

PENGGUNAAN XILANASE *Streptomyces sp.* 45 I-3 AMOBIL UNTUK HIDROLISIS XILAN TONGKOL JAGUNG

[Immobilization of Extracellular Xylanase from *Streptomyces sp.* 45 I-3 for Hydrolysis of Corn cob Xylan]

Anja Meryandini^{1),2)}, Titi Candra Sunarti³⁾, Ferry Mutia³⁾, Niken Financia Gusmawati⁴⁾, dan Yulin Lestari²⁾

¹⁾Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi IPB, Gedung PAU, Kampus IPB Darmaga 16680

²⁾Departemen Biologi, FMIPA-IPB, Gedung Fapet Lt 5 Wing 1, Kampus IPB Darmaga 16680

³⁾Departemen Teknologi Industri Pertanian, FATETA-IPB, Kampus IPB Darmaga 16680

⁴⁾PS Bioteknologi-Sekolah Pasca Sarjana IPB, Gedung PAU, Kampus IPB Darmaga 16680

Autor korespondensi: ameryandini@yahoo.com

Diterima 15 Desember 2008/Disetujui 13 Juni 2009

ABSTRACT

Xylan extraction from corn cob is done by using alkaline as solvent. Xylan extraction from corn cob could give the yields as 10.9%. One percent of corn cob xylan is used as substrate to produce the xylanase, compared to oat spelt xylan.

Immobilization of xylanase was performed using 1% Eudragit™ S100 solution (w/v), with 5:1 volume ratio of xylanase and 1% Eudragit™ S100 (w/v). Activity of the immobilized xylanase was decreased to 23.97% compared with free xylanase. Immobilized xylanase have optimum pH and temperature at 6.0 and 40 °C respectively, have also thermal stability at 30–40 °C for an hour. Immobilized xylanase could be reused, but its activity decreased to 52.38% after 3 times application.

Key words : xylanase, *Streptomyces*, amobile

PENDAHULUAN

Peningkatan hasil pertanian diikuti pula dengan peningkatan limbah hasil pertanian. Limbah-limbah ini kemudian menimbulkan masalah pencemaran lingkungan. Umumnya limbah hasil pertanian ini masih mengandung sejumlah nutrisi, sehingga dapat dikonversi menjadi produk yang memiliki nilai ekonomi atau dimanfaatkan sebagai medium pertumbuhan mikroorganisme. Pemanfaatan limbah hasil pertanian ini akan menanggulangi masalah pencemaran.

Tongkol jagung merupakan salah satu limbah pertanian yang melimpah karena jagung merupakan salah satu sumber utama karbohidrat setelah beras. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik produksi jagung tahun 2004 mencapai 11,35 juta ton sehingga limbah tongkol jagung pun melimpah. Anonim (1981) menyatakan bahwa tongkol jagung mengandung selulosa (40%), hemiselulosa (36%) dan lignin (16%) serta zat-zat lainnya (8%). Komponen utama selulosa adalah xilan yang dapat dihidrolisis oleh xilanase. Berbagai macam mikroba, baik bakteri, kapang, dan khamir dilaporkan mampu menghasilkan xilanase dan salah satunya adalah genus *Streptomyces*. *Streptomyces sp.* 45I-3 memiliki xilanase dengan aktivitas optimum pada 50°C dan pH 5 (Meryandini *et al.*, 2007).

Enzim amobil memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan enzim bebas yaitu: 1. mengurangi biaya pemakaian enzim, 2. memudahkan pemisahan enzim dari

produk dan larutan reaksi sehingga dapat menghentikan reaksi dengan cepat (atau *vice versa*), 3. mengurangi masalah effluen, 4. dapat digunakan dalam proses sinambung, dalam pengembangan sistem reaksi multienzim berulang, dan 5. pada beberapa kasus, dapat meningkatkan stabilitas (Shuler dan Kargi 2002). Karenanya tujuan penelitian ini adalah melakukan amobilisasi dan karakterisasi enzim xilanase amobil yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp.* 45I-3 menggunakan matriks Eudragit™ S 100 dan menggunakannya untuk mendegradasi xilan yang berasal dari tongkol jagung.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan utama adalah tongkol jagung varietas Bisma yang berasal dari Balai Penelitian Bioteknologi, Cimanggu, Bogor. Bahan kimia yang digunakan yaitu NaOH, HCl, H₂SO₄, CuSO₄, Na₂SO₄, etanol, aseton, larutan detergen netral (NDS), larutan detergen asam (ADS), NaOCl, xilan oat spelt, xilan tongkol jagung, sukrosa, ekstrak khamir, larutan buffer sitrat fosfat, asam dinitrosalisilat (DNS), dan fenol.

Metode

Karakterisasi dan ekstraksi xilan dari tongkol jagung

Proses delignifikasi dilakukan terhadap bubuk tongkol jagung dengan pelarut natrium hipoklorit (NaOCl). Ekstraksi xilan dari tongkol jagung dilakukan berdasarkan penelitian Anggraini (2003) dengan menggunakan pelarut NaOH 15%. Karakterisasi tongkol jagung meliputi kadar air, kadar abu, kadar serat kasar, kadar protein, kadar lignin, kadar selulosa dan kadar hemiselulosa.

Penentuan konsentrasi media penginduksi xilanase

Isolat *Streptomyces spp.* diinokulasikan pada media yang mengandung xilan (1% ekstrak khamir, 10.3% sukrosa, dan 0.5% xilan) atau 0.5%, 1%, dan 1.5% xilan tongkol jagung. Aktivitas xilanase diukur dengan metode DNS berdasarkan Miller (1959) dengan xilosa sebagai standar. Gula pereduksi yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Satu unit aktivitas xilanase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan 1 μ mol xilosa dalam waktu 1 menit.

Amobilisasi xilanase *Streptomyces spp.* 451-3

Larutan Eudragit™ S100 untuk amobilisasi xilanase ekstraseluler dibuat dengan melarutkan Eudragit™ S100 ke dalam akuades sesuai konsentrasi yang diinginkan. Dengan pengadukan konstan kedalam larutan diteteskan larutan 3 M NaOH hingga mencapai pH 11.0. Setelah matriks terlarut sempurna, pH larutan diturunkan menjadi 7.0 dengan penambahan larutan 3 M HCl. Volume larutan ditera sampai 100 ml dengan akuades. Larutan disimpan pada 4°C sampai akan digunakan.

Ekstrak kasar xilanase diamobilisasi dengan Eudragit™ S100 berdasarkan modifikasi metode Sardar *et al.*, (2000). Penentuan Konsentrasi Larutan Eudragit™ S100 dilakukan untuk mengetahui konsentrasi larutan Eudragit™ S100 yang optimum untuk mengikat xilanase, dengan menggunakan enam taraf konsentrasi larutan, yaitu 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, dan 3.0% (b/v).

Penentuan rasio konsentrasi xilanase dengan larutan Eudragit™ S100 dilakukan dengan larutan Eudragit™ S100 optimum, dengan menggunakan sebelas kombinasi rasio konsentrasi xilanase dan larutan Eudragit™ S100 yaitu 6 : 1; 5 : 1; 4 : 1; 3 : 2; 3 : 1; 2 : 1; 1 : 1; 1 : 2; 1 : 3; 1 : 4, dan 2 : 3.

Karakterisasi enzim xilanase amobil

Pengujian pH optimum xilanase amobil dilakukan dengan mereaksikan xilanase amobil dengan substrat xilan birchwood 0.5% (b/v) pada suhu 50°C selama 30 menit pada berbagai kondisi pH larutan bufer dengan selang pH 0.5 unit, yaitu menggunakan bufer sitrat fosfat 0.02 M untuk pH 3.0 – 6.0 dan bufer fosfat 0.02 M untuk pH 6.0 – 7.0. Pengujian suhu optimum xilanase amobil dilakukan dengan mereaksikan xilanase amobil dengan substrat xilan birchwood 0.5% (b/v) selama 30 menit pada suhu 30 – 70°C, dengan selang suhu

10°C. Aktivitas xilanase dihitung berdasarkan gula pereduksi yang terbentuk menggunakan metode Miller (1959)

Pengujian stabilitas xilanase amobil terhadap suhu dilakukan dengan menginkubasikan enzim amobil pada berbagai suhu (30 – 70°C) selama 1 jam. Aktivitas enzim yang tersisa diuji pada kondisi standar reaksi enzimatik xilanase. Nilai aktivitas enzim tersisa dinyatakan dalam persentase dibandingkan dengan kontrol (enzim tanpa perlakuan).

Pengujian stabilitas xilanase amobil ini dilakukan dengan menginkubasikan xilanase amobil dalam 0.02 M bufer sitrat fosfat pH 5.0 pada suhu 40°C selama 10 jam. Pengambilan sampel xilanase amobil dilakukan setiap 1 jam. Aktivitas xilanase dihitung berdasarkan gula pereduksi yang terbentuk menggunakan metode Miller (1959).

Stabilitas xilanase amobil juga dilihat dalam substrat xilan Birchwood dan xilan tongkol Jagung. Pengujian stabilitas xilanase amobil dalam substrat dilakukan dengan menginkubasikan xilanase amobil dengan xilan birchwood dan xilan tongkol jagung 1% (b/v) dalam 0.02 M bufer sitrat fosfat pada kondisi optimum xilanase amobil (suhu 40°C dan pH 6.0) selama 7 jam. Pengambilan sampel xilanase amobil dilakukan setiap 2 jam.

Penggunaan berulang xilanase amobil

Penggunaan berulang dilakukan berdasarkan modifikasi metode Roy *et al.*, (2003) dengan menghidrolisis 18 ml substrat xilan birchwood 1% (b/v) dalam 0.02 M bufer sitrat fosfat pH 5.0 dengan 2 ml xilanase amobil (16.88 nkat/ml) pada suhu 40°C selama 1 jam. Setelah setiap siklus hidrolisis, xilan yang tidak terdegradasi dipisahkan dengan sentrifugasi pada 2000 x g selama 10 menit. pH supernatan diturunkan menjadi 4.5 dengan penambahan 0.1 M asam asetat sehingga enzim amobil terendapkan dan dipisahkan dengan sentrifugasi pada 12000 x g selama 20 menit. pH supernatan diatur menjadi pH 5.0. Untuk melakukan percobaan siklus kedua, enzim amobil dilarutkan dalam bufer dan ditambahkan dengan xilan yang tidak terdegradasi, selanjutnya diproses dengan cara yang sama. Jumlah gula pereduksi pada supernatan diuji menggunakan metode Miller (1959).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi xilan

Tongkol jagung ternak varietas Bisma mengandung: 5.4% air, 1.57% abu, 2.41% protein, 3.025% lemak, 38.07% serat kasar. Serat kasar terdiri atas 65.96% selulosa, 10.82% hemiselulosa dan 23.74% lignin. Setelah delignifikasi tongkol jagung mengandung: 30.38% hemiselulosa, 44.36% selulosa dan 19.21% lignin. Setelah proses pemurnian didapatkan xilan dengan rendemen 10.9%.

Proses delignifikasi tidak dapat menghilangkan lignin secara keseluruhan. Agustine (2005) menyebutkan bahwa mikrofibril selulosa dan hemiselulosa dalam suatu

matriks hidrofobik dibungkus oleh lignin secara fisik dan lignin terikat secara kovalen. Menurut Fengel dan Wegener (1984), selulosa yang telah dimurnikan selalu mengandung lignin, begitu pula kebalikannya pada lignin yang telah dimurnikan.

Rendemen xilan yang diperoleh sesuai dengan penelitian Widyani (2001) yang menghasilkan rendemen xilan berkisar antara 7.64 sampai 12.94% dan penelitian Anggraini (2003) yang menghasilkan rendemen xilan berkisar antara 7.31 sampai 11.45%.

Penentuan konsentrasi media penginduksi xilanase

Produksi xilanase menggunakan xilan *oat spelt* digunakan sebagai pembanding produksi xilanase yang diinduksi oleh berbagai konsentrasi xilan tongkol jagung. Isolat 45I-3 memiliki kurva aktivitas tertinggi bila ditumbuhkan pada media yang mengandung 1% xilan jagung dengan aktivitas 4.02 U/ml (Gambar 1).

Mikroba penghasil xilanase biasanya terinduksi sekresi enzimnya pada media yang mengandung xilan murni atau residu kaya xilan. Beberapa laporan menunjukkan bahwa xilanase dapat terinduksi oleh komponen lignoselulosa seperti pada dedak gandum, jerami padi, tongkol jagung dan bagase tebu (Beg *et al.*, 2001). Xilan tongkol jagung merupakan bahan yang kaya sumber karbon karena menurut Fengel dan Wegener (1995), komponen lignin, selulosa dan hemiselulosa tidak dapat dipisahkan secara sempurna meskipun menggunakan pemisahan dan pemurnian yang khusus sehingga akan mempengaruhi aktivitas xilanase yang dihasilkan. Semua sumber karbon mempunyai pengaruh yang rendah pada produksi enzim. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Ambarawati (2005) bahwa substrat yang mengandung manan dapat menginduksi xilanase isolat 45 I-3

demikian juga sebaliknya. Konsentrasi xilan jagung ini kemudian digunakan sebagai substrat pada enzim amobil.

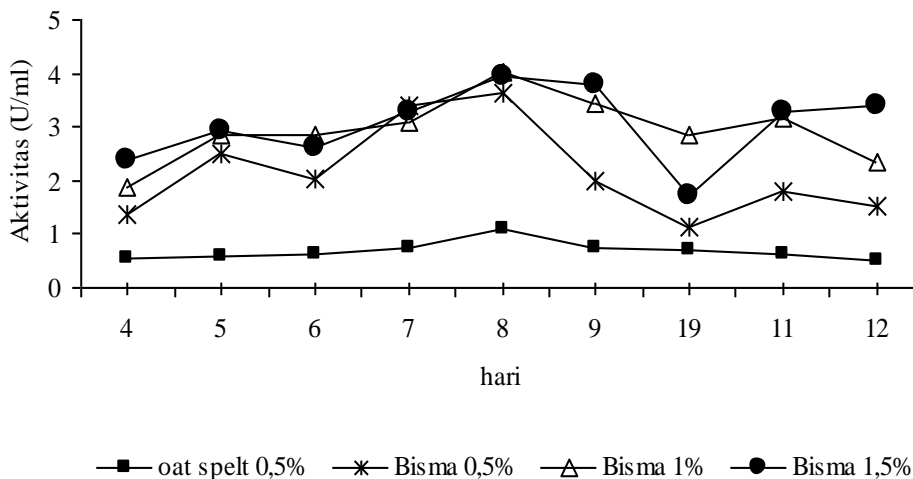
Amobilisasi xilanase

Konsentrasi 1.0% (b/v) merupakan konsentrasi Eudragit™ S100 yang optimum untuk mengikat xilanase ekstrak kasar, karena memiliki persentase efektivitas amobilisasi yang tertinggi, yaitu 15.51 % seperti terlihat pada gambar 2.

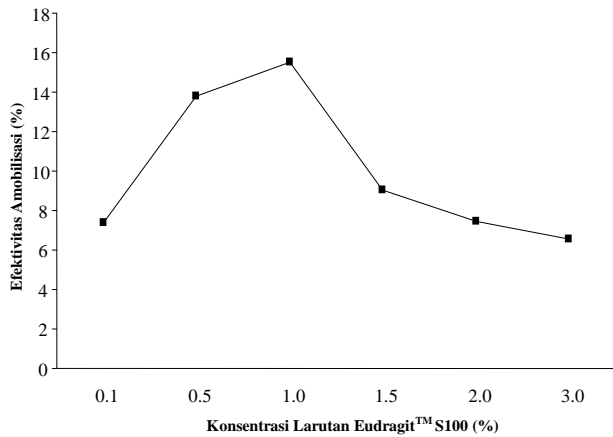
Hasil ini lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian yang disampaikan oleh Gawande dan Kamat (1999) dengan penggunaan polimer anionik Eudragit™ S100 pada konsentrasi 1% (b/v) berhasil mengikat xilanase dari *Aspergillus sp.* Galur 5 dan Galur 44 sebesar 70 dan 80 %. Bahkan Ai *et al.*, (2005) mendapatkan efektivitas amobilisasi mencapai 92% dengan menggunakan xilanase dari *Streptomyces olivaceoviridis* E-86 yang ditumbuhkan dalam media xilan tongkol jagung.

Variasi konsentrasi xilanase yang melekat pada matriks mempengaruhi aktivitas xilanase amobil. Rasio xilanase dan Eudragit™ S100 1% (b/v) sebesar 5 : 1 menunjukkan kombinasi dimana kesempatan penggabungan antara substrat dan enzim amobil menjadi lebih banyak, karena densitas enzim pada polimer meningkat seperti yang terlihat pada gambar 3.

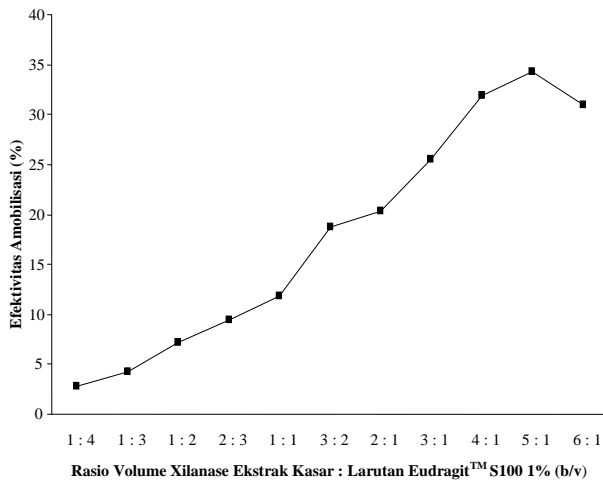
Peningkatan volume enzim (6 : 1) menurunkan efektivitas amobilisasi karena enzim yang mengumpul mengurangi kesempatan bagi molekul substrat untuk menempel pada sisi aktif enzim. Hasil serupa pernah dilaporkan pada enzim amobil lain, yaitu papain (Hyndman *et al.*, 1992), siklodekstrin glukositransferase (Abdel-Naby, 1999) dan kitinase (Wang dan Chio, 1998).



Gambar 1 Kurva aktivitas xilanase *Streptomyces spp.* 45I-3 pada xilan tongkol jagung dengan pembanding xilan *oat spelt*.



Gambar 2 Pengaruh konsentrasi larutan eudragit™ S100 terhadap efektivitas amobilisasi

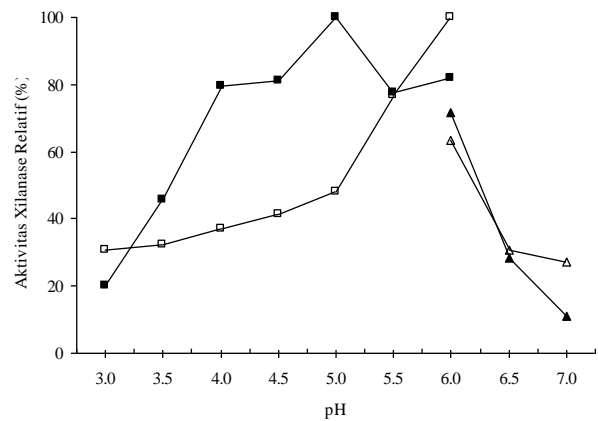


Gambar 3 Pengaruh rasio volume xilanase ekstrak kasar dengan larutan eudragit™ S100 1% (b/v) terhadap efektivitas amobilisasi

Karakterisasi xilanase amobil

Xilanase bebas menunjukkan aktivitas tertinggi pada pH 5.0 (0.861 nkat/ml) sedangkan pada xilanase amobil aktivitas tertinggi terjadi pada pH 6.0 (0.122 nkat/ml) dan selanjutnya menurun dengan meningkatnya pH seperti yang terlihat pada gambar 4.

Xilanase *Streptomyces sp.* isolat 45 I-3 menunjukkan aktivitas relatif yang berbeda pada pH 6.0 dalam larutan bufer sitrat fosfat dan bufer fosfat, yaitu masing-masing sebesar 82.04% dan 71.59% pada xilanase bebas sedangkan pada xilanase amobil sebesar 100% dan 63.33% (Gambar 4). Hal ini menunjukkan bahwa jenis bufer berpengaruh terhadap aktivitas xilanase. Pengaruh jenis bufer pada pH yang sama terhadap aktivitas xilanase juga dijumpai pada xilanase *Cellulomonas flavigena* dan *Thermotoga maritima*. Aktivitas xilanase *Cellulomonas flavigena* pada pH optimum 6.5 dalam bufer sitrat fosfat lebih tinggi 45% dibandingkan dalam bufer Tris-HCl (Martinez-Trujillo *et al.*, 2003). Aktivitas relatif xilanase



Gambar 4 Pengaruh pH terhadap aktivitas xilanase amobil (simbol terbuka) dan xilanase bebas (simbol solid) menggunakan bufer sitrat fosfat 0.02 M (□) dan Bufer Fosfat 0.02 M (Δ)

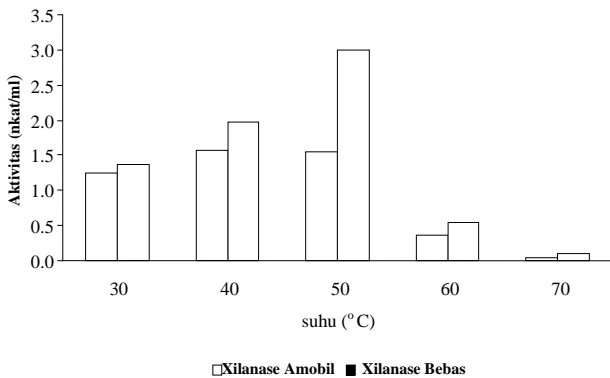
Thermotoga maritima pada pH 5.0 dalam bufer asetat meningkat sekitar tujuh kali lipat dibandingkan aktivitas xilanase dalam bufer MES, namun pada pH 5.5 aktivitas relatifnya hanya 20% lebih tinggi. Aktivitas relatif xilanase dalam tiga jenis bufer (fosfat, Tris-HCl, dan CHES) menunjukkan nilai yang berbeda (Zhengqiang, 2001).

Perbedaan aktivitas dalam jenis bufer disebabkan perbedaan oleh pK, jenis, dan jumlah muatan ion penyusun. Setiap jenis bufer memiliki rentang pH tertentu dan kapasitas dipengaruhi oleh nilai pK-nya. Bufer akan bekerja baik pada daerah pH yang dekat dengan pK-nya sehingga semakin jauh dari pK maka kapasitas bufer-nya akan semakin menurun (Suhartono, 1989).

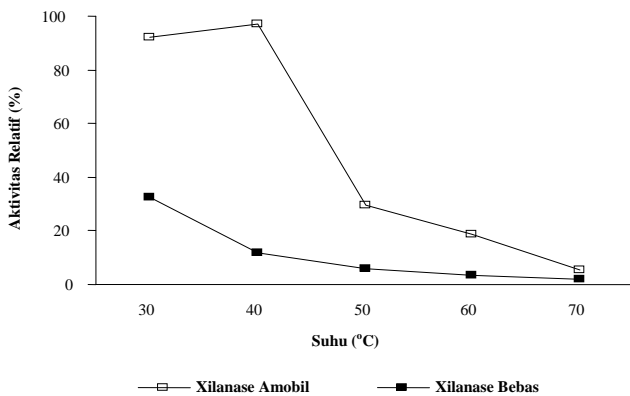
Amobilisasi xilanase tampaknya menyebabkan terjadinya perubahan pH optimum, yaitu pada xilanase bebas adalah pH 5.0, sedangkan pada xilanase amobil adalah pH 6.0 dengan menggunakan bufer sitrat fosfat 0.02 M. Hal ini diduga merupakan suatu efek dari amobilisasi yang dilakukan menggunakan matriks anionik. Penelitian Krajewska *et al.* (1990) menunjukkan bahwa perubahan pH optimum menjadi lebih asam untuk aktivitas katalitik dibandingkan enzim bebas (pH 6.5 menjadi 6.0) disebabkan oleh penggunaan matriks kationik yang bermuatan positif, sehingga akan mengubah pH optimum menjadi lebih rendah. Observasi serupa juga telah dilaporkan untuk xilanase amobil lain (Abdel Naby, 1993, Gouda dan Abdel-Naby, 2002). Oleh karena itu, dengan prinsip yang sama, diduga hal yang sebaliknya terjadi pada penelitian ini, karena pada matriks anionik yang bermuatan negatif akan mengubah kurva pH-aktivitas menjadi nilai pH yang lebih tinggi. Selain itu, laporan Engasser dan Horvath (1976) menyebutkan bahwa amobilisasi enzim menyebabkan terjadinya efek partisi sehingga mengakibatkan perbedaan nilai pH optimum dan atau Km enzim amobil dibandingkan enzim bebas. Efek partisi ini disebabkan adanya interaksi elektrostatis atau interaksi lain antara matriks dengan enzim disebabkan konsentrasinya pada lingkungan mikro berbeda

pada larutan reaksi. Pengaruh suhu terhadap aktivitas xilanase diperlihatkan pada Gambar 5. Aktivitas xilanase bebas meningkat sejalan dengan meningkatnya suhu sampai mencapai 50°C dengan aktivitas 3.01 nkat/ml, selanjutnya semakin menurun pada 60°C dan hampir kehilangan seluruh aktivitasnya pada suhu 70°C. Aktivitas optimum xilanase amobil dicapai pada suhu 40°C dengan 1.58 nkat/ml dan suhu 50°C dengan 1.55 nkat/ml. Oleh karena itu suhu optimum xilanase amobil melebar menjadi 40 – 50°C. Hal yang serupa terjadi pada penelitian Gaur *et al.*,(2005), xilanase amobil memiliki suhu optimum pada 55 – 65°C. Efek ini pun telah dikaji sebelumnya pada xilanase dari *Aspergillus sp.* (Rogalski *et al.*, 1985; Abdel-Naby, 1993) dan *Trichoderma sp.* (Dumitriu dan Chornet 1997).

Xilanase amobil relatif stabil setelah diinkubasikan selama 1 jam pada suhu 30°C (0.79 nkat/ml). Aktivitas akan meningkat pada suhu 40°C (0.83 nkat/ml), sedangkan pada suhu 50°C aktivitasnya hanya 29.36% (0.25 nkat/ml) dan hampir kehilangan seluruh aktivitasnya pada suhu 70°C (0.005 nkat/ml). Pada xilanase bebas, aktivitas xilanase menurun secara gradual sejalan dengan peningkatan suhu. Aktivitas xilanase bebas hanya 6.01 (0.042 nkat/ml) setelah inkubasi selama 1 jam pada suhu 5°C, yang merupakan suhu optimumnya (Gambar 6).



Gambar 5 Pengaruh suhu terhadap aktivitas xilanase

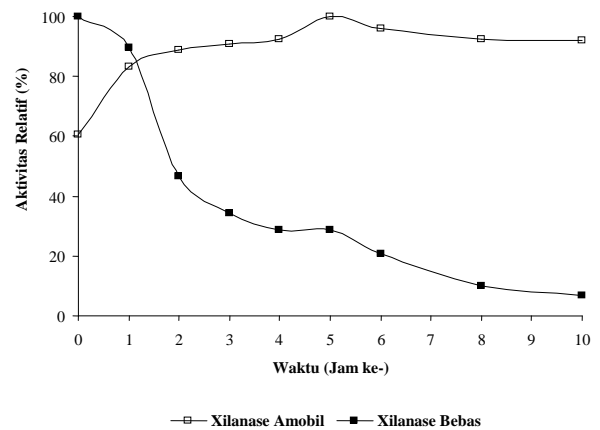


Gambar 6 Pengaruh suhu terhadap stabilitas xilanase setelah penyimpanan selama 1 Jam

Pengujian stabilitas termal pada xilanase amobil menunjukkan aktivitas tersisa yang lebih tinggi dari xilanase bebas. Bahkan pada suhu optimum xilanase amobil yaitu 40°C, aktivitas yang tersisa paling tinggi, yaitu 97.21%. Hal ini menunjukkan bahwa xilanase amobil mendegradasi xilan dengan optimum pada suhu 40°C dan masih berlanjut selama waktu inkubasi 1 jam. Pada suhu 50°C sampai 70°C, aktivitas tersisa dari xilanase amobil mengalami penurunan drastis, karena dengan metode adsorpsi menggunakan Eudragit™ S100 ini, enzim masih dapat terpapar dengan suhu tinggi dan mengalami denaturasi sehingga aktivitasnya menurun. Xilanase bebas yang mengalami penurunan aktivitas dengan peningkatan suhu inkubasi menunjukkan bahwa enzim ini tidak bersifat termostabil.

Pengujian stabilitas xilanase amobil pada suhu 40°C dan pH 5.0 dilakukan untuk mengetahui stabilitas xilanase amobil pada kondisi reaksi enzimatik. pH 5.0 digunakan karena pada pH 5.0, enzim amobil berada pada keadaan tidak larut (terendapkan dalam bentuk gel). Kondisi pada pH 6.0 merupakan pH optimumnya, namun menyulitkan pada pengaplikasian enzim amobil di dalam suatu bioreaktor *fixed bed/packed bed*, seperti umumnya aplikasi enzim amobil. Selain itu, aktivitas enzim pada pH 5.0 tidak banyak berbeda dibandingkan aktivitas pada pH 6.0.

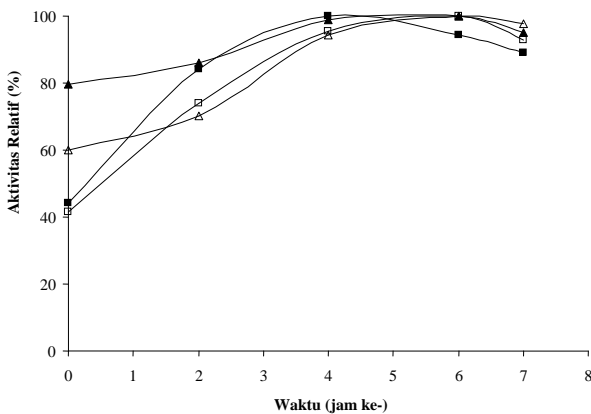
Pada pengujian stabilitas, aktivitas xilanase bebas menurun sejalan dengan peningkatan waktu inkubasi, sedangkan pada xilanase amobil relatif stabil hingga jam ke-5 dan mulai menurun hingga jam ke-10 seperti terlihat pada gambar 7. Hal ini menunjukkan bahwa xilanase amobil stabil pada kondisi optimum enzimatisnya sampai 5 jam.



Gambar 7 Stabilitas xilanase amobil pada suhu 40°C dan pH 5.0

Pratiwi (2006) melaporkan hasil analisis produk hidrolisis xilanase ekstrak kasar dari *Streptomyces sp.* isolat 451-3 terhadap substrat xilan oat spelt 0.5% (b/v) berdasarkan nilai derajat polimerisasinya adalah antara 1 – 4 dari derajat polimerisasi awal substratnya 60 – 70, sehingga *Streptomyces sp.* isolat 45 I-3 diketahui memiliki dua xilanase, yaitu endo-xilanase dan β-xilosidase. Hal tersebut dapat menjelaskan aktivitas xilanase terhadap xilan birchwood lebih tinggi

dibandingkan dengan xilan tongkol jagung, yaitu 1.46 nkat/ml pada xilanase amobil dari hasil pengujian jam ke- 6 dan 0.92 nkat/ml pada xilanase bebas dari hasil pengujian jam ke- 4 (Gambar 8). Xilan birchwood (Sigma) memiliki struktur rantai xilan yang sederhana karena mengandung 99% monomer xilosa sedangkan xilan tongkol jagung memiliki struktur yang lebih kompleks. Komposisi kimia tongkol jagung terdiri dari 35.5% serat kasar, 2.5% protein, 0.12% kalsium, 0.04% fosfor dan zat-zat lain 38.16% (Maynard, 1983). Tongkol jagung mengandung selulosa 40% bobot kering (bk), hemiselulosa 36% bk., lignin 16% bk., dan zat-zat lainnya 8% bk. (Irawadi, 1991). Menurut Widiastuti (2004), struktur kimia xilan sangat bervariasi sesuai jenis tumbuhan dan hal tersebut sesuai dengan bervariasinya xilanase yang diproduksi oleh isolat dengan aktivitas hidrolitik yang berbeda pula. Xilanase dari *Streptomyces sp.* 45I-3 ini tidak memiliki jenis enzim untuk memutus rantai samping dari struktur xilan yang kompleks. Oleh karena itu, endo xilanase dan β -xilosidase yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp.* 45I-3 menyebabkan aktivitasnya pada substrat xilan birchwood lebih tinggi dibandingkan xilan tongkol jagung. Xilanase amobil dalam bentuk terikat dengan substrat xilan birchwood maupun xilan tongkol jagung memiliki aktivitas yang lebih stabil dibandingkan xilanase bebas (Gambar 8) Hal ini disebabkan karena di dalam bentuk campuran enzim dengan substrat, enzim akan terikat dengan substrat membentuk kompleks Enzim-Substrat sehingga situs aktif enzim relatif tidak mengalami gangguan dari molekul lain.



Gambar 8 Stabilitas xilanase amobil (simbol terbuka) dan xilanase bebas (simbol solid) pada substrat xilan birchwood (□) dan xilan tongkol jagung (Δ)

Penggunaan berulang xilanase amobil

Penggunaan berulang dari enzim amobil dilakukan dengan menurunkan pH sehingga mengendapkan enzim amobil dan melarutkan kembali dengan meningkatkan pH dan dilakukan pengujian kembali. Pada penelitian ini dilakukan penambahan bufer baru pada setiap kali xilanase amobil akan digunakan kembali. Hal ini diharapkan dapat menghilangkan penghambatan oleh produk sehingga didapatkan laju konversi

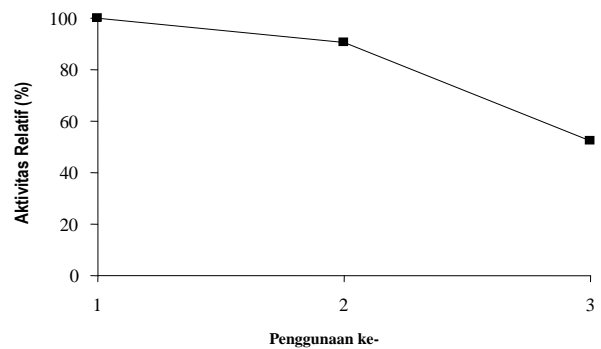
yang lebih tinggi, selain itu kehilangan aktivitas biokatalis juga lebih rendah (Roy *et al.*, 2004).

Gambar 9 menunjukkan bahwa setelah kehilangan aktivitas awal hampir 10% pada penggunaan kedua, aktivitas xilanase amobil menurun sampai 50%-nya pada penggunaan ketiga. Pola yang mirip terdapat pada penelitian Sardar *et al.* (2000), yaitu setelah kehilangan aktivitas awal sebesar 5% pada penggunaan kedua, aktivitas tetap konstan pada 55% sampai penggunaan ketujuh.

Kehilangan sedikit aktivitas pada awal siklus dapat disebabkan oleh beberapa alasan, yaitu kemungkinan karena molekul-molekul xilanase melekat pada situs pada Eudragit™ S100 yang memiliki 'afinitas rendah'. Selain itu juga karena molekul-molekul ini merepresentasikan molekul xilanase yang memiliki afinitas rendah terhadap matriks (Sardar *et al.*, 2000). Sampai penggunaan ketiga, xilanase amobil tidak mengalami *wash-off* (enzim lepas dari ikatan dengan matriks amobilisasi), seperti yang ditunjukkan pada tabel 1. Hal ini menunjukkan bahwa protein xilanase dapat teradsorbsi dengan cukup kuat pada matriks amobilisasi.

Amobilisasi xilanase dari *Streptomyces sp.* isolat 45 I-3 berhasil dilakukan dengan menggunakan larutan Eudragit S100 konsentrasi 1% (b/v), dengan rasio volume xilanase ekstrak kasar dengan larutan Eudragit S100 1% (b/v) adalah 5:1.

Xilanase amobil memiliki aktivitas optimum pada pH 6.0 dan suhu 40°C, serta stabil selama 1 jam pada suhu 30–40°C, pH 6.0. Xilanase amobil dapat digunakan berulang, namun terjadi penurunan aktivitas menjadi 52.38% setelah 3 kali penggunaan.



Gambar 9 Penggunaan berulang xilanase amobil

Tabel 1 Kadar protein xilanase amobil

Penggunaan ke-	Kadar Protein (mg/ml)
1	0.050
2	0.044
3	0.042

KESIMPULAN

Ekstraksi xilan dari tongkol jagung menggunakan larutan alkali menghasilkan rendemen sebesar 10.9%. Xilan tongkol jagung dengan konsentrasi 1% dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri dan penginduksi xilanase. Amobilisasi xilanase dilakukan dengan menggunakan matriks larutan Eudragit™ S100 1% (b/v) dengan rasio volume antara xilanase dan Eudragit™ S100 1% (b/v) adalah 5:1. Xilanase amobil mengalami penurunan aktivitas menjadi 23.97%, memiliki pH dan suhu optimum pada 6.0 dan 40°C, memiliki stabilitas pada suhu 30–40°C, pH 6.0 selama 1 jam. Xilanase amobil stabil selama 5 jam pada suhu 40°C dan pH 5.0. Xilanase amobil dalam bentuk terikat dengan substrat xilan birchwood maupun xilan tongkol jagung memiliki aktivitas yang lebih stabil dibandingkan xilanase bebas. Xilanase amobil dapat digunakan berulang, namun terjadi penurunan aktivitas menjadi 52.38% setelah 3 kali penggunaan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Proyek Penelitian Hibah Bersaing dengan kontrak nomer 026/SPPP/PP-PM/DP-M/IV/2005 untuk Anja Meryandini pada tahun 2005.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Naby, MA. 1993. Immobilization of *Aspergillus niger* NRC-107 Xylanase and β -Xylosidase and Properties of The Immobilized Enzyme. *Appl Biochem and Biotechnol* 38:69–81.
- Abdel-Naby, MA. 1999. Immobilization of *Paenibacillus macerans* NRRL B-3186 Cyclodextrin Glucosyltransferase and Properties of The Immobilized Enzyme. *Process Biochem* 34: 399–405.
- Ai Z, Jiang Z, Li L., Deng W, Kusakabe I, Li H. 2005. Immobilization of *Streptomyces olivaceoviridis* E-86 Xylanase on Eudragit™ S100 for Xylo-Oligosaccharide Production. *Process Biochem* 40:2707–2714.
- Agustine W. 2005. Penentuan Kondisi Optimum Pertumbuhan dan Produksi Xilanase Isolat AQ1. Skripsi. Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ambarawati D. 2005. Karakterisasi mananase *Streptomyces* sp galur 45I-3. IPB. Skripsi. Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anggraini, F. 2003. Kajian Ekstraksi dan Hidrolisis Xilan dari Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB. Bogor.
- Anonim. 1982. Jagung Sebagai Bahan Baku Industri. Departemen Perindustrian. Jakarta.
- Beg QK., Kapoor M., Mahajan L., Hoondal GS. 2001. Microbial Xylanases and Their Industrial Applications. [ulasan]. *Appl Microbiol Biotechnol* 56:326–338.
- Bradford MM. 1976. A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-dye Binding. *Anal Biochem* 72:91–96.
- Dumitriu S, Chornet E. 1997. Immobilization of Xylanase in Chitosan-Xanthan Hydrogels. *Biotechnol Prog* 13:539–545.
- Engasser JM, Horvath, C. 1976. *Applied Biochemistry and Bioengineering (Immobilized Enzyme Principle)*. New York:Academic Press. Hal 127.
- Fengel D. dan Wegener. 1995. Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Terjemahan S. Hardjono. UGM Press. Yogyakarta.
- Gaur R, Lata, Khare, SK. 2005. Immobilization of Xylan-degrading Enzymes from *Scytalidium thermophilum* on Eudragit™ L100. *World J of Microbiol and Biotechnol* 21:1123–1128.
- Gouda MK, Abdel-Naby, M. 2002. Catalytic Properties of The Immobilized *Aspergillus tamaris* Xylanase. *Microbiol Res* 157:275–281.
- Hyndmann DJ, Burrell R, Lever G, Flynn TG. 1992. Protein Immobilization to Alumina Supports via Organophosphate Linkers. *Biotechnol Bioeng* 40:1328–1336.
- Irawadi TT. 1991. Produksi Enzim Ekstraseluler (Selulosa dan Xilanase) dari *Neurospora sitophila* pada Substrat Limbah Padat Kelapa Sawit. [Disertasi]. Bogor: Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Krajewska B, Leszko M, Zaborska W. 1990. Urease Immobilized on Chitosan Membrane: Preparation and Properties. *J Chem Technol Biotechnol* 48:337–350.
- Martinez-Trujila A, Perez-Avalos O, Ponce-Nayola T. 2003. Enzymatic Properties of A Purified Xylanase from Mutant PN-120 of *Cellulomonas flavigena*. *Enzyme Microb Technol* 32:401–406.
- Maynard LA, Loosli JK, Hintz HF, and Warner RG. 1983. *Animal Nutrition*. Ed Ke-7. New Delhi: Hill Publishing Company Limited
- Meryandini A, Saprudin D, Prihandono PA, Akhdiya A, Hendarwin T. 2007. Characterization of *Streptomyces* spp. 45I-3 Xylanase. *BIOTROPIA* Vol. 14:32-42
- Miller GL. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal Chem* 31:426–428

- Pratiwi FMR. 2006. Produksi Xilanase dari *Streptomyces* sp. Pada Substrat Xilan Tongkol Jagung. [skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Rogalski J, Szczodrak J, Dawidowicz A, Ilczuk Z, Leonowicz A. 1985. Immobilization of Cellulase and β -Xylanase Complexes from *Aspergillus terreus* F-413 on Controlled Porosity Glasses. *Enzyme and Microb Technol* 7:395–398.
- Roy I, Gupta A, Khare SK, Bisaria VS, Gupta MN. 2003. Immobilization of Xylan-Degrading Enzymes from *Melanocarpus albomyces* IIS 68 on the Smart Polymer Eudragit™ L100. *Appl Microbiol Biotechnol* 61:309–313.
- Roy I, Sharma S, Gupta MN. 2004. Smart Biocatalysts: Design and Applications. [ulasan]. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 86:159-189.
- Roy PK, Roy U, Dube DK. 1984. Immobilized Cellulolytic and Hemicellulolytic Enzymes from *Macrophomina phaseolina*. *J Chem Technol Biotechnol* 39:165–170.
- Sardar M, Roy I, Gupta MN. 2000. Simultaneous Purification and Immobilization of *Aspergillus niger* Xylanase on The Reversibly Soluble Polymer Eudragit™ L100. *Enzyme and Microb Technol* 27:672–679.
- Shuler ML, Kargi F. 2002. Bioprocess Engineering: Basic Concepts. USA: Prentice Hall.
- Siso MI, Graber M, Condoret JM, Combes, D. 1990. Effect of Diffusional Resistance on The Action Pattern of Immobilized α -Amylase. *J Chem Technol Biotechnol* 48:185–200.
- Suhartono MT. 1989. *Enzim dan Bioteknologi*. Bogor: PAU Bioteknologi IPB.
- Tyagi T, Gupta MN. 1995. Immobilization of *Aspergillus niger* Xylanase on Magnetic Latex Beads. *Biotechnol Appl Biochem* 21:217–222.
- Wang SL., Chio SH. 1998. Reversible Immobilization of Chitinase via Coupling to Reversibly Soluble Polymer. *Enzyme Microb Technol* 22:634–640.
- Widiastuti F. 2004. Karakterisasi Awal Beberapa Aspek Biomolekuler dari Isolat Xilanolitik Termofilik RT-3. [skripsi]. Bogor: Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor.
- Widyani IG. 2001. Xylan Extraction from Corncob and Soybean Hulls. Bogor Agricultural University. Skripsi.
- Zhengqiang J. 2001. Characterization of A Thermostable Family 10 Endo-Xylanase (XynB) from *Thermotoga maritima* that Cleaves *p*-Nitrophenyl- β -D-Xyloside. *J Biosci Bioeng* 92(5):423–428.