

PRODUKSI ENZIM SELULASE DAN XILANASE DARI *EUPENICILLIUM JAVANICUM* DENGAN SUBSTRAT BONGGOL NANAS MENGGUNAKAN *SOLID-STATE FERMENTATION*

Emmilia Dannisa Pratiwi¹⁾, Evelyn²⁾, Said Zul Amraini²⁾

¹⁾Mahasiswa Program Studi Sarjana Teknik Kimia, ²⁾Dosen Jurusan Teknik Kimia
Laboratorium Teknologi Bioproses
Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Riau
Kampus Bina Widya Jl. HR Soebrantas KM 12,5 Pekanbaru, 28293
Email: tiwiemil@gmail.com

ABSTRACT

Bioprocess is a biotechnology science that utilizes microorganisms to produce a biochemical product, one of which is an enzyme that can function as a catalyst. Enzyme requirements continue to increase along with the growth of the bioprocess industry. Cellulase and xylanase are enzyme products commonly used in industry, such as pulp and paper, detergents, food, textiles, and others. Pineapple tuber waste contains cellulose and hemicellulose which have potential as pure substrates such as cellulose and xylan. The process of enzyme formation can be done by the fermentation process. This study aims to determine the effect of temperature (25, 30 and 35 ° C) and pH (4, 6 and 8) on the production of cellulase and xylanase enzymes in a state of solid fermentation (solid state fermentation) and compare the activity of its enzymes under submerged fermentation. The fermentation process was carried out for 96 hours with temperature conditions and pH. Enzyme activity was measured using UV-Vis spectrophotometry with the DNS method seen at a wavelength of 540 nm. The highest enzyme activity was obtained at a temperature of 35 ° C and pH 6 of 0.262 U / mL for cellulase enzymes and 1.683 U / mL for xylanase enzymes.

Keywords: *Celullase, Enzyme, Solid-state fermentation, Submerged fermentation, Xylanase*

1. PENDAHULUAN

Bioproses merupakan salah satu cabang ilmu bioteknologi yang memanfaatkan mikroorganisme untuk menghasilkan suatu produk melalui proses biokimia, salah satunya yaitu proses enzimatik yang dapat dijadikan alternatif bioteknologi menjanjikan dan berkelanjutan (Jegannathan *et al.*, 2013). Industri bioproses memberikan peluang yang cukup tinggi mengingat berlimp-

ahnya sumber daya alam hayati di Indonesia terutama keterkaitannya dalam bidang enzim.

Kebutuhan enzim di Indonesia terus meningkat setiap tahunnya, yang diperkirakan mencapai 2.500 ton dengan laju pertumbuhan volume rata-rata 5-7% per tahun. Hal ini memberikan dorongan upaya yang cukup besar dalam memproduksi enzim skala Nasional

(Kemristekdikti, 2017). Menurut Kepala BPPT Unggul Prayitno, Indonesia mengimpor 99% kebutuhan enzim dari India, Cina dan Eropa (Republika, 2016).

Penggunaan enzim selulase dan xilanase dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan bahan baku industri, misalnya enzim selulase digunakan untuk industri tekstil, makanan, detergen dan *pulp and paper*, sedangkan enzim xilanase digunakan untuk industri makanan dan obat-obatan serta industri pulp and paper sebagai agen *biobleaching* (proses pemutihan kertas) (Chang dan Chang, 2013).

Enzim untuk kebutuhan industri umumnya diproduksi dari mikroorganisme seperti jamur dan bakteri. Jamur yang memiliki hifa (berfilamen) diketahui memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim sehingga penggunaannya dalam industri cukup tinggi. *Eupenicillium javanicum* merupakan salah satu jenis jamur berfilamen yang mampu menghasilkan enzim selulolitik seperti selulosa dan hemiselulosa (Purwadaria *et al.*, 2003).

Perkembangan dan kemajuan bidang pertanian di Indonesia telah menimbulkan limbah pertanian yang sebagian besar merupakan limbah berlignoselulosa, salah satu limbah berlignoselulosa yang tinggi di Provinsi Riau yaitu limbah buah nanas. Menurut Badan Pusat Statistik (2017), pada tahun 2015, Provinsi Riau menghasilkan nanas sebanyak 74.389 ton. Bonggol nanas memiliki kandungan selulosa sebesar 24,53 g; hemiselulosa sebesar 28,53 g; lignin sebesar 5,78 g dalam 100 gram bonggol atau inti nanas (Pardo *et al.*, 2014)

Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi enzim selulase dan xilanase dari isolat kapang *E. javanicum* menggunakan substrat bonggol nanas, serta mempelajari pengaruh kondisi pH dan temperatur terhadap produksi enzim selulase dan xilanase.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Bahan dan alat yang digunakan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu agar batang, *chloroamphenicol* (Indofarma), kentang (Pasar lokal, Pekanbaru), *dextrose* (Brataco), akua dm (Brataco), alkohol 96% (Brataco), Na_2HPO_4 (Merck), NaCl (Merck), KCl (Merck), KH_2PO_4 (Merck), bonggol nanas (Pasar lokal, Pekanbaru), tepung kedelai (Quadri Foglio), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Merck), NaNO_3 (Merck), CaCl_2 (Merck), isolat *E. javanicum* kultur koleksi InaCC LIPI, asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) (Sigma-Aldrich), NaOH (Merck), Na_2SO_3 (Merck), garam *Rochelle* (Merck). Na-CMC (Brataco), *beechwood xylan* (Sigma-Aldrich), D-glukosa (Merck) dan D-xilosa (Satou Lab).

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *hot plate magnetic stirrer*, *magnetic bar*, timbangan analitik, *oven*, *autoclave*, spatula, batang pengaduk, corong, gelas ukur, kertas saring, cawan petri, pembakar bunsen, jarum ose, inkubator, mikropipet, batang L, erlenmeyer, pH meter, *shaker*, *centrifuge* dan spektrofotometer *visible*.

2.2 Variabel Penelitian

Variabel tetap pada penelitian ini adalah komposisi media (2,0 gram substrat bonggol nanas; 0,5 gram tepung kedelai; 0,05 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,05 gram NaNO_3 ; 0,1 gram CaCl_2 dan 5 mL H_2O) dan suspensi inokulum (10^6 - 10^7 cfu/mL). Sementara variabel berubah pada penelitian ini adalah temperatur fermentasi produksi enzim (25, 30 dan 35 °C).

2.3 Prosedur Penelitian

Isolat jamur *Eupenicillium javanicum* didapatkan dari kultur InaCC LIPI diinokulasi pada media PDA untuk membuat kultur kerja. Kultur kerja diinkubasi selama 3 – 4 hari untuk peremajaan inokulum pada 28 °C. Kemudian inokulum dipanen dan dispensikan ke dalam larutan *buffer*

phosphate saline (BPS). Konsentrasi suspensi diatur $10^6 - 10^7$ cfu mL⁻¹ menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC), lalu digunakan untuk inokulasi pada medium produksi enzim.

Kemudian dilakukan preparasi kulit nanas. Bonggol nanas didapatkan dari limbah nanas yang dijual di pasar pagi Palapa dan diproduksi di Desa Kualu Nenas, Kecamatan Tambang, Kabupaten Kampar. Sebelum digunakan sebagai substrat, bonggol nanas dibersihkan dan dihaluskan menggunakan blender dapur, kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 50 °C hingga berat konstan. Setelah itu disimpan di dalam plastik yang tertutup rapat pada suhu ruang hingga digunakan.

Pada produksi enzim dilakukan pada medium *solid-state*, sebanyak 2,0 gram substrat bonggol nanas; 0,5 gram tepung kedelai; 0,05 gram (NH₄)₂SO₄; 0,05 gram NaNO₃; 0,1 gram CaCl₂ dan 5 mL H₂O dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL yang sudah disterilisasi. Medium kemudian diatur pada pH 4 dengan menambahkan 1 M HCl ke dalam medium, lalu medium disterilisasi. Masing-masing erlenmeyer diinokulasikan dengan 1 mL suspensi kapang dengan konsentrasi $10^6 - 10^7$ cfu/mL. Suhu inkubasi diatur pada 25, 30 dan 35 °C dan inkubasi dilakukan selama 96 jam. Sementara untuk medium *submerged* dilakukan dengan prosedur yang sama dan ditambahkan H₂O sebanyak 50 mL sebelum sterilisasi medium dan diinkubasi pada *shaker* pada temperatur dan pH optimum dari produksi menggunakan *solid state fermentation* sebelumnya.

Setelah produksi enzim selama 96 jam, sebanyak 50 mL akuades ditambahkan ke dalam masing-masing erlenmeyer untuk mengekstraksi *crude* enzim di dalam kultur. Kemudian erlenmeyer ditempatkan pada *shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 1 jam pada temperatur ruang. *Slurry* kemudian

diperas dan disaring menggunakan kain saringan. Selanjutnya filtrat yang dihasilkan dimurnikan dengan menggunakan sentrifuse selama 25 menit pada temperatur 4 °C dan 1000 rpm. Supernatan digunakan pada analisis aktifitas enzim. Kemudian aktivitas ekstrak kasar enzim dianalisis menggunakan metode DNS berdasarkan Ghose (1987) untuk selulase dan Bailey *et al.* (1992) untuk xilanase.

Pengujian selulase dilakukan menggunakan substrat *carboxymethyl cellulose* (CMC) dan xilanase menggunakan *beechwood xylan*, substrat tersebut masing-masing dilarutkan menggunakan larutan buffer natirum asetat 0,1 M untuk membentuk 1% substrat. Ekstrak enzim kasar diencerkan dengan faktor pengenceran 10^0 dan 10^{-1} untuk selulase dan 10^{-1} untuk xilanase menggunakan larutan buffer natirum asetat. Sebanyak 1 mL ekstrak enzim kasar ditambahkan ke dalam 1 mL substrat dan diinkubasi pada temperatur 50 °C selama 30 menit. Kemudian reagen DNS ditambahkan sebanyak 1,5 mL ke dalam masing-masing sampel dan sampel dipanaskan pada air mendidih selama 5 menit. Pendinginan dilakukan sesegera mungkin setelah pemanasan dengan menempatkan sampel ke dalam air dingin hingga temperatur sampel turun.

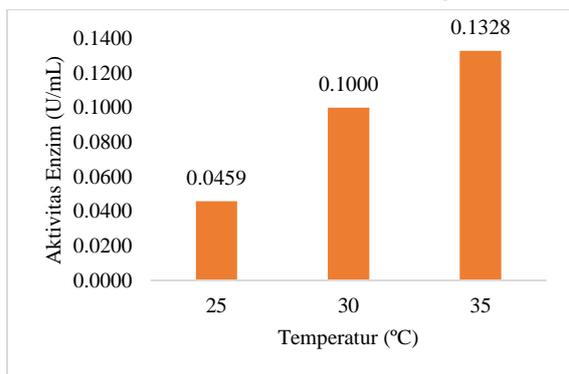
Sampel kemudian diencerkan dengan 25 mL akuades dan dilakukan pengujian menggunakan spektrofotometer *visible* pada λ 540 nm. Enzim blank atau absorbansi kontrol dibuat dengan perlakuan yang sama dengan sampel enzim, namun 1 mL ekstrak enzim kasar ditambahkan setelah dilakukan penambahan reagen DNS. Konsentrasi gula yang terbentuk ditentukan dengan menghitung selisih absorbansi sampel dan enzim blank. Aktivitas enzim dihitung dengan menggunakan persamaan (1) berikut.

$$\text{Enzyme Activity (U/mL)} = \frac{C}{V(\text{BM Produk})(t)} \times \frac{1}{D_f} \quad (1)$$

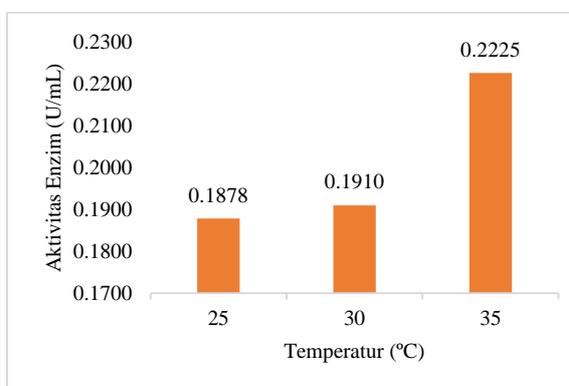
- C : Massa monomer gula yang terbentuk (mg)
 V : Volume enzim yang ditambahkan (mL)
 BM : Berat molekul gula (mg/ μ mol)
 t : Waktu inkubasi (menit)
 D_f : Faktor Pengenceran

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dipelajari pengaruh temperatur produksi enzim terhadap aktivitas enzim selulase dan xilanase dari *Eupenicillium javanicum* dengan substrat bonggol nanas menggunakan metode fermentasi *solid state* dan membandingkan hasil aktivitas enzim hasil produksi dengan metode fermentasi *solid state* dan *submerged*.



Gambar 1. Aktivitas Enzim Selulase pada Variasi Temperatur dan pH 4



Gambar 2. Aktivitas Enzim Xilanase pada Variasi Temperatur dan pH 4

3.1 Pengaruh Temperatur terhadap Produksi Enzim Selulase dan Xilanase

Hasil uji aktivitas enzim pada temperatur 25, 30 dan 35 °C dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Pada gambar tersebut terlihat bahwa aktivitas enzim meningkat seiring dengan peningkatan temperatur. Aktivitas enzim selulase tertinggi terjadi pada temperatur 35 °C yaitu sebesar 0,1328 U/mL. Sama halnya dengan enzim selulase, aktivitas tertinggi enzim xilanase terjadi pada temperatur 35 °C yaitu sebesar 0,2225 U/mL.

Temperatur dapat mempengaruhi proses reaksi enzimatik. Temperatur optimum merupakan temperatur yang tepat bagi suatu reaksi yang menggunakan enzim. Peningkatan temperatur dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia enzim, namun jika peningkatan yang terjadi terlalu tinggi dapat menyebabkan denaturasi enzim yaitu berubahnya struktur protein enzim terutama perubahan pada ikatan ionik dan ikatan hidrogennya yang dapat menurunkan kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim tersebut (Saropah, *et al.*, 2012).

Peningkatan temperatur juga dapat menyebabkan pergerakan makromolekul selular yang digunakan untuk metabolisme kapang hingga temperatur optimum tercapai, setelah melewati batas temperatur optimum makromolekul selular kapang juga meningkat sehingga mengalami denaturasi dan menghambat metabolisme mikroorganisme tersebut, hal ini berakibat pada menurunnya laju pertumbuhan (Batt, 2014).

Aktivitas enzim selulase dan xilanase tertinggi pada penelitian ini yaitu pada temperatur 35 °C, karena pada temperatur yang semakin tinggi dapat meningkatkan energi kinetik, sehingga menambah intensitas tumbukan antara substrat dengan enzim, tumbukan yang sering terjadi akan mempermudah

pembentukan kompleks enzim substrat, sehingga produk glukosa dan gula xilosa yang dihasilkan semakin banyak, oleh karena itu aktivitas enzim dibawah temperatur optimum (25 dan 30 °C) lebih rendah (Tarigan *et al.*, 2015).

3.3 Perbandingan Aktivitas Enzim Optimum pada Fermentasi *Solid State* dan *Submerged*

Perbandingan aktivitas enzim selulase dan xilanase dengan metode produksi fermentasi *solid state* dan *submerged* dilakukan pada temperatur 35 °C dan pH 6. Aktivitas enzim selulase dan xilanase pada kondisi *solid state* secara berturut-turut adalah 0,261 U/mL dan 1,683 U/mL, sementara pada kondisi *submerged* adalah 0,121 U/mL dan 0,501 U/mL. Hal ini dapat terjadi karena metode fermentasi yang digunakan sangat berbeda. *Solid state fermentation* dapat digunakan dalam kondisi yang cocok hanya untuk jamur (*fungi*) yang membutuhkan lebih sedikit air sehingga tidak dapat digunakan pada kondisi fermentasi yang membutuhkan kadar air tinggi yaitu metode fermentasi yang melibatkan bakteri (*submerged fermentation*) (Subraniyam dan Vimala, 2012).

Pada kondisi *submerged* kadar air yang berlebih menyebabkan terhalangnya interaksi molekul yang lebih sedikit akibat keberadaan molekul yang lebih banyak (*steric hindrance*), pada penelitian ini interaksi substrat dan mikroorganisme terhambat oleh keberadaan air yang berlebih sehingga menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Abdelhalem *et al.*, 2015).

Selain itu, keberadaan air juga mengurangi porositas substrat akibat terjadinya pembengkakan, hal ini menghambat perpindahan oksigen oleh karena itu perlu dilakukan pengadukan pada fermentasi *submerged* (Tao *et al.*, 2011). Hal ini sesuai dengan pernyataan Hölker dan Lenz (2005) bahwa *solid-state fermentation* memiliki kelebihan

dibandingkan dengan *submerged fermentation*, diantaranya memberikan produktivitas volumetrik yang lebih tinggi, menghasilkan enzim dengan stabilitas suhu dan pH yang tinggi, waktu fermentasi yang lebih pendek dan mengurangi biaya produksi.

4. KESIMPULAN

Peningkatan temperatur dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia enzim namun juga dapat terjadi denaturasi sehingga aktivitas enzim menurun dan dapat menurunnya laju pertumbuhan mikroorganisme. Perubahan pH dapat mempengaruhi aktivitas enzim yang menyebabkan perubahan muatan dan struktur enzim

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT. Satou Laboratories atas hibah D-Xilosa dan Ibu Fenti Fatmawati, MSi atas hibah xilan untuk penelitian ini pada tahun 2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Bailey, M, J. P, Biely. dan K, Poutanen. (1992). Interlaboratory Testing of Methods for Assay of Xylanase Activity. *Journal of Biotechnology*. 23: 257 – 270
- Ghose, T, K. (1987). Measurement of Cellulase Activities. *International Union of Pure and Applied Chemistry*. 59: 257 – 268
- Hölker, U., & Lenz, J. (2005). Solid-state fermentation—are there any biotechnological advantages?. *Current opinion in microbiology*, 8(3), 301-306.
- Jegannathan, K, R dan P, H, Nielsen. (2013). Environmental Assessment of Enzyme Use in Industrial Production. *Journal of Cleaner Production*. 42 : 228 – 240
- Kemenristekdikti. (2017). Kemandirian Produk Enzim Indonesia. *Siaran Pers*

Kemenristekdikti.

<https://ristekdikti.go.id/kabar/kemandirian-produk-enzim-indonesia/>.

Diakses pada 02 Agustus 2019

- Pardo, M, E, S. M, E, R, Cassellis. R, M, Escobedo. dan E, J, Garcia. (2014). Chemical Characterisation of Industrial Residues of Pineapple (*Ananas comusus*). *Scientific Research*. 3: 53-56
- Purwadaria, T. T, Haryati dan B. Tangendjaja. (2003). Optimation of β -Mannanase Production on Submerged Culture of *Eupenicillium javanicum* as well as pH and Temperatur Enzyme Characterizations. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 8: 46 - 54
- Saropah, A., Jannah A., Maunatin, A. 2012. Kinetika Reaksi Enzimatik Ekstrak Kasar Enzim Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. *Alchemy*. 2(1): 34-45.
- Subramaniam, R., & Vimala, R. (2012). Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study. *Int J Sci Nat*, 3(3), 480-486.
- Tao, N. Wen-qing S. Yue-jin L. dan Shi-rong H. (2011). Production of feed enzymes from citrus processing waste by solid-state fermentation with *Eupenicillium javanicum*. *International Journal of Food Science and Technology*. 46: 1073–1079