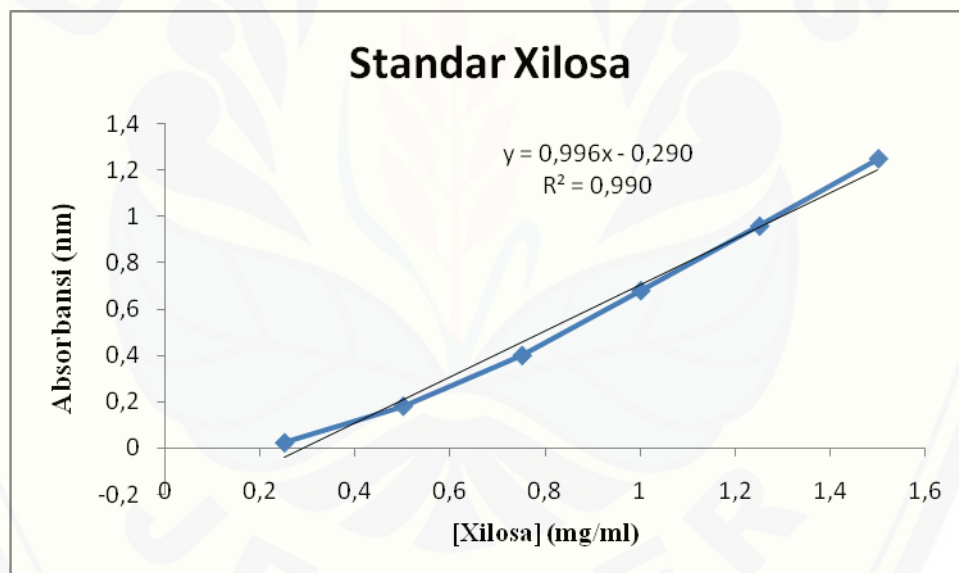
**Lampiran C. Rendemen Xilan dari Kulit Singkong**

$$\text{Rendemen xilan} = \frac{\text{Berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

[NaOH] (%)	Kandungan	Rendemen xilan (%)			Rata- rata	Standar Deviasi
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
4	D	19,40	19,20	18,60	19,07	0,41
	N-D	43,60	44,20	43,60	43,80	0,34
8	D	26,60	25,60	26,00	26,07	0,50
	N-D	48,86	48,16	48,46	48,49	0,35
12	D	31,80	32,60	32,00	32,14	0,41
	N-D	52,16	52,46	52,46	52,36	0,10
16	D	28,80	27,80	28,20	28,27	0,50
	N-D	49,26	49,66	50,06	49,66	0,40
18	D	22,20	22,20	23,00	22,47	0,40
	N-D	40,06	41,06	40,26	40,46	0,52

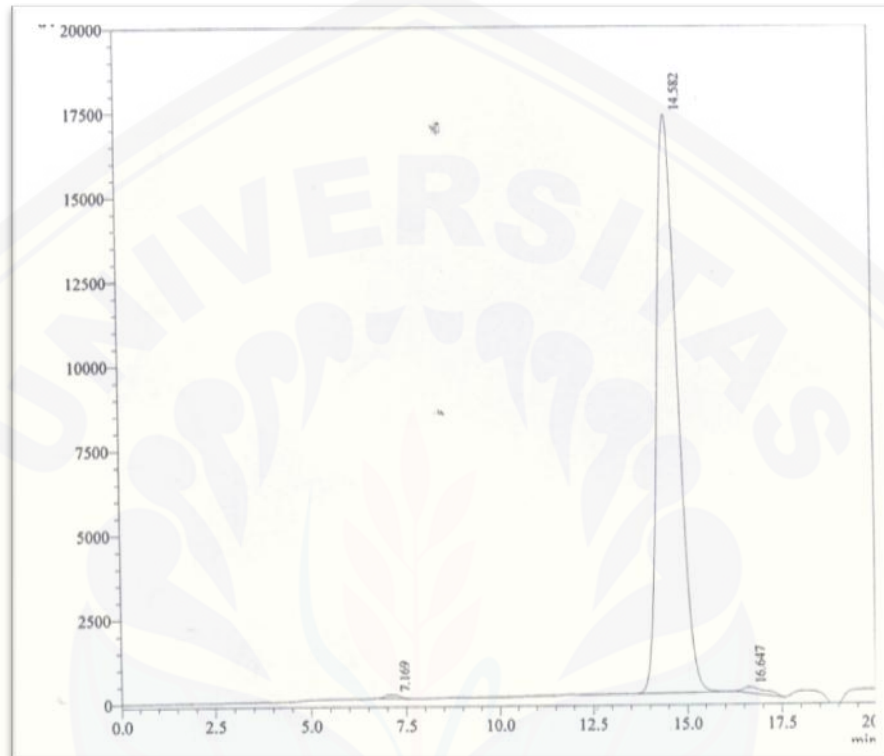
**Lampiran D. Kurva Standar Xilosa pada 550 nm**

Konsentrasi xilosa (mg/ml)	Absorbansi (nm)
0,25	0,024
0,50	0,182
0,75	0,400
1,00	0,679
1,25	0,957
1,50	1,247



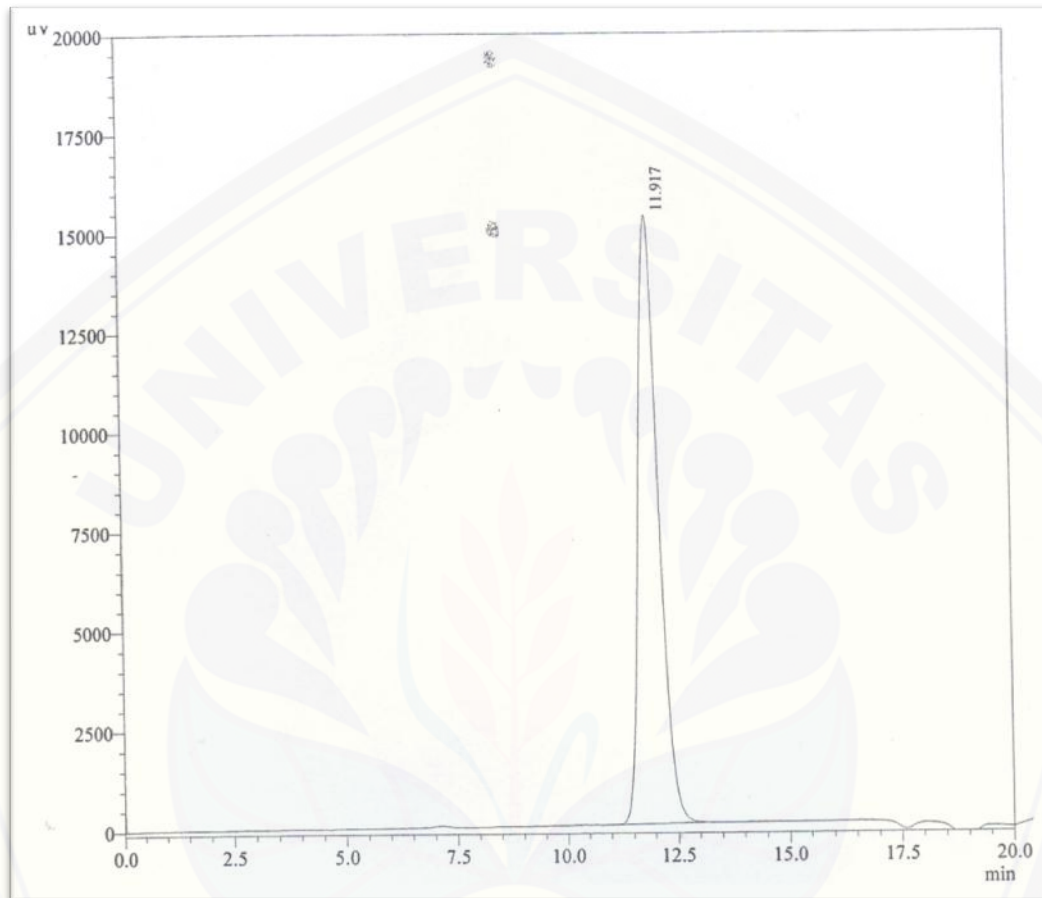
**Lampiran E. Variasi Waktu Inkubasi Endo- $\beta$ -1,4-xilanase**

Waktu (jam)	Sampel	Total Gula Pereduksi (mg/ml)					Standar Deviasi
		Abs 1	Abs 2	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata- rata	
5	D	0,673	0,671	1,933	1,929	1,931	0,002
	N-D	0,602	0,605	1,791	1,797	1,794	0,004
10	D	0,715	0,712	3,027	3,018	3,022	0,006
	N-D	0,697	0,699	2,972	2,978	2,975	0,004
16	D	0,881	0,885	3,527	3,539	3,533	0,008
	N-D	0,834	0,837	3,385	3,394	3,389	0,006
20	D	0,849	0,841	3,430	3,406	3,418	0,010
	N-D	0,817	0,813	3,334	3,322	3,328	0,008
25	D	0,834	0,829	3,385	3,370	3,377	0,010
	N-D	0,811	0,807	3,316	3,304	3,310	0,008

**Lampiran F. Kromatogram KCKT****F.1 Standar Xilosa**

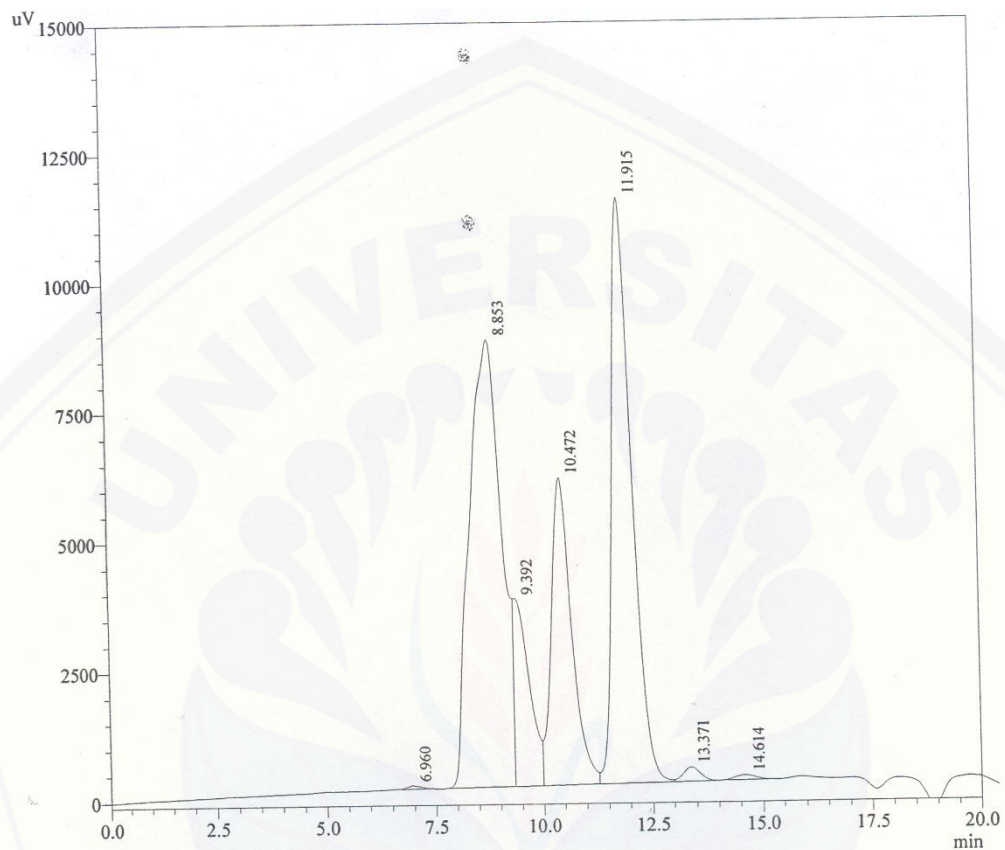
Puncak	Waktu retensi	Luas puncak	Tinggi puncak
1	7,169	2496	99
2	14,582	644536	98420
3	16647	7852	1,199
Total		654884	100



**F.2 Standar Xilobiosa**

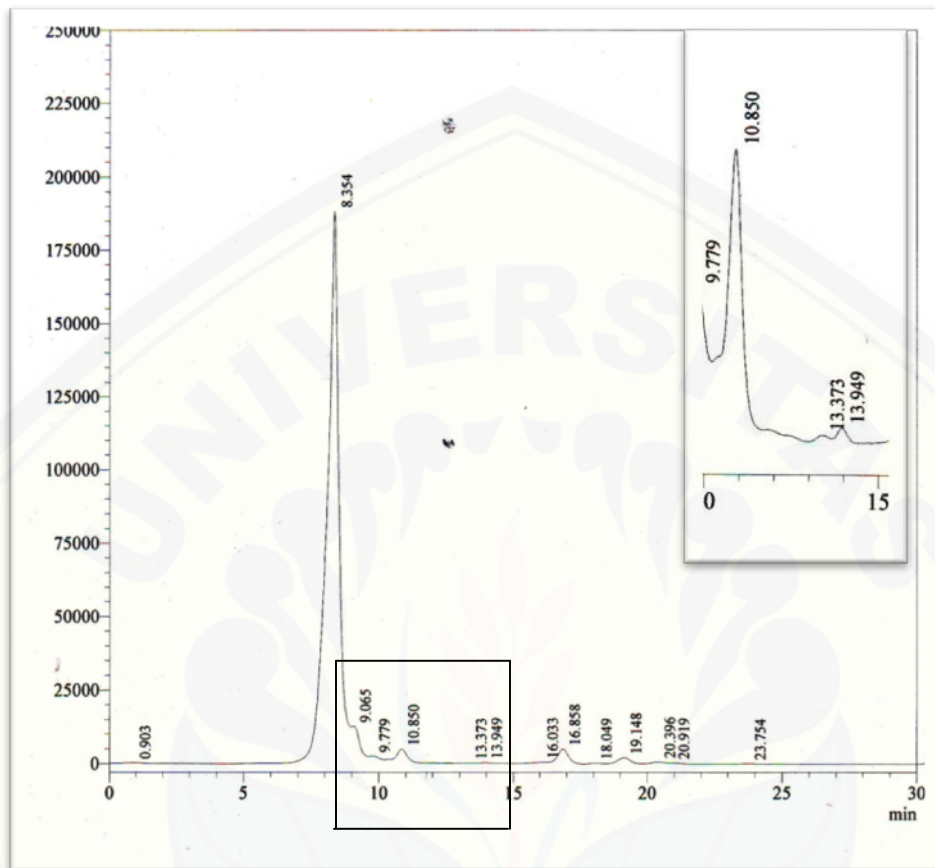
<b>Puncak</b>	<b>Waktu retensi</b>	<b>Luas puncak</b>	<b>Tinggi puncak</b>
1	11.917	484622	15277
Total		484622	15277

### F.3 Standar Xilooligosakarida



Puncak	Waktu retensi	Luas puncak	Tinggi puncak
1	6.960	1198	60
2	8.853	439519	8630
3	9.392	88987	3625
4	10.472	194921	5930
5	11.915	360389	11303
6	13.371	7130	273
7	14.614	2744	90
Total		1094888	29909

## F.4 Hasil Hidrolisis Xilan dari Ampas Singkong



Puncak	Waktu Retensi	Luas puncak	Tinggi Puncak
1	0,903	7475	181
2	8,354	6121660	188084
3	9,065	38508	1973
4	9,779	8416	485
5	10,850	98178	3996
6	13,373	2624	109
7	13,949	4793	242
8	16,033	12561	392
9	16,858	144950	4963
10	18,049	8781	273
11	19,148	72584	2133
12	20,396	22590	681
13	20,919	11288	397
14	23,754	3033	100
Total		6557440	204007

**Lampiran G. Perhitungan Kadar Hasil Hidrolisis****G.1 Standar Xilooligosakarida**

<b>Jenis Standar</b>	<b>Waktu Retensi (menit)</b>	<b>Luas Puncak</b>	<b>Kadar (ppm)</b>
Xilopentosa (X5)	8,853	439519	401,43
Xilotetrosa (X4)	9,392	88987	81,28
Xilotriosa (X3)	10,472	194921	178,03
Xilobiosa (X2)	11,917	484622	1000,00
Xilosa (X1)	14,582	644536	1000,00

**G.2 Kadar Hasil Hidrolisis Xilan dari Ampas Singkong**

$$\text{Kadar sampel (ppm)} = \frac{\text{luas area sampel}}{\text{luas area standar}} \times \text{kadar standar (ppm)}$$

<b>Jenis Standar</b>	<b>Waktu Retensi (menit)</b>	<b>Luas Puncak</b>	<b>Kadar (ppm)</b>
Xilopentosa (X5)	8,354	6121660	5591,15
Xilotetrosa (X4)	9,065	38508	35,17
Xilotriosa (X3)	10,850	98178	89,80
Xilosa (X1)	13,949	4793	7,43