

**Pengaruh pH dan Suhu Penyimpanan pada Kestabilan
Aktivitas Enzim Xilanase Hasil Pemurnian yang
Diamobilkan pada Matriks Bentonit Teraktivasi HCl**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang kimia

Oleh:

IFFA NOVITASARI

135090201111061



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Pengaruh pH dan Suhu Penyimpanan pada Kestabilan Aktivitas Enzim Xylanase Hasil Pemurnian yang Diamobilkan pada Matriks Bentonit Teraktivasi HCl

oleh:

IFFA NOVITASARI

135090201111061

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal : **03 AUG 2017**
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Drs. Sutrisno, M.Si
NIP. 196203181990021001

Pembimbing II

Dra. Anna Roosdiana, M.App. Sc
NIP. 195807111992032002



Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 197310202002121001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Iffa Novitasari
NIM : 135090201111061
Jurusan : Kimia
Penulis skripsi berjudul : Pengaruh pH dan Suhu
Penyimpanan pada Kestabilan
Aktivitas Enzim Xilanase Hasil
Pemurnian yang Diamobilkan pada
Matriks Bentonit Teraktivasi HCl

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub diisi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,
Yang menyatakan,

(Iffa Novitasari)
NIM. 135090201111061

Pengaruh pH dan Suhu Penyimpanan pada Kestabilan Aktivitas Enzim Xilanase Hasil Pemurnian yang Diamobilkan pada Matriks Bentonit Teraktivasi HCl

ABSTRAK

Xilanase adalah suatu enzim yang dapat menghidrolisis hemiselulosa menjadi xilosa. Enzim xilanase dapat dihasilkan oleh kapang *Trichoderma viride*, kemudian dimurnikan dengan metode *salting out* menggunakan ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 40-80% dan didialisis menggunakan membran selofan. Enzim xilanase yang dihasilkan dilakukan amobilisasi untuk meningkatkan kestabilan dan efisiensi pemakaian sehingga enzim dapat digunakan berulang kali. Enzim xilanase diamobilkan pada matriks bentonit yang telah diaktivasi oleh HCl. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH dan suhu penyimpanan terhadap kestabilan aktivitas enzim xilanase yang telah diamobilkan. Kestabilan suatu ezim dapat dilihat dari aktivitas sisanya yang lebih dari 50% selama penyimpanan. Pengaruh pH dan suhu diamati dengan cara mengukur aktivitas enzim xilanase amobil selama 7 hari dengan variasi pH (3, 4, 5, 6) dan suhu (0, 5, 30, 50 °C). Xilosa ditentukan menggunakan metode spektrofotometri yang menggunakan reagen DNS. Aktivitas xilanase amobil sebesar 3,22 µg/mg.menit. Pada pengaruh pH, xilanase amobil stabil pada penyimpanan pH 5 sampai penyimpanan hari ke 6 dengan aktivitas sisa sebesar 60,6%. Sedangkan pada pengaruh suhu, xilanase amobil stabil pada penyimpanan suhu 50 °C sampai penyimpanan hari ke 6 dengan aktivitas sisa sebesar 66,17%. pH dan suhu penyimpanan berpengaruh beda nyata terhadap kestabilan aktivitas xilanase amobil.

Kata Kunci: Xilanase, Amobilisasi, Kestabilan, pH, Suhu

Effect of pH and Temperature Storage on Stability Purified Xylanase Enzyme Activity Immobilized Bentonite Matrix Activated by HCl

ABSTRACT

Xylanase is an enzyme that can hydrolyze hemicellulose into xylose. Xylanase enzyme can be produced by *Trichoderma viride*, then purified by salting out using ammonium sulfate with saturation level of 40-80% and dialysis using cellophane membrane. Xylanase enzyme is immobilized to increase the stability and efficiency of the application that the enzyme can be used repeatedly. Xylanase enzyme is immobilized on a bentonite matrix that has been activated by HCl. This study aims to determine effect of pH and temperature storage on the stability of xylanase enzyme activity that has been immobilized. The stability of an enzyme can be seen from the residual activity of more than 50% during storage. The effect of pH and temperature was observed by measuring the activity of immobilized xylanase enzyme for 7 days with variation of pH (3, 4, 5, 6) and temperature (0, 5, 30, 50 °C). Xylose was determined using spectrophotometric method using DNS reagent. The immobilized xylanase activity was 3.22 µg/mg.min. The effect of pH, immobilized xylanase is stable at storage pH 5 up to 6 days storage with residual activity of 60.6%. While the effect of temperature, immobilized xylanase is stable at 50 °C until 6 days storage with residual activity of 66.17%. pH and storage temperature have significant effect on stability of immobilized xylanase activity.

Keyword: Xylanase, Immobilization, Stability, pH, Temperature

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji syukur penyusun panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **”Pengaruh pH dan Suhu Penyimpanan pada Kestabilan Aktivitas Enzim Xilanase Hasil Pemurnian yang Diamobilkan pada Matriks Bentonit Teraktivasi HCl”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia, di Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang.

Penulis menyadari bahwa selama pelaksanaan dan penyelesaian skripsi ini telah banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Drs. Sutrisno, M.Si selaku Dosen Pembimbing I, yang telah banyak memberikan saran dan bimbingan selama penyusunan proposal penelitian, pelaksanaan penelitian hingga penulisan.
2. Dra. Anna Roosdiana, M.App, Sc selaku Dosen Pembimbing II, yang telah memberikan saran dan arahan dalam pelaksanaan penelitian sampai penyusunan skripsi.
3. Masruri, S.Si.,M.Si.,Ph.D, selaku Ketua Jurusan Kimia yang telah memberikan dukungan dalam proses penyelesaian skripsi.
4. Choirul Anam dan Kusmiatun selaku orang tua penulis yang selalu mendoakan, memberi dukungan baik spiritual maupun materil, dan motivasi kepada penulis.
5. Arif Efendi, S.Pd. dan Zaenal Abidin yang selalu mendoakan, memberi dukungan dan semangat kepada penulis.
6. Janatun Na’imah, S.Si., M.Si., Nur Lailah, S.Si., M.Si., Silvi Fatma H, S.Si., dan Gita Diastirana C, S.Si., serta Bpk. Maryono selaku Laboran Biokimia yang telah berbagi ilmu terkait penelitian ini.
7. Merry Hastyani, Weni Astutik, Wahyu Gesit Saputro, Widia Edy Kuncoro, Syathir Aziz, Ningtyas Megarahayu dan Gempar Aditya Prabowo selaku rekan penelitian.
8. *”Princess’s dan Peri Haryono”* yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis.
9. Teman-teman Kimia C dan Kimia 2013 yang memberikan dukungan kepada penulis.

10.Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuannya hingga terselesaikan laporan ini.

Penulis menyadari dalam laporan ini masih banyak terdapat kekurangan. Untuk itu, penulis mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat khususnya bagi Penulis dan pembaca pada umumnya. Amin.

Malang, 24 Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Enzim	4
2.2 Enzim Xilanase	5
2.3 Xilan	6
2.4 Klobot Jagung	7
2.5 Isolasi dan Pemurnian Enzim	8
2.6 Amobilisasi Enzim	8
2.7 Bentonit	10
2.8 Kestabilan Enzim	11
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	12
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	12
3.3 Tahapan Penelitian	12
3.4 Prosedur Kerja	13
BAB IV PEMBAHASAN	
4.1 Produksi dan Isolasi Enzim Xilanase dari <i>Trichoderma viride</i>	21
4.2 Amobilisasi Xilanase	23
4.2.1 Preparasi dan Aktivasi Bentonit	23
4.2.2 Amobilisasi Xilanase pada Matriks Bentonit	24

4.3	Penentuan Pengaruh Suhu terhadap Kestabilan Aktivitas Xilanase Amobil	25
4.4	Penentuan Pengaruh pH terhadap Kestabilan Aktivitas Xilanase amobil	28
BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	32
5.2	Saran	32
DAFTAR PUSTAKA		33
LAMPIRAN		37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	: Struktur xilan	7
Gambar 2.2	: Struktur montmorillonit	10
Gambar 4.1	: Mekanisme reaksi enzimatis pembentukan xilosa	23
Gambar 4.2	: Grafik aktivitas xilanase amobil setelah diinkubasi pada variasi suhu dan lama penyimpanan	25
Gambar 4.3	: Grafik aktivitas xilanase amobil setelah diinkubasi pada variasi pH dan lama penyimpanan	28
Gambar 4.4	: Grafik aktivitas xilanase amobil setelah diinkubasi pada variasi suhu dan lama penyimpanan	29
Gambar 4.5	: Grafik % aktivitas sisa xilanase amobil setelah diinkubasi pada variasi suhu dan lama penyimpanan	31
Gambar D.1	: Kurva baku gula pereduksi	43
Gambar E.1	: Kurva baku kasein	45

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	: Mikroorganisme penghasil enzim xilanase	5
Tabel 2.2	: Kandungan kimiawi kulit jagung	7
Tabel 4.1	: % aktivitas xilanase amobil setelah diinkubasi variasi suhu dan lama penyimpanan	27
Tabel 4.2	: % aktivitas xilanase amobil setelah diinkubasi variasi pH dan lama penyimpanan	29
Tabel D.1	: Data absorbansi larutan glukosa pada λ 480 -506 nm	43
Tabel D.2	: Absorbansi gula pereduksi pada λ 490 nm	43
Tabel E.1	: Data absorbansi larutan kasein pada λ 460 – 600 nm	44
Tabel E.2	: Absorbansi kasein pada λ 540	44
Tabel F.1	: Aktivitas xilanase bebas	46
Tabel G.1	: Kadar protein awal	46
Tabel H.1	: Aktivitas xilanase amobil	47
Tabel I.1	: Kadar protein sisa	47
Tabel J.1.	: Data absorbansi xilanase amobil pada variasi suhu dan lama penyimpanan	49
Tabel J.2	: Data konsentrasi gula pereduksi xilanase amobil pada variasi suhu dan lama penyimpanan	49
Tabel J.3	: Data aktivitas xilanase amobil pada variasi suhu dan lama panyimpanan	50
Tabel J.4	: Data standar deviasi aktivitas xilanase amobil pada variasi suhu dan lama penyimpanan	50
Tabel J.5	: Data rata-rata aktivitas xilanase amobil pada variasi suhu dan lama penyimpanan	50
Tabel K.1	: Data absorbansi xilanase amobil pada variasi pH dan lama penyimpanan	52
Tabel K.2	: Data konsentrasi gula pereduksi xilanase amobil pada variasi pH dan lama penyimpanan	52
Tabel K.3	: Data aktivitas xilanase amobil pada	53

	variasi pH dan lama penyimpanan	
Tabel K.4	: Data standar deviasi aktivitas xilanase amobil pada variasi pH dan lama penyimpanan	53
Tabel K.5	: Data rata-rata aktivitas xilanase amobil pada variasi suhu dan lama penyimpanan	54
Tabel L.1.1	: ANOVA variasi suhu	54
Tabel L.1.2	: BNJ 5% pada pengaruh suhu penyimpanan	55
Tabel L.1.3	: BNJ 5% pada pengaruh lama penyimpanan	55
Tabel L.2.1	: ANOVA variasi pH	56
Tabel L.2.2	: BNJ 5% pada pengaruh pH penyimpanan	56
Tabel L.2.1	: BNJ 5% pada pengaruh pH penyimpanan	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A.	: Kerangka operasional penelitian	37
Lampiran B.	: Preparasi larutan	38
Lampiran C.	: Perhitungan preparasi larutan	40
Lampiran D.	: Pengukuran panjang gelombang maksimum dan kurva baku gula pereduksi	43
Lampiran E.	: Pengukuran panjang gelombang maksimum dan kurva baku kasein	44
Lampiran F.	: Aktivitas xilanase bebas	45
Lampiran G.	: Kadar protein awal	46
Lampiran H.	: Aktivitas xilanase amobil	46
Lampiran I.	: Kadar protein sisa	47
Lampiran J.	: Perhitungan aktivitas xilanase amobil pada variasi suhu terhadap lama penyimpanan	48
Lampiran K.	: Perhitungan aktivitas xilanase amobil pada variasi pH terhadap lama penyimpanan	51
Lampiran L.	: Analisa Statistika	54