

Pengaruh Jenis Pengemban pada Kultur *Trichoderma viride* terhadap Kestabilan Aktivitas Enzim Xilanase

SKRIPSI

oleh:
YOSHI BRILIANT H.D
105090209111004



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012

Pengaruh Jenis Pengemban pada Kultur *Trichoderma viride* terhadap Kestabilan Aktivitas Enzim Xilanase

SKRIPSI

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

oleh:

YOSHI BRILIANT H.D

105090209111004



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Pengaruh Jenis Pengemban pada Kultur *Trichoderma viride*
terhadap Kestabilan Aktivitas Enzim Xilanase**

oleh:

**YOSHI BRILIANT H.D
105090209111004**

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

Pembimbing I

Pembimbing II

**Drs. Sutrisno, M.Si.
NIP. 19620318 1990021001**

**Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS
NIP. 19520412 1980021001**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

**Dr. SasangkaPrasetyawan, MS
NIP. 19630404 1987011001**

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Yoshi Brilliant H.D
NIM : 105090209111004
Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

**“Pengaruh Jenis Pengemban pada Kultur *Trichoderma viride*
terhadap Kestabilan Aktivitas Enzim Xilanase”**

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 termaksud di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata tugas akhir yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.
Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Agustus 2012
Yang menyatakan,

Yoshi Brilliant H.D
NIM. 105090209111004

Pengaruh Jenis Pengemban pada Kultur *Trichoderma viride* terhadap Kestabilan Aktivitas Enzim Xilanase

ABSTRAK

Xilanase merupakan enzim yang berfungsi sebagai biokatalis untuk menghidrolisis substrat xilan (hemiselulosa) menjadi gula pereduksi yakni xilosa. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan suhu dan waktu penyimpanan yang sesuai untuk menjaga kestabilan enzim xilanase dalam pengemban yang berbeda yaitu klobot jagung, jerami padi, dan ampas tebu. Xilanase diisolasi dari kultur *Trichoderma viride*, masing-masing pengemban dicampurkan dalam inokulum kapang dengan perbandingan 25 g pengemban dan 25 mL inokulum, kemudian campuran tersebut dikeringkan dalam oven vakum. Campuran pengemban dan inokulum disimpan selama 5 minggu pada suhu penyimpanan (0, 4, dan 25)°C. Aktivitas xilanase ditentukan berdasarkan banyaknya μg gula pereduksi yang terbentuk setiap 1 ml enzim dengan waktu reaksi satu menit. Gula pereduksi diukur secara spektrofotometri UV-Vis menggunakan pereaksi asam dinitrosalisilat (DNS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas xilanase dalam pengemban tepung klobot jagung, tepung jerami padi, tepung ampas tebu, dan kontrol (tanpa pengemban) berturut-turut sebesar 2.378 Unit, 2.11 Unit, 1.534 Unit dan 1.301 Unit. Dengan hasil uji statistika untuk aktivitas enzim tanpa pengemban dalam variabel suhu pada minggu ke-5 memiliki pengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kestabilan aktivitas enzim, begitu pula dengan aktivitas enzim dalam pengemban pada variabel suhu baik dengan pengemban klobot jagung, jerami padi maupun ampas tebu pada minggu ke-5 memiliki pengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kestabilan aktivitas enzim. Kestabilan aktivitas enzim xilanase dalam pengemban tepung klobot jagung, tepung jerami padi, dan ampas tebu dapat bertahan hingga 5 minggu pada suhu 0°C, 4°C dan 25°C tetapi pada suhu 25°C mengalami penurunan aktivitas enzim lebih besar dibandingkan dengan suhu 0°C dan 4°C. Meskipun demikian, nilai aktivitas enzim dalam masing-masing pengemban dapat mempertahankan aktivitas sisanya lebih dari 50%.

Kata kunci: Xilanase, *Trichodermaviride*, Aktivitasxilanase

Influence of Culture *Trichoderma viride* Bearers Xylanase Enzymes Activities for Stability

ABSTRACT

Xylanase is an enzyme that functions as a biocatalyst to hydrolyze the substrate xylan (hemicellulose) into the reducing sugar xylose. This study aims to determine the temperature and storage time is appropriate to maintain the stability of the xylanase enzyme in a differing bearers klobot corn, rice straw and bagasse. Xylanase isolated from *Trichoderma viride* culture, each carrier of the fungus inoculum was mixed in a ratio of 25 g bearers and 25 mL of inoculum, and then the mixture was dried in a vacuum oven. Carrier of the inoculum mixture and stored for 5 weeks at storage temperatures (0, 4, and 25) °C. Xylanase activity is determined by the number of mg reducing sugar formed per 1 ml of the enzyme with a time reaction of one minute. Reducing sugar was measured by spectrophotometry using a UV-Vis dinitrosalisilat acid reagent (DNS). The results showed that the xylanase activity in flour bearers klobot corn flour, rice straw, bagasse flour, and control (without the carrier) a row of Unit 2.378, 2.11 Unit, Unit 1.534 and Unit 1.301. With the results of statistical tests for enzyme activity in variable temperature without the caretaker at week-5 has a very real effect ($P < 0.01$) of enzyme activity and the caretaker klobot corn, rice straw and bagasse flour in variable temperature at week-5 has a very real effect ($P < 0.01$) of enzyme activity. The stability of xylanase enzyme activity in the carrier of klobot flour corn, can last up to 5 weeks at 0°C, 4°C and 25°C, but at a temperature of 25°C decreased enzyme activity is more than large compared to the temperature of 0°C and 4°C. Nevertheless, the enzyme activity in each of the caretaker to maintain the activity of the up to 50%.

Key words: xylanase, *Trichodermaviride*, Aktivitasxilanase

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan ke hadirat Allah SWT, karena hanya dengan rahmatNya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Pengaruh Jenis Pengemban pada Kultur *Trichoderma viride* terhadap Kestabilan Aktivitas Enzim Xilanase**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia, di Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis memberikan penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Drs. Sutrisno, M.Si., selaku dosen pembimbing I yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, serta dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.
2. Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS, selaku Ketua Jurusan Kimia, dan dosen peninjau yang telah memberikan bimbingan, saran, kritik, dan masukan bagi penulis.
4. Kedua orang tua tercinta (Ayahanda Agus Susanto dan Ibuda Zaqlul), dan adik-adik tercinta (Frendly dan Firli) terima kasih atas doa dan dukungannya baik spiritual ataupun materi selama ini.
5. Pit Angga yang selalu memberi semangat dan dukungan.
6. Semua pihak yang telah banyak membantu memberikan dukungan dan semangat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Skripsi ini tentunya masih terdapat banyak kesalahan dan kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran demi penyempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, Agustus 2012
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Enzim	4
2.1.1 Faktor - faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim.....	5
2.1.2. Isolasi Enzim.....	6
2.1.3. Xilanase	7
2.2. <i>Trichoderma viride</i>	8
2.3 Xilan.....	9
2.4 Pengemban	10
2.4.1. Ampas Tebu.....	10
2.4.2. Klobot Jagung	11
2.4.3 Jerami Padi.....	12
2.5. Pengujian Aktivitas Enzim Xilanase	13
2.6. Spektrofotometer UV- Vis	14
2.7. Uji Statistika.....	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
3.1 Bahan dan Alat Penelitian	16
3.1.1 Bahan Penelitian.....	16

3.1.2 Bahan Kimia.....	16
3.1.3 Alat Penelitian.....	16
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.3 Tahapan penelitian.....	17
3.4 Prosedur Kerja.....	18
3.4.1 Pembuatan Media Padat	18
3.4.2 Penanam Biakan Murni <i>Trichoderma viride</i>	18
3.4.3 Media cair.....	18
3.4.4 Pembuatan Inokulum	19
3.4.5 Produksi Enzim Xilanase	19
3.4.6 Isolasi Enzim.....	19
3.4.7 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	20
3.4.8 Pembuatan Kurva Standar Gula Pereduksi	20
3.4.9 Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Xilanase.....	21
3.4.10 Pembuatan Campuran Kultur Jamur <i>Trichoderma viride</i> dengan Berbagai Jenis Pengemban	22
3.4.11 Pengaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase dalam Berbagai Pengemban.....	23
3.4.12 Penentuan Aktivitas Enzim Dalam Pengemban	23
3.4.13 Analisa Data.....	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Pengaruh Jenis Pengemban terhadap Aktivitas Xilanase.....	25
4.2 Pengaruh Suhu dan Waktu penyimpanan terhadap kestabilan Aktivitas Xilanase	28
4.2.1 Pengaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan terhadap kestabilan Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban.....	28
4.2.2 Pengaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan terhadap kestabilan Aktivitas Xilanase dalam Pengemban	30
4.3 Pengaruh Pengemban dan Waktu	

Penyimpanan Terhadap Kestabilan Aktivitas Xilanase pada Berbagai Suhu Penyimpanan.....	34
--	----

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran.....	37

DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	44



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	: Struktur Bangun Xilan	9
Gambar 2.2	: Reaksi DNS dan Glukosa.....	14
Gambar 4.1	: Mekanisme Reaksi Enzim Xilanase dan Xilan.....	26
Gambar 4.2	: Grafik Hubungan antara Suhu dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Enzim Xilanase Tanpa Pengemban.....	29
Gambar 4.3	: Grafik Hubungan antara Suhu dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Enzim Xilanase dengan Pengemban	31
Gambar 4.4	: Grafik Hubungan antara jenis pengemaban dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Enzim Xilanase pada suhu penyimpanan 0°C.	34
Gambar 4.5	: Grafik Hubungan antara jenis pengemaban dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Enzim Xilanase pada suhu penyimpanan 4°C.	35
Gambar 4.6	: Grafik Hubungan antara jenis pengemaban dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Enzim Xilanase pada suhu penyimpanan 25°C.	35
Gambar E.1	: Kurva Pertumbuhan <i>Trichodrma viride</i>	49
Gambar F.1	: Kurva Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	50
Gambar G.1	: Kurva Stadar Glukosa	51

DAFTAR TABEL

Table 4.1	: Aktivitas Xilanase Dalam Berbagai Jenis Pengemban	27
Tabel E.1	: Pertumbuhan <i>Trichoderma viride</i>	49
Tabel F.1	: Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	50
Tabel G.1	: Absorbansi Larutan Standar Glukosa	51
Tabel H.1	: Data Berat Campuran Biakan Setelah Dikeringkan dalam Oven Vakum.....	52
Tabel H.2	: Persentase Kadar Air campuran biakan kultur dan pengemban	53
Tabel I.1.1	: Absorbansi Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban	54
Tabel I.1.2	: Absorbansi Aktivitas Xilanase dengan Pengemban Tepung Klobot Jagung.....	55
Tabel I.1.3	: Absorbansi Penentuan Aktivitas Xilanase dengan Pengemban Tepung Jerami Padi	55
Tabel I.1.4	: Absorbansi Penentuan Aktivitas Xilanase dengan pengemban Tepung Ampas Tebu	57
Tabel I.2.1	: Konsentrasi Gula Pereduksi pada Penentuan Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban Setelah Perlakuan.....	59
Tabel I.2.2	: Konsentrasi Gula Pereduksi pada Penentuan Aktivitas Xilanase Dalam Pengemban Tepung Klobot Jagung Setelah Perlakuan	60
Tabel I.2.3	: Konsentrasi Gula Pereduksi pada Penentuan Aktivitas Xilanase Dalam Pengemban Tepung Jerami Padi Setelah Perlakuan.....	61
Tabel I.2.4	: Konsentrasi Gula Pereduksi pada Penentuan Aktivitas Xilanase	

	Dalam Pengemban Tepung Ampas Tebu Setelah Perlakuan	62
Tabel I.3.1	: Absorbansi Penentuan aktivitas enzim pada minggu ke-0.....	64
Tabel I.3.2	: Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban Setelah Perlakuan.....	65
Tabel I.3.3	: Aktivitas Xilanase Dalam Pengemban Tepung Klobot Jagung Setelah Perlakuan	66
Tabel I.3.4	: Aktivitas Xilanase Dalam Pengemban Tepung Jerami Padi Setelah Perlakuan	67
Tabel I.3.5	: Aktivitas Xilanase Dalam Pengemban Tepung Ampas Tebu Setelah Perlakuan	68
Tabel J.1.1	: Analisa Ragam Satu Arah Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban	71
Tabel J.1.2	: Data Uji BNT 1% Tanpa Pengemban terhadap Variasi Suhu Penyimpanan	71
Tabel J.2.1	: Analisa Ragam Satu Arah Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase Pengemban Klobot Jagung	72
Tabel J.2.2	: Data Uji BNT 1% Pengemban Klobot Jagung terhadap Variasi Suhu Penyimpanan	72
Tabel J.3.9	: Analisa Ragam Satu Arah Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase Pengemban Jerami Padi	73
Tabel J.3.10	: Data Uji BNT 1% Pengemban Jerami Padi terhadap Variasi Suhu Penyimpanan	73
Tabel J.4.9	: Analisa Ragam Satu Arah Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase Pengemban Ampas Tebu.....	74

Tabel J.4.10 : Data Uji BNT 1% Pengemban Ampas
Tebu terhadap Variasi Suhu
Penyimpanan..... 74

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Komposisi Media Pertumbuhan.....	44
A.1 Media Padat	44
A.2 Media Cair	44
Lampiran B. Preparasi Larutan	44
B.1 Reagen DNS (asam dinitrosalisilat).....	44
B.2 Larutan xilan 1% b/v dalam buffer asetat pH 5	45
B.3 Larutan Stok Glukosa 1000 µg/mL.....	45
B.4 Larutan Standar Glukosa.....	45
B.5 Larutan Asam asetat 0,2 M	45
B.6 Larutan Natrium asetat 0,2 M	45
Lampiran C. Perhitungan Preparasi Larutan	46
C.1 Larutan Asam asetat (CH ₃ COOH) 0,2 M	46
C.2 Larutan Natrium asetat (CH ₃ COONa) 0,2 M.....	46
C.3 Larutan Buffer asetat pH 5.....	47
Lampiran D. Alur Penelitian	48
Lampiran E. Kurva Pertumbuhan <i>Trichoderma viride</i>	49
Lampiran F. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	50
Lampiran G. Absorbansi Larutan Standar Glukosa	51
Lampiran H. Penentuan Kadar Air Campuran Kultur dan Pengemban.....	52
Lampiran I. Penentuan Aktivitas Xilanase	54
I.1. Data Absorbansi Aktivitas Xilanase Setelah Disimpan pada berbagai Waktu Penyimpanan pada berbagai Suhu	54
I.2 Perhitungan Konsentrasi Gula Pereduksi.....	58
I.3 Penentuan Aktivitas Xilanase.....	63
Lampiran J. Analisa Statistika.....	69
J.1 Analisa Statistika Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban pada berbagai Suhu Penyimpanan.....	69
J.2 Analisa Statistika Aktivitas Xilanase	

Pengemban Klobot Jagung pada berbagai Suhu Penyimpanan	72
I.3 Analisa Statistika Aktivitas Xilanase Pengemban Jerami Padi pada berbagai suhu Penyimpanan.....	73
I.4. Analisa Statistika Aktivitas Xilanase Pengemban Ampas Tebu pada berbagai Suhu Penyimpanan	74

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB I

PENDAHULUAN

1.6 Latar Belakang

Xilanase merupakan enzim yang berfungsi sebagai biokatalis reaksi hidrolisis substrat xilan (hemiselulosa) menjadi gula pereduksi yaitu xilosa [1]. Xilanase dapat dihasilkan oleh sejumlah mikroorganisme seperti : *Trichoderma viride*, *Bacillus*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizomucor*, dan *Humicola* [2].

Berdasarkan pembentukannya, xilanase merupakan enzim induktif yaitu pembentukan enzim yang dirangsang oleh adanya substrat yang berfungsi sebagai inducer, dalam hal ini adalah xilan [3]. Xilan merupakan polimer dari xilosa yang dihubungkan melalui ikatan β -1,4 yang memiliki jumlah monomer 150-200 unit [1]. Xilanase memiliki peranan penting dalam dunia industri, misalnya pada proses biobleaching pada industri pulp, pembuatan gula xilosa, produksi makanan dan minuman, produksi pakan ternak, peningkatan kualitas roti, penyerap air dan juga produksi biofuel [4].

Bakteri dan jamur adalah jenis mikroorganisme yang sudah umum menghasilkan xilanase. Aktivitas xilanase dari golongan jamur jauh lebih tinggi daripada bakteri, meskipun enzim yang dihasilkan oleh golongan bakteri memiliki ketahanan pada temperatur yang lebih tinggi dibanding jamur. Di samping itu, jamur lebih banyak digunakan dalam produksi enzim skala industri karena produksi yang tinggi dan kemudahan dalam kultivasi [5]. *Trichoderma viride* mempunyai kelebihan pertumbuhan dibandingkan dengan jenis kapang lainnya, yaitu dapat tumbuh cepat di berbagai substrat. Selain itu *Trichoderma viride* dapat berkembangbiak pada kondisi pH asam (2,1-2,5). Temperature optimum untuk pertumbuhan *Trichoderma viride* adalah 30 °C [6].

Seringkali enzim yang diproduksi tidak langsung digunakan, sehingga harus disimpan terlebih dahulu. Pada saat penyimpanan enzim mengalami penurunan aktivitas yang signifikan maka dari itu diperlukan pengemban. Pengemban merupakan suatu bahan

yang ditambahkan ke dalam suatu media yang berfungsi untuk menjaga kestabilan aktivitas enzim yang terdapat pada kultur mikroba [7]. Selain itu, pengemban dapat menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan jamur dalam media tersebut sehingga jamur dapat tetap hidup. Penggunaan tepung sebagai bahan pengemban untuk mengemban enzim relative sering digunakan karena memiliki harga yang murah dan praktis dalam penggunaannya [8].

Beberapa limbah pertanian yang dapat dimanfaatkan sebagai pengemban adalah klobot jagung yang mengandung hemiselulosa 41,16% [10]. Jerami padi mengandung hemiselulosa 30,4% [11]. Dan ampas tebu mengandung hemiselulosa 25% [12]. Perubahan suhu berpengaruh terhadap kestabilan aktivitas enzim dalam pengemban. Untuk menjaga kestabilan aktivitas xilanase, perlu dilakukan penyimpanan pada suhu penyimpanan yang sesuai sehingga enzim yang ada dalam pengemban tetap stabil. Penyimpanan enzim biasanya dilakukan pada suhu rendah, karena pada suhu rendah enzim hampir tidak mengalami denaturasi [9].

Stabilitas enzim yang tinggi dibutuhkan dalam aplikasi komersial dari xilanase. Stabilitas enzim antara lain dipengaruhi oleh temperatur, pH, waktu penyimpanan, dan senyawa-senyawa yang dapat menonaktifkan enzim, misalnya protease, dan penyebab denaturasi lainnya. Persen penurunan aktivitas enzim adalah aktivitas enzim sebelum perlakuan dikurangi dengan aktivitas enzim setelah perlakuan dibagi aktivitas enzim sebelum perlakuan dikali seratus persen. Kestabilan suatu enzim dapat dilihat dari grafik aktivitas sisa dengan waktu inkubasi, di mana enzim dinyatakan stabil apabila masih mampu menghambat penurunan aktivitas enzim, sehingga penurunan aktivitasnya kurang dari 50% [13].

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Handayani [14] aktivitas xilanase dalam pengemban tepung klobot jagung memiliki kestabilan aktivitas paling tinggi dari pada tepung kulit kedelai dan tepung jerami padi. Sedangkan nilai aktivitas xilanase tanpa pengemban memiliki kestabilan aktivitas paling rendah.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

- 1.2.1. Berapa suhu penyimpanan yang sesuai untuk menjaga kestabilan xilanase dalam media pengemban ampas tebu, klobot jagung, dan jerami padi?
- 1.2.2. Berapa waktu penyimpanan yang sesuai untuk menjaga kestabilan xilanase dalam media pengemban ampas tebu, klobot jagung, dan jerami padi?

1.3 Batasan Masalah

- 1.3.1. Waktu penyimpanan selama lima minggu.
- 1.3.2. Suhu penyimpanan pada suhu (0, 4, dan 25)°C.

1.4 Tujuan Penelitian

- 1.4.1 Menentukan suhu penyimpanan yang sesuai untuk menjaga kestabilan xilanase dalam media pengemban ampas tebu, klobot jagung, dan jerami padi.
- 1.4.2 Menentukan waktu simpan xilanase dalam media pengemban ampas tebu, klobot jagung, dan jerami padi.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang tepat mengenai jenis pengemban yang cocok dalam media kultur *Trichoderma viride* untuk mengemban xilanase dan daya simpan xilanase pada pengemban dengan suhu penyimpanan yang sesuai.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Enzim

Enzim merupakan katalisator organik yang dihasilkan oleh sel. Enzim sangat penting dalam kehidupan karena semua reaksi metabolisme dikatalis oleh enzim. Jika enzim tidak ada atau aktivitas enzim terganggu maka reaksi metabolisme sel akan terhambat sehingga pertumbuhan sel juga akan terganggu. Reaksi-reaksi enzimatik diperlukan oleh jamur agar dapat memperoleh makanan atau nutrisi dalam keadaan terlarut yang dapat diserap ke dalam sel, memperoleh energi kimia yang digunakan untuk biosintesis, perkembangbiakan, pergerakan, dan lain-lain [15].

Enzim memiliki beberapa sifat khusus, yaitu : kecepatan reaksi yang dikatalis secara enzimatik sangat tinggi (peningkatan kecepatan umumnya sampai 10^6 kali). Selain itu, spesifitas enzim sangat tinggi terhadap reaksi yang dikatalis, dan produk samping sangat jarang terbentuk [16].

Enzim bekerja secara khas terhadap substrat yaitu dengan cara menempel pada permukaan molekul substrat sehingga dapat mempercepat proses reaksi. Agar enzim dapat bekerja dengan substrat maka harus ada hubungan antara enzim dengan substrat, yang hanya terjadi pada bagian tempat tertentu saja (sisi aktif). Sisi aktif adalah bagian yang dapat mengikat substrat dan gugusan prostetik apabila ada. Mekanisme kerja enzim meliputi pembentukan kompleks antara enzim dengan substrat kemudian terjadi perombakan menghasilkan produk dan enzim yang tidak berubah. Model gembok dan kunci, di mana bentuk gembok sesuai dengan kunci. Beberapa ahli kemudian menemukan bahwa lokasi aktif dari beberapa enzim ternyata mempunyai konfigurasi yang tidak kaku, cara ini disebut dengan Induce Fit Model. Model ini menjelaskan bahwa enzim berubah bentuk menyesuaikan diri dengan bentuk substrat setelah terjadi pengikatan. Hubungan antara enzim dengan substrat menyebabkan terjadinya kompleks enzim substrat. kompleks

merupakan kompleks yang bersifat sementara dan akan terurai lagi, apabila reaksi yang diinginkan telah terjadi [17].

Kompleks enzim-substrat terbentuk dengan kecepatan tertentu. Kecepatan proses reaksi terjadi karena enzim menurunkan energi aktivasi, yang dengan sendirinya akan mempermudah terjadinya reaksi. Sebagian besar enzim bekerja secara spesifik, yang artinya setiap jenis enzim hanya dapat bekerja pada satu macam senyawa atau reaksi kimia [18].

2.1.1 Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim

Dalam melakukan aktifitasnya untuk mengkatalisis suatu reaksi kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa factor yaitu :

1. pH

pH sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim, karena sifat ionik gugus karboksil dan gugus amino mudah dipengaruhi oleh pH. Hal ini menyebabkan konformasi dan fungsi katalitik enzim menjadi berubah. Enzim memiliki pH optimum yang khas yaitu pH yang menyebabkan aktivitas maksimal [19].

2. Temperatur

Enzim memiliki kisaran temperatur tertentu yang mempengaruhi kemampuan katalisisnya. Pada temperatur yang rendah laju reaksi sangat kecil, sedangkan pada temperatur yang terlalu tinggi inaktivasi enzim kuat sehingga reaksi dapat terhenti [20].

Reaksi berlangsung paling cepat pada temperatur optimum. "Laju reaksi meningkat dengan kenaikan temperatur dan akhirnya enzim kehilangan aktivitasnya karena kerusakan struktur protein enzim, terutama

kerusakan pada ikatan ion dan ikatan hidrogennya akibat panas “[21].

3. Waktu inkubasi

Untuk berikatan dengan substrat, enzim memerlukan waktu inkubasi. Semakin lama waktu inkubasi maka semakin banyak pula enzim yang berikatan dengan substrat sehingga produk yang terbentuk semakin banyak. Apabila enzim sudah jenuh dengan substrat maka lamanya waktu inkubasi sudah tidak mempengaruhi lagi [22].

4. Kosentrasi enzim dan substrat

Kecepatan reaksi bergantung pada konsentrasi enzim yang berperan sebagai pengaktif dalam reaksi. Pada reaksi enzimatik, kecepatan reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi enzim. Maka semakin tinggi konsentrasi enzim, maka semakin cepat reaksi berlangsung.

Berdasarkan persamaan kinetika enzim, jika konsentrasi enzim dijaga konstan maka laju reaksinya akan bergantung pada konsentrasi substrat. Semakin besar konsentrasi substrat, laju reaksi juga semakin meningkat. Akhirnya akan mencapai suatu titik batas dan setelah titik batas terlampaui laju reaksi meningkat sangat kecil dengan meningkatnya konsentrasi substrat [23].

2.1.2. Isolasi enzim

Proses isolasi enzim didefinisikan sebagai proses pelepasan enzim dari sel. Enzim dapat diisolasi dari hewan, tanaman maupun mikroorganisme dengan menggunakan beberapa metode, yaitu secara mekanik, fisik, kimiawi, dan enzimatik melalui penghancuran membran atau dinding sel. Setelah penghancuran sel,

dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan enzim dari sisa sel (*debris cell*) yang telah hancur dan juga senyawa-senyawa yang tidak larut yang bertujuan untuk mendapatkan ekstrak kasar enzim [24].

Pemisahan partikel dari larutan pada metode sentrifugasi merupakan operasi utama dalam isolasi enzim. Ini termasuk pemisahan sel-sel dari medium biakan, pemisahan atau penghancuran sel dan pengumpulan presipitat [25]. Isolasi enzim dilakukan pada temperatur rendah dan campuran ditambahkan larutan penyangga (*buffer*) untuk mempertahankan kestabilan enzim. Enzim akan berada pada lapisan air (*supernatan*) [26].

Berdasarkan lokasi enzim di dalam sel, enzim dibagi menjadi dua jenis yakni enzim ekstraseluler (di luar sel) dan enzim intraseluler (di dalam sel). Isolasi enzim intraseluler lebih sulit dibanding enzim ekstraseluler, karena proses isolasinya diawali dengan pemecahan sel [27].

2.1.3. Xilanase

Xilanase merupakan kelompok enzim ekstraseluler yang memiliki kemampuan menghidrolisis xilan, dalam hal ini adalah xilan menjadi xilosa dan xilooligosakarida. Xilanase dapat diklasifikasikan berdasarkan substrat yang dihidrolisis, yaitu eksoxilanase, endoxilanase, dan -xilosidase [28].

-xilosidase merupakan xilanase yang mampu menghidrolisis xilooligosakarida rantai pendek menjadi xilosa. Meningkatnya rantai xilooligosakarida dapat menyebabkan menurunnya aktivitas enzim [29]. Selain merupakan hasil hidrolisis, xilosa juga merupakan inhibitor bagi enzim -xilosidase. Sebagian besar enzim -xilosidase yang berhasil dimurnikan masih menunjukkan adanya aktivitas enzim transferase dan hal tersebut mengakibatkan enzim ini kurang dapat digunakan untuk industri penghasil xilosa [28].

Eksoxilanasase mampu memutus rantai polimer xilosa (xilan) pada ujung reduksi dapat menghasilkan xilosa sebagai produk utama dan sejumlah xilooligosakarida. Endoxilanasase secara teratur dapat memutus ikatan 1-4 pada bagian dalam rantai xilan. Pemutusan ikatan tersebut dapat ditentukan berdasarkan derajat percabangan, panjang rantai substrat, ada atau tidaknya gugus substitusi, dan pola pemutusan dari enzim hidrolase tersebut [28]. Xilanasase umumnya aktif pada pH 9 dengan temperatur 55°C, dan merupakan protein kecil dengan berat molekul antara 15.000-30.000 Dalton [29]. Xilanasase lebih stabil pada pH 6 dan temperatur 50-60°C [31].

2.2. *Trichoderma viride*

Trichoderma viride merupakan salah satu spesies dari kapang jenis *Trichoderma*. Kapang ini memiliki aktivitas selulolitik karena dapat menghasilkan enzim selulase yang cukup banyak dan bersifat cukup stabil. Selain itu *Trichoderma viride* dapat berkembangbiak pada kondisi pH asam (2,1-2,5). Temperature optimum untuk pertumbuhan *Trichoderma viride* adalah 30 °C [6].

Klasifikasi *Trichoderma viride* menurut [32] adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Division	: Mycota
Subdivisio	: Deuteromycotina
Classis	: Deuteromycetes
Ordo	: Moniliales
Famili	: Moniliaceae
Genus	: <i>Trichoderma</i>
Species	: <i>Trichoderma viride</i>

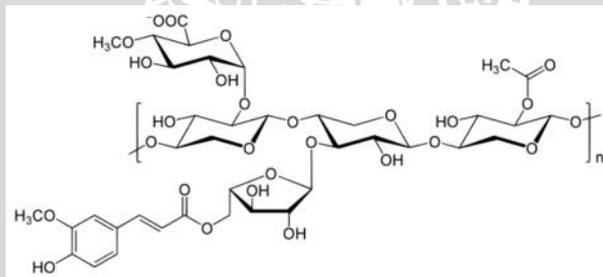
Trichoderma viride banyak ditemukan pada kulit pohon dan tanah, aktif dalam proses amonifikasi dan dekomposisi selulosa dan hemiselulosa [33]. *Trichoderma viride* juga memproduksi antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan organisme lain [34]. Koloni *Trichoderma viride* dalam media

agar tumbuh dengan cepat. Awalnya koloni mempunyai permukaan yang halus dan berwarna putih bening, kemudian koloni menjadi berkas-berkas yang rapat, berwarna hijau dan putih [35].

2.3 Xilan

Hemiselulosa merupakan heteropolimer dengan berbagai monomer gula, dan rantai molekul yang lebih pendek dari selulosa. Hemiselulosa memiliki banyak percabangan rantai molekulnya sehingga disebut senyawa amorf [36].

Xilan adalah komponen utama dari hemiselulosa pada dinding sel tumbuhan yang terikat pada selulosa, pektin, lignin dan polisakarida lainnya untuk membentuk dinding sel. Jumlah xilan diberbagai macam kayu bervariasi tergantung dari jenis kayunya pada merang dan kulit pohon mengandung xilan sampai 30% ampas tebu, kayu konifera sampai 7-12% dan kayu pohon berdaunan sampai 20-25% [1]. Rantai xilan terdiri dari -D-xilosa yang bersambungan secara 1,4-glikosidik seperti ditunjukkan oleh gambar di bawah ini. Rantai xilan bercabang tetap karena derajat polimerisasinya rendah (30-100), maka strukturnya tidak terbentuk kristal, sehingga xilan larut dalam pelarut polar. Xilan cukup stabil hingga temperatur 180°C [1].



Gambar 2.1: Struktur Bangun Xilan

2.4 Pengemban

Enzim merupakan senyawa protein yang rentan terhadap perubahan temperatur tinggi sehingga diperlukan suatu penanganan agar enzim dapat bertahan dalam jangka waktu dan temperatur penyimpanan tertentu. Salah satunya dengan cara menyimpan enzim dalam suatu media pengemban. Pengemban merupakan suatu bahan yang digunakan untuk menjaga kestabilan enzim. Penambahan pengemban akan mencegah terjadinya kerusakan enzim yang disebabkan oleh enzim proteolitik [37]. Pengemban yang digunakan berfungsi sebagai penstabil enzim yang terdapat dalam kultur [7]. Selain itu, pengemban yang ditambahkan juga berfungsi untuk menyediakan nutrisi bagi pertumbuhan jamur sehingga jamur akan tetap hidup [8].

2.4.1. Ampas tebu

Tebu (*Saccharum officinarum*) adalah tanaman yang ditanam untuk bahan baku gula. Tanaman ini hanya dapat tumbuh di daerah beriklim tropis. Tanaman ini termasuk jenis rumput-rumputan. Umur tanaman sejak ditanam sampai bisa dipanen mencapai kurang lebih 1 tahun. Di Indonesia tebu banyak dibudidayakan di pulau Jawa dan Sumatra [38].

Berdasarkan data dari Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (P3GI) ampas tebu yang dihasilkan sebanyak 32% dari berat tebu giling. Namun, sebanyak 60% dari ampas tebu tersebut dimanfaatkan oleh pabrik gula sebagai bahan bakar, bahan baku untuk kertas, bahan baku industri kanvas rem, industri jamur dan lain-lain. Oleh karena itu diperkirakan sebanyak 45 % dari ampas tebu tersebut belum dimanfaatkan [39].

Ampas tebu sebagian besar mengandung *lignoselulose*. Panjang seratnya antara 1,7 sampai 2 mm dengan diameter sekitar 20 mikro, sehingga ampas tebu inidapat memenuhi persyaratan untuk diolah menjadi papan-papan buatan. Bagas mengandung air 48 - 52%, gula rata-rata 3,3% dan serat rata-

rata 47,7%. Serat bagase tidak dapat larut dalam air dan sebagian besar terdiri dari selulosa, pentosan dan lignin [39].

Menurut Sun dan Cheng [12] hasil analisis serat bagas sebagai berikut :

Komponen	Kandungan (%)
Selulosa	37,65
Hemiselulosa	25,00
Lignin	22,09
Abu	3,82
Pentosan	27,97
SiO ₂	3,01

Besarnya kandungan hemiselulosa pada ampas tebu berpotensi sebagai sumber xilan dalam produksi xilanase.

2.4.2. Klobot jagung

Jagung merupakan salah satu jenis tanaman pangan biji-bijian dari keluarga rumput-rumputan. Tanaman ini berasal dari Amerika yang tersebar ke Asia dan Afrika [40]. Sebagian besar limbah jagung adalah bahan berlignoselulosa yang memiliki potensi untuk pengembangan produk masa depan. “Lignoselulosa terdiri atas tiga komponen fraksi serat, yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin”. Dari ketiga komponen tersebut, selulosa merupakan komponen yang telah dimanfaatkan untuk industri kertas, sedangkan hemiselulosa belum banyak dimanfaatkan. “Komponen penyusun hemiselulosa terbesar adalah xilan yang memiliki ikatan rantai β -1,4-xilosida, dan biasanya tersusun atas 150-200 monomer xilosa” [41].

Klobot jagung adalah salah satu limbah jagung yang mengandung lignoselulos. Menurut Hettenhaus [10] komposisi kimiawi yang terkandung dalam kulit jagung antara lain :

Komponen	Kandungan (%)
Selulosa	30,23
Hemiselulosa	41,16
Lignin	20,00
Abu	4,47
Kalium	0,10
Nitrogen	0,50

Besarnya kandungan hemiselulosa pada klobot jagung berpotensi sebagai sumber xilan dalam produksi xilanase.

2.4.3 Jerami padi

Jerami padi merupakan salah satu limbah pertanian adalah bagian tanaman padi yang sudah diambil buahnya, di dalamnya termasuk batang, daun, juga merang dan belum sepenuhnya dimanfaatkan yang jumlahnya cukup besar. Produksi jerami padi dapat mencapai 12-15 ton per hektar satu kali panen atau 4-5 ton bahan kering tergantung pada lokasi dan jenis varietas tanaman yang digunakan. Produksi jerami padi yang dihasilkan sekitar 50% dari produksi gabah kering panen. Jerami termasuk makanan kasar (roughate) yakni bahan makanan yang berasal dari limbah pertanian atau tanaman yang sudah dipanen. Apabila ditinjau dari kandungan nutrisinya, jerami memiliki kandungan protein dan daya cerna yang rendah, namun di dalamnya memiliki sekitar 80% zat-zat potensial yang dapat dicerna sebagai sumber energi bagi ternak [42].

Jerami padi sebagai limbah tanaman tua telah mengalami lignifikasi bertaraf lanjut, sehingga terjadi ikatan kompleks antara lignin dengan selulosa dan hemiselulosa membentuk persenyawaan lignoselulosa dan lignohemiselulosa yang sulit dicerna oleh mikroba rumen [43].

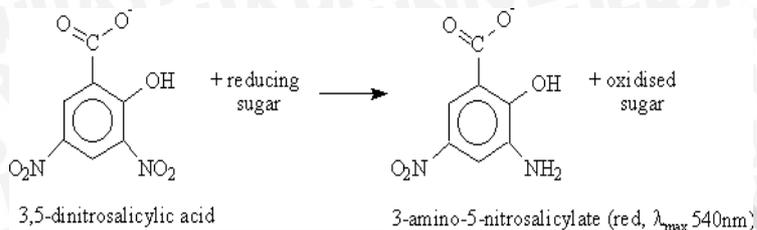
Menurut Muller [11] kandungan kimia dalam jerami adalah :

Komponen	Kandungan (%)
Serat kasar	20,10
Selulosa	34,60
Hemiselulosa	30,40
Lignin	6,30
Abu	6,40

Besarnya kandungan hemiselulosa pada jerami padi berpotensi sebagai sumber xilan dalam produksi xilanase.

2.5. Pengujian Aktivitas Xilanase

Aktivitas xilanase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menyebabkan perubahan 1 μg substrat yaitu xilan per menit pada keadaan pengukuran optimal [21]. Aktivitas xilanase dapat ditentukan secara spektrofotometri yaitu dengan mengukur absorbansi larutan sampel yang telah bereaksi dengan reagen DNS (Asam dinitrosalisilat). Prinsip pengukuran aktivitas enzim dengan reagen DNS adalah gula pereduksi hasil hidrolisis enzim akan mereduksi asam dinitrosalisilat dan membentuk kompleks warna merah kecoklatan sebagai kompleks warna dari asam-3-amino-5-nitrosalisilat dalam suasana basa sedangkan xilosa akan teroksidasi menjadi asam xilonat. Xilosa digunakan sebagai standart untuk penghitungan aktivitas xilanase. Satu unit aktivitas xilanase dinyatakan sebagai banyaknya xilanase yang diperlukan untuk menghasilkan 1 μmol gula xilosa dari substrat xilan permenit pada kondisi suhu 50 °C, pH 5,5 [44]. Kompleks warna tersebut kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum. Reaksi yang terjadi pada saat penambahan reagen DNS dalam sampel enzim yang akan dianalisis yaitu sebagai berikut [45]:



Gambar 2.2: Reaksi DNS dan Glukosa

2.6. Spektrofotometer UV- Vis

Spektrofotometer adalah alat yang terdiri dari spectrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang di absorpsi, jadi spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur besarnya energy yang diabsorpsi atau diteruskan. Spektrofotometer UV-Vis merupakan gabungan antara spektrofotometri UV dan Visible. Daerah visible (tampak) panjang gelombang 380 – 700 nm. Spektrofotometer UV-Vis menggunakan dua buah sumber cahaya berbeda, sumber cahaya UV dan sumber cahaya visible. Jika cahaya monokromatik melewati larutan yang mengandung zat yang dapat menyerap, maka radiasi ini akan dipantulkan, diabsorpsi oleh zatnya dan sisanya akan ditransmisikan [46].

Hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi dapat diturunkan dari hukum lambert dan hukum beer, sehingga diperoleh suatu persamaan [47].

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I} = c \quad (2.1)$$

Dimana,

A= serapan

I_0 = Intensitas sinar yang datang

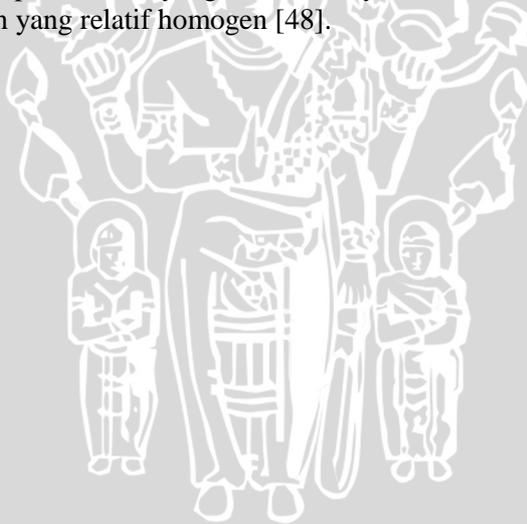
I = Intensitas sinar yang diteruskan

= absorptivitas molar

= panjang atau tebal larutan
c = konsentrasi larutan

2.7. Uji Statistika

Pada penelitian ini menggunakan uji statistika yaitu Rancangan Acak Lengkap yang dapat didefinisikan sebagai rancangan dengan beberapa perlakuan yang disusun secara random untuk seluruh unit percobaan. Tidak ada pembatasan yang dikenakan dalam menyusun perlakuan untuk tiap unit percobaan. Kelebihan dari metode ini adalah mudah menyusun rancangannya, analisis statistik yang digunakan cukup sederhana, dan banyak unit percobaan untuk tiap perlakuan tidak harus sama. Sedangkan kekurangannya adalah bahwa rancangan ini biasanya hanya cocok untuk digunakan dengan beberapa perlakuan (yang tidak banyak) serta untuk unit percobaan yang relatif homogen [48].



BAB III

METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini menggunakan penentuan kestabilan aktivitas xilanase dalam tiga pengemban yaitu menggunakan pengemban ampas tebu, klobot jagung, dan jerami padi yang disimpan pada temperatur (0, 4, dan 25)°C. Variasi waktu penyimpanan yang digunakan adalah minggu ke nol, minggu pertama, minggu kedua, minggu ketiga, minggu keempat, dan minggu kelima.

3.1 Bahan dan Alat Penelitian

3.1.1 Bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah kultur murni jamur *Trichoderma viride* yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia FMIPA, Universitas Brawijaya Malang.

3.1.2 Bahan kimia

Bahan-bahan yang digunakan memiliki derajat kemurnian pro analisa (pa), teknis, dan *for microbiology*. Bahan-bahan pa antara lain: pepton, asam oleat, CaCl_2 , KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, glukosa anhidrat, Buffer Asetat, reagen DNS, xilan. Bahan-bahan untuk mikrobiologi antara lain: kentang, pepton, tepung agar, dextrosa, ampas tebu, klobot jagung, dan jerami padi sedangkan bahan lainnya adalah akuades.

3.1.3 Alat penelitian

Peralatan yang digunakan antara lain seperangkat alat gelas, jarum ose, pengaduk magnet, neraca analitik (Mettler Toledo AL 204), , inkubator (Heraeus Type B 5042), pH meter (Inolab WTW), penangas air (Memmert W 200), autoklaf (All

American Model 20X), shaker (Edmund Buhler SM 25 24B), sentrifuse dingin (Juan MR 1889), pemanas listrik (Janke-Kunkel) dan Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu Model 160A double beam).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Universitas Brawijaya terhitung mulai bulan maret sampai bulan mei 2012.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan Media Padat
2. Penanam Biakan Murni *Trichoderma viride*
3. Pembuatan Media Cair
4. Pembuatan Inokulum
5. Produksi Xilanase
6. Isolasi Xilanase
7. Pembuatan Kurva Standar Gula Pereduksi
8. Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar Xilanase
9. Pembuatan Campuran Kultur Jamur *Trichoderma viride* dengan Berbagai Jenis Pengemban
10. Pengaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase dalam Berbagai Pengemban
11. Penentuan Aktivitas Enzim setelah diemban.
12. Analisa Data

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pembuatan media padat

Media padat yang digunakan adalah Potato Dextrosa Agar (PDA). Adapun pembuatan PDA adalah sebagai berikut: 20 g kentang yang telah dikupas, dicuci, dan diiris kecil-kecil, ditambah dengan aquadest hingga 100 mL dan dipanaskan

hingga mendidih selama 1 jam (volume aquadest dijaga tetap 100 mL dengan cara menambahkan aquadest sedikit demi sedikit). Setelah itu disaring menggunakan kertas saring, sehingga diperoleh sari kentang. Lalu ditambahkan 2,0 g dextrosa, pH diatur pada pH 5,0 dan ditambahkan buffer asetat pH 5,0 sebanyak 1,0 mL. Kemudian dipanaskan hingga mendidih dan ditambah 1,5 g tepung agar, lalu diaduk. Setelah itu, larutan PDA tersebut dipipet sebanyak 4 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. PDA yang telah steril dikeluarkan dari autoklaf dan diletakkan dalam posisi miring di atas meja, bila sudah padat maka disimpan dalam kulkas.

3.4.2 Penanam biakan murni *Trichoderma viride*

Disiapkan jarum ose, kemudian dilakukan pemindahan secara aseptis kapang *Trichoderma viride* ke dalam media padat yang sudah dibuat, kemudian diinkubasi selama 4 sampai 6 hari pada suhu 30°C dalam inkubator.

3.4.3 Media cair

Ditimbang 0,25 g pepton, 0,1 g KH_2PO_4 , 0,15 g CaCl_2 , 0,1 g asam oleat, 0,7 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,15 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan ditambahkan masing-masing 2,0 gram inducer, kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker, setelah itu diatur pada pH 5. Larutan dibuat sebanyak 500 mL. Kemudian ditambahkan buffer asetat pH 5 sebanyak 1,0 mL. Campuran ini diaduk dan dipanaskan sampai mendidih. Dipipet 13 mL campuran tersebut, dimasukkan dalam Erlenmeyer, lalu ditutup dengan kapas dan disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada temperatur 121°C dan tekanan 15 psi.

3.4.4 Pembuatan inokulum

Pembuatan inokulum dilakukan dengan mengambil spora dari biakan murni *Trichoderma viride* yang telah berumur 4-6 hari dari 1 agar miring, kemudian disuspensikan dalam 8 mL akuades steril dengan menggunakan pipet ukur. Suspensi diambil masing – masing sebanyak 2 mL dan ditanam dalam tiga buah erlenmeyer yang masing-masing berisi 13 mL media cair steril. Selanjutnya, media tersebut diinkubasi dalam shaker hingga mencapai pertengahan fase logaritma (jam ke-36).

3.4.5 Produksi xilanase

Untuk memproduksi enzim disediakan 3 buah Erlenmeyer 250 mL yang masing-masing berisi 150 mL media cair. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit, setelah dingin ditambahkan secara aseptis 15 mL inokulum. Selanjutnya media tersebut diinkubasi dalam shaker pada suhu kamar dengan kecepatan 150 rpm sampai mencapai fase awal stasioner. Produksi enzim dilakukan sampai jam ke 60.

3.4.6 Isolasi enzim

Pada akhir masa inkubasi, xilanase diisolasi dengan metode sentrifugasi. Pada masing-masing media cair ditambahkan dengan 15 mL buffer asetat pH 5,0 lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar xilanase.

3.4.7 Penentuan panjang gelombang maksimum

Sebanyak 0,15 gram glukosa anhidrat ditimbang dan dilarutkan dengan akuades secukupnya dalam gelas kimia.

Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas, dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan stok glukosa 1500 $\mu\text{g/mL}$. Setelah itu dipipet 6 mL lalu dimasukkan dalam labu ukur 10 mL. Ditambahkan akuades sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan glukosa 900 $\mu\text{g/mL}$.

Tiap konsentrasi larutan glukosa diambil 1 mL, dimasukkan tabung reaksi, ditambah 1 mL buffer asetat pH 5,0 dan ditambahkan 2 mL reagen DNS kemudian dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 5 menit dan didinginkan dengan air mengalir. Setelah larutan dimasukkan dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan glukosa 36 $\mu\text{g/mL}$.

Untuk blanko digunakan akuades dengan perlakuan sama. Kemudian diukur absorbansinya pada kisaran panjang gelombang 450-650 nm.

3.4.8 Pembuatan kurva standar gula pereduksi

Sebanyak 0,15 gram glukosa anhidrat ditimbang dan dilarutkan dengan akuades secukupnya dalam gelas kimia. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas, dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan stok glukosa 1500 $\mu\text{g/mL}$. Setelah itu dipipet masing-masing (2,0; 4,0; 6,0; 6,8 dan 8) mL lalu dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berbeda. Ditambahkan akuades sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan glukosa (300, 600, 900, 1000, dan 1200) $\mu\text{g/mL}$.

Tiap konsentrasi larutan glukosa diambil 1 mL, dimasukkan tabung reaksi, ditambah 1 mL buffer asetat pH 5,0 dan ditambahkan 2 mL reagen DNS kemudian dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 5 menit dan didinginkan dengan air mengalir. Setelah larutan dimasukkan dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan glukosa (12, 24, 36, 40, dan 48) $\mu\text{g/mL}$. Untuk blanko digunakan akuades dengan perlakuan sama. Nilai absorbansi masing-masing larutan glukosa dengan

konsentrasi yang berbeda dibuat persamaan regresi yang menunjukkan hubungan linier antara absorbansi dan kadar gula pereduksi [49].

3.4.9 Penentuan aktivitas ekstrak kasar xilanase

Penentuan aktivitas xilanase dilakukan dengan cara ekstrak xilanase dari kultur dipipet 1 mL ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL xilan yang dilarutkan dalam buffer asetat pH 5. Campuran larutan diinkubasi pada penangas air suhu 60°C selama 55 menit. Larutan blanko yang digunakan adalah aquadest sebanyak 1 mL yang dan ditambahkan 1 mL xilan yang dilarutkan dalam buffer asetat pH 5 diinkubasi pada penangas air suhu 60°C selama 55 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 2 mL reagen DNS pada tabung uji dan blanko, dimasukkan dalam waterbath mendidih selama 5 menit, setelah itu didinginkan dengan air mengalir selama 15 menit. Larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis.

Aktivitas xilanase dinyatakan dalam satuan Unit. 1 Unit aktivitas adalah banyaknya μg gula pereduksi yang dihasilkan tiap 1 mL enzim tiap satu menit. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan mengkonversikan nilai absorbansi yang diperoleh, pada konsentrasi gula pereduksi standar sehingga dapat diketahui berapa konsentrasi gula pereduksi yang diperoleh dari hasil hidrolisis xilan yang dikatalisis xilanase. Untuk melihat besarnya satu unit aktivitas enzim tersebut digunakan rumus:

$$\Delta E = [\text{Gula Pereduksi}] \times \frac{V}{p \cdot q} \quad (3.1)$$

dimana:

- ΔE = Aktivitas enzim (unit)
- V = Volume sampel tabung (mL)
- p = Volume ekstrak kasar xilanase (mL)
- q = Waktu reaksi (menit)

3.4.10 Pembuatan Campuran Kultur Jamur *Trichoderma viride* dengan Berbagai Jenis Pengemban

Jamur pada media padat miring diambil 1 mata ose dan dipindahkan secara aseptis ke dalam 25 mL media cair, kemudian diinkubasi pada 37°C sampai mendekati akhir fase logaritmik (60 jam). Masing-masing dicampurkan dengan 25 g pengemban yang telah steril. Pengemban yang digunakan adalah klobot jagung, jerami padi, dan ampas tebu. Kemudian dilakukan pengeringan pada suhu 50°C di dalam oven vakum [8]. Setelah pengeringan, dilakukan penentuan kadar air dari pengemban yang telah dicampur dengan biakan. Kadar air ditentukan dengan cara pengeringan dihitung dengan rumus [50] :

$$M = \frac{a-b}{a} \times 100\% \quad (3.2)$$

dimana:

M : kadar air sampel

a : berat sampel awal

b : berat sampel setelah pengeringan

3.4.11 Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap aktivitas xilanase dalam berbagai pengemban

Campuran kultur jamur dan pengemban yang telah dikeringkan di dalam oven vakum dan diukur kadar airnya, kemudian disimpan pada suhu penyimpanan 0°C (freezer), 4°C (kulkas) dan 25°C (suhu ruang) selama 5 minggu. Campuran tersebut kemudian diuji aktivitas xilanase awal (minggu ke nol), minggu pertama, minggu kedua, minggu ketiga, minggu keempat, dan minggu kelima.

3.4.12 Penentuan aktivitas enzim dalam pengemban

Pengemban yang disimpan pada variasi suhu dan waktu diambil sebanyak 1 g dan dilarutkan dengan 10 mL media cair. Setelah itu ditambahkan 25 mL buffer asetat pH 5 dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi, kemudian diputar selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm pada suhu 4°C. Supernatan dipipet 1 mL ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL xilan yang dilarutkan dalam buffer asetat pH 5. Campuran larutan diinkubasi pada penangas air suhu 60°C selama 55 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 2 mL reagen DNS pada tabung uji dan blanko. Campuran larutan dimasukkan dalam waterbath mendidih selama 5 menit, setelah itu didinginkan dengan air mengalir selama 15 menit. Larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum glukosa.

3.4.13 Analisa data

Pengaruh jenis pengemban terhadap aktivitas xilanase dianalisis menggunakan analisis ragam (uji F), pada Rancangan Acak Lengkap (RAL), dilanjutkan dengan uji nyata beda terkecil (BNT). Langkah perhitungan analisa data adalah sebagai berikut :

1. Menghitung Faktor Korelasi (FK)

$$\text{FK tanpa pengemban} = \frac{\left[\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n Y_{ij} \right]^2}{np} \quad (3.3)$$

2. Menghitung jumlah kuadrat (JK)

- a. JK total tanpa pengemban = $\left[\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (Y_{ij})^2 \right] - \text{FK}$ (3.4)

- b. JK perlakuan (JKp) tanpa pengemban

$$= \frac{\left[\sum_{i=1}^p \left(\sum_{j=1}^k Y_{ij} \right)^2 \right]}{n_1} - FK \quad (3.5)$$

c. $JK_{\text{galat}} (JK_G) \text{ tanpa pengemban} = JK_{\text{total}} - JK_{\text{perlakuan}} \quad (3.6)$

3. Menghitung kuadrat tengah (KT) setiap sumber karagaman

a. Kuadrat Tengah_{perlakuan} (KT_p) tanpa pengemban

$$= \frac{JK_p}{db_{\text{perlakuan}}} \quad (3.7)$$

b. Kuadrat Tengah_{galat percobaan} (KT_G) tanpa pengemban

$$= \frac{JK_G}{db_{\text{galat}}} \quad (3.8)$$

4. Menghitung nilai F

$$F_{\text{hitung}} \text{ tanpa pengemban} = \frac{KT_p}{KT_G} \quad (3.9)$$

$$F_{\text{tabel}} \text{ perlakuan} = F_{p-1, dbg}^{\alpha} \quad (3.10)$$

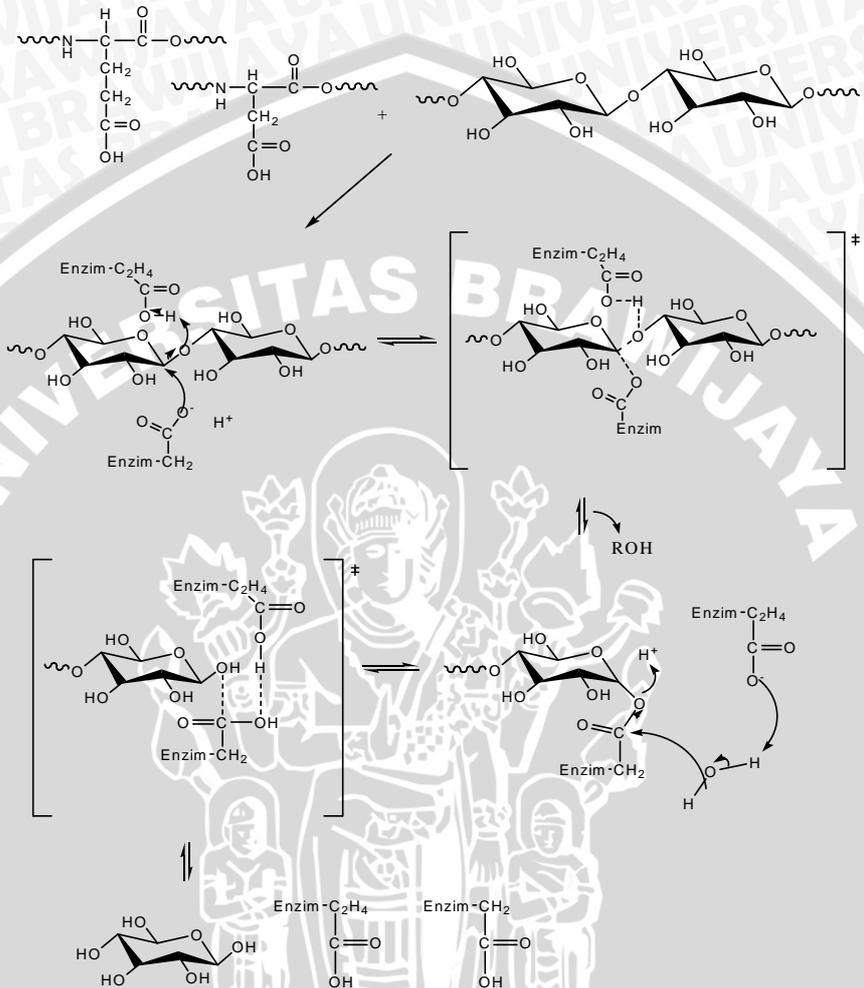
$$BNT () = t_{dbg}^{\alpha/2} \sqrt{\frac{2KT_{\text{galat}}}{n}} \quad (3.11)$$

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Jenis Pengemban terhadap Aktivitas Xilanase

Xilanase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis xilan menjadi xilosa. Untuk menghasilkan xilanase mikroba membutuhkan substrat. Substrat untuk mikroba dapat menggunakan bahan yang banyak mengandung xilan (hemiselulosa) seperti tepung klobot jagung, tepung jerami padi dan ampas tebu. Selain sebagai substrat, tepung klobot jagung, tepung jerami padi, dan tepung ampas tebu juga dapat digunakan sebagai pengemban. Hal ini dimungkinkan karena xilan berfungsi sebagai substrat yang memiliki kesesuaian bentuk ruang antara sisi aktif enzim xilanase dengan substrat, dan sesuai dengan penelitian Handayani (2012) yang mengemban xilanase dalam media pengemban yang memiliki banyak kandungan xilan. Selain sebagai pengemban, xilan juga dapat digunakan sebagai nutrisi dalam media pertumbuhan mikroba. Mikroba dapat memproduksi enzim xilanase dan dapat bertahan hidup dalam media kultur karena xilan dimanfaatkan oleh mikroba sebagai sumber karbon.

Enzim merupakan katalisator organik yang dihasilkan oleh sel. Enzim memiliki sisi aktif berupa gugus-gugus tertentu yang berperan sebagai katalis dalam pembentukan kompleks enzim substrat (ES). Xilanase memiliki gugus aktif yang dapat menghidrolisis xilan (hemiselulosa), yaitu gugus karboksil yang merupakan gugus aktif asam amino jenis asam aspartat dan asam glutamat [51]. Pada mekanisme reaksi enzimatik xilanase dengan substrat xilan, fraksi gugus rantai samping asam aspartat dalam bentuk ion karboksilat, merupakan nukleofil yang akan menyerang polimer xilan pada glikosidik.



Gambar 4.1 : Mekanisme Reaksi Enzim Xilanase dan Xilan

Pada gambar 4.1 adalah tahapan terbentuknya gula pereduksi melalui tahapan reaksi enzimatik yang melibatkan reaksi sisi aktif enzim dengan substrat xilan. Mekanisme reaksi yang terjadi melalui pembentukan intermediet (kompleks enzim-substrat) [52]. Fraksi gugus rantai samping dalam bentuk ion karboksilat dari residu asam amino jenis asam aspartat menyerang polimer xilan pada atom C1. Penyerangan ini akan semakin mudah dengan adanya ion H⁺ yang

mampu menarik pasangan electron bebas dari atom O yang digunakan untuk membentuk ikatan glikosidik. Kemudian terjadi proses hidrolisis dengan adanya H₂O yang menyebabkan terjadinya pemutusan ikatan enzim–substrat dan terbentuk monomer gula pereduksi. Pada akhir reaksi, xilanase akan dihasilkan kembali dan dapat bereaksi dengan molekul xilan yang lain.

Kandungan xilan dalam pengemban mempengaruhi aktivitas xilanase. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Handayani (2012) tentang jenis pengemban yang ditambahkan ke dalam kultur mikroba akan mempengaruhi nilai aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroba tersebut. Pada Tabel 4.1 dapat dilihat mengenai pengaruh jenis pengemban terhadap aktivitas enzim xilanase.

Table 4.1: Aktivitas Xilanase dalam Berbagai Jenis Pengemban

Jenis Pengemban	Aktivitas Xilanase (Unit)
Tepung Klobot Jagung	2.378±0.034
Tepung Jerami Padi	2.11±0.02
Tepung Ampas Tebu	1.534±0.008
Kontrol	1.301±0.016

Tabel 4.1, pada pengemban tepung klobot jagung memiliki nilai aktivitas xilanase paling tinggi, hal ini dimungkinkan karena tepung klobot jagung memiliki kandungan xilan yang paling tinggi apabila dibandingkan dengan tepung jerami padi dan tepung ampas tebu. Semakin tinggi kandungan xilan maka akan semakin banyak pula molekul xilan yang disediakan sebagai bahan penginduksi yang diperlukan mikroba untuk memproduksi enzim xilanase, sehingga dihasilkan enzim xilanase dalam jumlah banyak.

Nilai aktivitas xilanase tanpa pengemban hanya sebesar 1.301Unit, sedangkan nilai aktivitas enzim dalam pengemban tepung klobot jagung sebesar 2.378 Unit, kedua nilai tersebut memiliki selisih cukup jauh. Aktivitas enzim tanpa pengemban memiliki nilai aktivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan aktivitas enzim dalam pengemban, hal tersebut dimungkinkan karena pada media kultur yang ditambahkan pengemban dapat memberikan

nutrisi yang cukup bagi pertumbuhan mikroba *Trichoderma viride* untuk memproduksi xilanase lebih banyak sehingga diperoleh nilai aktivitas enzim yang tinggi.

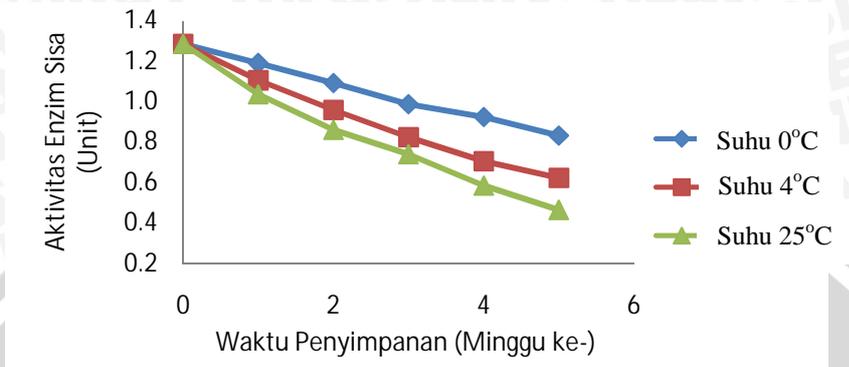
Berdasarkan data Tabel 4.1, pengemban yang sesuai digunakan sebagai substrat pada kultur kapang *Trichoderma viride* adalah tepung klobot jagung karena memiliki kandungan xilan paling tinggi sehingga diperoleh nilai aktivitas enzim xilanase yang paling tinggi dibandingkan dengan pengemban tepung ampas tebu dan jerami padi.

4.2 Pengaruh Suhu dan Waktu penyimpanan terhadap kestabilan Aktivitas Xilanase

4.2.1 Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap kestabilan aktivitas xilanase tanpa pengemban

Kestabilan aktivitas enzim adalah sejauh mana enzim dapat mempertahankan konformasi struktural atau aktivitasnya pada saat isolasi, pemurnian, penyimpanan, dan berbagai perlakuan fisika atau kimia lainnya. Kestabilan suatu enzim dapat dilihat dari grafik penurunan aktivitas enzim dengan waktu inkubasi, dimana enzim dinyatakan stabil apabila masih mampu mempertahankan aktivitas sisanya sampai 50% [13].

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah faktor suhu. Xilanase merupakan senyawa protein yang sangat rentan terhadap perubahan suhu. Penyimpanan pada suhu rendah dapat mempertahankan aktivitas enzim dalam waktu yang cukup lama [27]. Selain itu, juga dapat menghambat kerusakan enzim. Pengaruh waktu dan suhu penyimpanan dapat ditentukan dengan cara mengukur penurunan aktivitasnya. Selanjutnya dibuat grafik hubungan antara aktivitas enzim sisa dengan waktu penyimpan.



Gambar 4.2 : Grafik Hubungan antara Suhu dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase Sisa Tanpa Pengemban

Data yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 4.2 yang menunjukkan bahwa aktivitas xilanase tanpa pengemban pada suhu penyimpanan 0°C tetap terjaga kestabilannya hingga minggu ke-5 dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 0.837 Unit dengan penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 35.183%. Pada suhu penyimpanan 4°C tetap terjaga kestabilannya hingga minggu ke-5 dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 0.669 Unit dengan penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 47.958% sedangkan untuk suhu penyimpanan 25°C kestabilan aktivitas enzim sisa hanya sampai minggu ke-3 dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 0.742 Unit dengan penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 40,91%.

Hal ini terjadi karena pada suhu penyimpanan 0°C dan 4°C enzim hampir tidak mengalami denaturasi sehingga aktivitas enzim sisa masih akan tetap stabil sedangkan untuk suhu penyimpanan 25°C, aktivitas enzimnya mengalami penurunan karena terjadinya kerusakan enzim yang disebabkan oleh enzim proteolitik yang bekerja mengkatalisis reaksi hidrolisis protein, yaitu reaksi yang melibatkan molekul air pada ikatan spesifik (peptida) yang dapat mengakibatkan aktivitas enzim menurun karena protease dapat menyebabkan kerusakan pada enzim [8]. Selain itu, reaksi enzimatik protease dipengaruhi temperatur, semakin tinggi temperatur maka semakin tinggi pula reaksi enzimatik protease dalam menghidrolisis xilanase, sehingga penurunan aktivitas xilanase semakin besar.

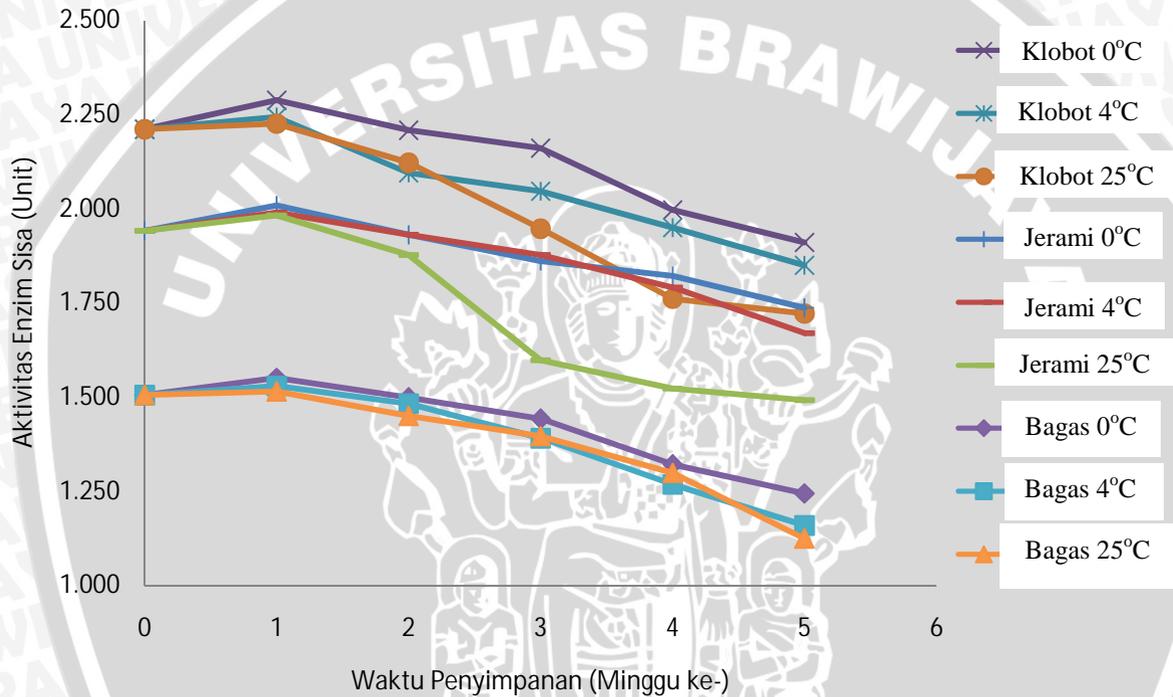
Berdasarkan hasil uji statistika analisa ragam satu arah pada J.1 aktivitas xilanase pada waktu penyimpanan minggu ke-1 sampai minggu ke-5 dengan suhu penyimpanan 0°C, 4°C, dan 25°C diperoleh $F_{hitung} > F_{tabel 0,01}$, sehingga dapat dinyatakan bahwa perlakuan suhu penyimpanan tanpa pengemban berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas xilanase pada minggu ke-1 sampai minggu ke-5. Uji BNT 1% dilakukan untuk mengetahui variasi suhu penyimpanan mana saja yang menunjukkan berpengaruh sangat nyata. Berdasarkan data uji BNT 1% pada J.1 diketahui bahwa pada waktu penyimpanan minggu ke-1 sampai minggu ke-5 dengan suhu penyimpanan 0°C, 4°C, dan 25°C memberikan pengaruh sangat nyata terhadap kestabilan aktivitas xilanase tanpa pengemban.

4.2.2 Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap kestabilan aktivitas xilanase dalam pengemban

Pengemban merupakan suatu bahan yang digunakan untuk menjaga kestabilan enzim. Penambahan pengemban akan mencegah terjadinya kerusakan enzim yang disebabkan oleh enzim proteolitik [37]. Sehingga meskipun xilanase tidak langsung digunakan kestabilan aktivitasnya tetap terjaga.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa xilanase yang dihasilkan oleh *Trichoderma viride* pada kultur yang ditambahkan pengemban tepung klobot jagung, tepung ampas tebu, dan tepung jerami padi, memiliki kestabilan lebih tinggi pada suhu penyimpanan 0°C dan 4°C daripada suhu penyimpanan 25°C. Hal ini ditunjukkan dengan nilai aktivitas enzim dalam masing-masing pengemban yang dapat menghambat penurunan aktivitas enzim, sehingga penurunannya kurang dari 50% [13].

Pengemban tepung klobot jagung, tepung ampas tebu, dan tepung jerami padi dapat digunakan untuk penyimpanan xilanase hingga minggu ke-5 karena aktivitas enzim sisa masih tetap stabil. Nilai aktivitas xilanase akan semakin menurun apabila enzim disimpan lebih lama. Penurunan nilai aktivitas enzim dalam pengemban diindikasikan karena adanya protease (enzim proteolitik).



Gambar 4.3 : Grafik Hubungan antara Suhu dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase dengan Pengemban Ampas Tebu

Pada gambar 4.3, menunjukkan bahwa aktivitas enzim sisa yang di emban baik dengan pengemban tepung klobot jagung, tepung ampas tebu, maupun dengan tepung jerami padi yang di simpan dalam suhu 0,4 dan 25°C menunjukkan peningkatan setelah disimpan selama satu minggu. Hal ini dimungkinkan karena *Trichoderma viride* masih menghasilkan xilanase, selain itu kemungkinan terjadinya reaksi enzimatik xilanase yang menghidrolisis xilan menjadi xilosa.

Aktivitas xilanase dalam media pengemban tepung klobot jagung pada suhu penyimpanan 0°C bertahan hingga minggu ke-5 dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 1.911 Unit dengan persen (%) penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 13.581%, pada suhu penyimpanan 4°C bertahan hingga minggu ke-5 dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 1.85 Unit dengan persen(%) penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 16.322%, sedangkan pada suhu penyimpanan 25°C xilanase dapat tetap stabil hingga minggu ke-5 dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 1.723 Unit dengan persen(%) penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 22.107%.

Berdasarkan hasil uji statistika analisa ragam satu arah pada J.2 kestabilan aktivitas xilanase pada waktu penyimpanan minggu ke-1 sampai minggu ke-5 dengan suhu penyimpanan 0°C, 4°C, dan 25°C diperoleh $F_{hitung} > F_{tabel 0,01}$, sehingga dapat dinyatakan bahwa perlakuan suhu penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas xilanase dalam pengemban klobot jagung pada minggu ke-1 sampai minggu ke-5. Berdasarkan data uji BNT 1% pada J.2 diketahui bahwa kestabilan aktivitas xilanase pada waktu penyimpanan minggu ke-1 sampai minggu ke-5 dengan suhu penyimpanan 0°C, 4°C, dan 25°C memberikan pengaruh sangat nyata terhadap kestabilan aktivitas xilanase dengan pengemban klobot jagung.

Aktivitas xilanase dalam media pengemban tepung jerami padi pada suhu penyimpanan 0°C bertahan hingga minggu ke-5 dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 1.737 Unit dengan persen (%) penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 13.539%, pada suhu penyimpanan 4°C bertahan hingga minggu ke-5 dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 1.67 Unit dengan persen(%) penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 16.103%, sedangkan pada suhu penyimpanan 25°C xilanase dapat tetap stabil hingga minggu ke-5

dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 1.492 Unit dengan persen(%) penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 24.728%.

Berdasarkan hasil uji statistika analisa ragam satu arah pada J.3 aktivitas xilanase pada waktu penyimpanan minggu ke-1 sampai minggu ke-5 dengan suhu penyimpanan 0°C, 4°C, dan 25°C diperoleh $F_{hitung} > F_{tabel 0,01}$, sehingga dapat dinyatakan bahwa berpengaruh sangat nyata antar perlakuan suhu penyimpanan dengan pengemban jerami padi terhadap aktivitas xilanase pada minggu ke-1 sampai minggu ke-5. Berdasarkan data uji BNT 1% pada J.3 diketahui bahwa kestabilan aktivitas xilanase pada suhu penyimpanan 0, 4 dan 25°C berbeda sangat nyata terhadap kestabilan xilanase dengan pengemban tepung jerami padi.

Aktivitas xilanase dalam media pengemban tepung ampas tebu pada suhu penyimpanan 0°C bertahan hingga minggu ke-5 dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 1.244 Unit dengan persen (%) penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 19.792%, pada suhu penyimpanan 4°C bertahan hingga minggu ke-5 dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 1.1596 Unit dengan persen(%) penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 24.208%, sedangkan pada suhu penyimpanan 25°C xilanase dapat tetap stabil hingga minggu ke-5 dengan nilai aktivitas enzim sisa sebesar 1.1246 Unit dengan persen(%) penurunan aktivitas enzim sisa sebesar 25.778%.

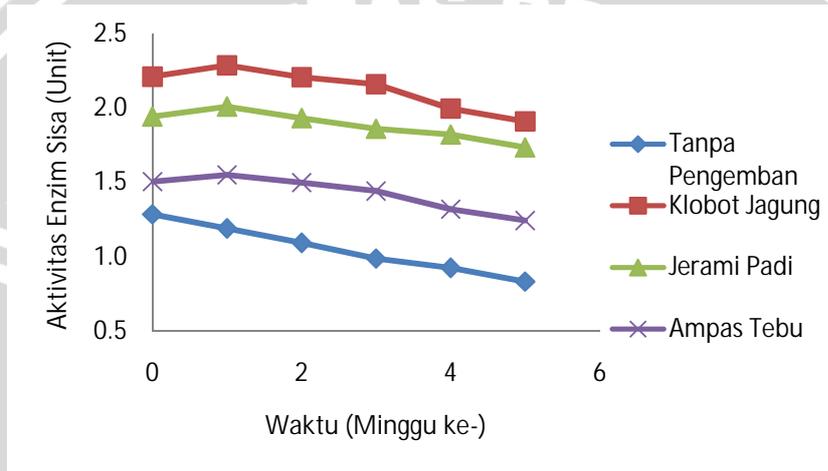
Berdasarkan hasil uji statistika analisa ragam satu arah pada J.4 waktu penyimpanan minggu ke-1 sampai minggu ke-5 dengan suhu penyimpanan 0°C, 4°C, dan 25°C diperoleh $F_{hitung} > F_{tabel 0,01}$, sehingga dapat dinyatakan berpengaruh sangat nyata antar perlakuan suhu penyimpanan dengan pengemban ampas tebu terhadap aktivitas xilanase pada minggu ke-1 sampai minggu ke-5

Berdasarkan uji BNT 5% pada J.4 diketahui bahwa kestabilan aktivitas xilanase pada waktu penyimpanan minggu ke-1 sampai minggu ke-5 pada suhu 4°C berbeda tidak sangat nyata dengan suhu penyimpanan 25°C, sedangkan untuk suhu penyimpanan 0°C dengan 4°C dan 25°C berbeda sangat nyata terhadap kestabilan xilanase dengan pengemban ampas tebu.

Pada grafik diatas dapat dilihat bahwa pada suhu 0°C dan 4°C aktivitas xilanase tetap stabil dan tidak mengalami penurunan yang drastis, sedangkan pada suhu 25°C xilanase tetap dapat stabil meskipun terjadi penurunan yang cukup drastis, hal tersebut kemungkinan terjadi karena adanya protease (enzim proteolitik) yang

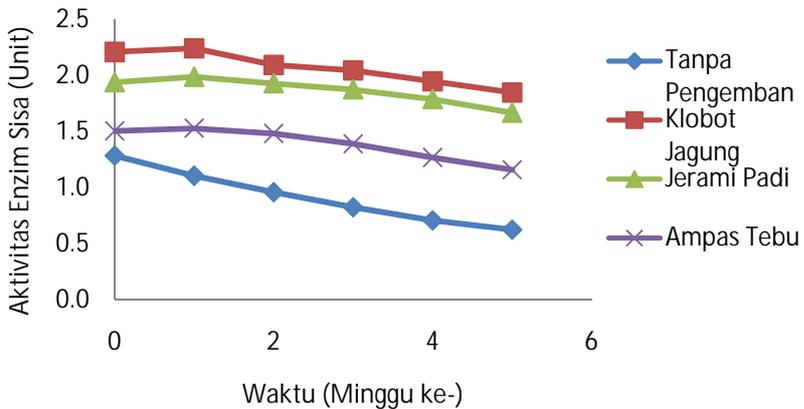
menghidrolisis xilanase sehingga mengakibatkan aktivitas xilanase menurun dan menyebabkan kerusakan pada xilanase.

4.3 Pengaruh Pengemban dan Waktu Penyimpanan Terhadap Kestabilan Aktivitas Xilanase pada Berbagai Suhu Penyimpanan

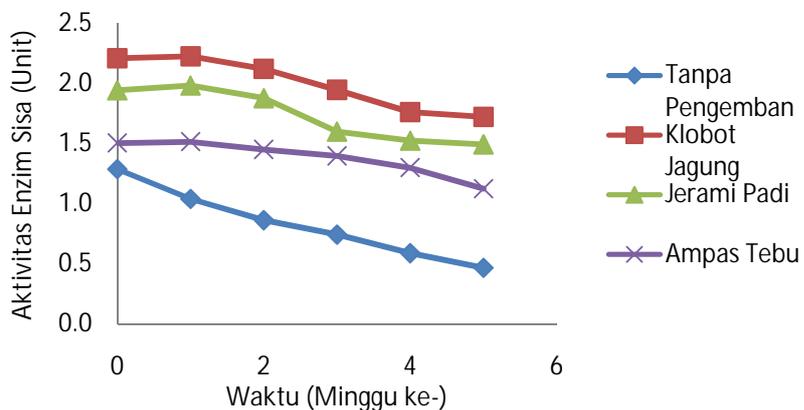


Gambar 4.4 : Grafik Hubungan antara jenis pengemban dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase pada suhu penyimpanan 0°C.





Gambar 4.5 : Grafik Hubungan antara jenis pengemban dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase pada suhu penyimpanan 4°C.



Gambar 4.6 : Grafik Hubungan antara jenis pengemban dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase pada suhu penyimpanan 25°C.

Gambar 4.4, menunjukkan bahwa pada suhu penyimpanan 0°C baik tanpa pengemban maupun dengan pengemban klobot jagung, jerami padi dan ampas tebu mampu menjaga kestabilan aktivitasnya sampai minggu ke-5. Dengan penurunan aktivitas sebesar 35.183% untuk tanpa pengemban, 13.581% dalam pengemban klobot jagung,

13.539% dalam pengemban jerami padi dan 19.792% dalam pengemban ampas tebu.

Gambar 4.5, menunjukkan bahwa pada suhu penyimpanan 4°C baik tanpa pengemban maupun dengan pengemban klobot jagung, jerami padi dan ampas tebu mampu menjaga kestabilan aktivitasnya sampai minggu ke-5. Dengan penurunan aktivitas sebesar 47.958% untuk tanpa pengemban, 16.322% dalam pengemban klobot jagung, 16.103% dalam pengemban jerami padi dan 24.208% dalam pengemban ampas tebu.

Pada suhu penyimpanan 0°C dan 4°C aktivitas enzim sisa tetap terjaga kestabilannya dikarenakan pada suhu penyimpanan ini energi kinetik enzim protease rendah sehingga xilanase hampir tidak terhidrolisis.

Gambar 4.6, menunjukkan bahwa pada suhu penyimpanan 25°C sampai minggu ke-5 dalam pengemban klobot jagung aktivitas enzim sisa mengalami penurunan sebesar 22.107%, untuk penyimpanan dalam pengemban jerami padi aktivitas enzim sisa mengalami penurunan sebesar 24.728%, dan untuk penyimpanan dalam pengemban ampas tebu aktivitas enzim sisa mengalami penurunan sebesar 25.778%. Dari persentase penurunan aktivitas tersebut dapat dilihat xilanase yang disimpan dalam ketiga pengemban pada suhu 25°C dapat menjaga kestabilan aktivitasnya sampai minggu ke-5 karena dimungkinkan terdapat sedikit kadar air dalam pengemban, sehingga enzim proteolitik tidak dapat menghidrolisis xilanase secara optimal. Sedangkan xilanase yang disimpan tanpa media pengemban mengalami penurunan aktivitas enzim sisa yang cukup drastis. Sampai penyimpanan minggu ke-3 xilanase masih dapat menjaga kestabilan aktivitasnya dengan penurunan aktivitas sebesar 42%, sedangkan sampai penyimpanan minggu ke-4 xilanase sudah tidak dapat mempertahankan kestabilan aktivitasnya yang mengalami penurunan aktivitas sebesar 54%. Dan pada penyimpanan minggu ke-5 aktivitas enzim sisa telah menurun sebesar 64%. Hal ini dimungkinkan karena adanya enzim protease yang dapat menghidrolisis xilanase, sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan pada xilanase.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Aktivitas xilanase dalam media pengemban tepung klobot jagung, tepung jerami padi, dan tepung ampas tebu mampu menjaga kestabilan aktivitas enzim sisa hingga minggu ke-5.
2. Pada suhu penyimpanan 0°C, 4°C dan 25°C kestabilan aktivitas xilanase dapat tetap terjaga dalam pengemban tepung klobot jagung, tepung jerami padi, dan tepung ampas tebu.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai suhu dan waktu penyimpanan xilanase menggunakan jenis pengemban lainnya yang dapat mempertahankan kestabilan aktivitas enzim sisanya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Schlegel, H.G. and K. Schmidt, 1994, **Mikrobiologi Umum, Edisi 6**, Alih Bahasa: R.M. Tedjo Baskoro, UGM Press, Yogyakarta
- [2] Haltrich, D., Nidetzky, B., Kulbe, K.D., Steiner, W., dan Zupaneic, S., 1996, **Production of Fungal Xylanases**, <http://www2.psu.ac.th/PresidentOffice/EduService/journal/27-2-pdf/10xylanase.pdf>, tanggal akses 23 Februari 2012
- [3] Widjaja dkk., 1994, **Strategi Penelitian Bambu Indonesia**, Yayasan Bambu Lingkungan Lesrari, Bogor.
- [4] Dashek, W.V., 1997, **Methods in Plant Biochemistry and Molecular Biology**, <http://www.en.wikipedia.org/wiki/xylanase>, diakses tanggal 23 Februari 2012
- [5] Rodwell, 1988, dalam Wirakarta, M.A., 1987, **Isolasi dan Karakterisasi Enzim dari *Aspergillus niger* serta Pemanfaatan dalam Pengembangan Industri Gula Cair**, Laporan Penelitian, IPB, Bogor
- [6] Niken, 2009, **Mengenal Lebih Jelas Trichoderma Viride**, <http://ayyaa.multiply.com/journal>, diakses tanggal 23 Februari 2012
- [7] Akpan, I., dan F.A., Adelaja, 2004, **Production and Stabilization of Amylase Preparation from Rice Bran Solid Medium**, Journal of Microbiology and Biotechnology, 20:47-50
- [8] Roosdiana, A., Kartikaningsih., Suharjono., R., Peranginangin, dan Murdinah, 2001, **Penyiapan Preparat Enzim dan Mikroba Untuk Keperluan Pasca Panen Perikanan**, Laporan Penelitian, Universitas Brawijaya.
- [9] Esti dan Sawerdi, 2011, **Tanaman Penghasil Pati**,

- [10] Hettenhaus, H., 2002, **Talking About Corn Stover With Jom Hettenhaus**, Biotechnol, Issue No.2, V.4.
- [11] Muller. 1978. **Cassava as a total substitute for cereal in livestock and poultry rations**. *Food and Agriculture Org of The United Nations*. Rome.
- [12] Sun, Y. and J. Cheng. 2002. **Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review**. *Bioresour. Technol.* 83:1–11.
- [13] Muawanah, A., 2006, **Produksi Xilanase Termotabil *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 pada Substrat Bagasse Tebu**, Thesis IPB, Bogor, tanggal akses 23 Februari 2012
- [14] Hardianti, N., 2011 **Pengaruh Jenis Pengemban Pada Kultur *Aspergillus Niger* Terhadap Kestabilan Aktivitas Xilanase**, FMIPA, UB, Malang.
- [15] Irfani, A., 2007, **Enzim**, <http://achmadirfani.files.wordpress.com/2007/11/enzim.doc> -, tanggal akses 23 Februari 2012
- [16] Mc Kee, T. dan J.R. Mc Kee, 2003, **Biochemistry: The Molecular Basis of Life**, 3rd edition, Mc Graw-Hill Companies, Inc., New York.
- [17] Poedjiadi, A., 1994, **Dasar-dasar Biokimia**, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- [18] Anonim¹, 2009, **Enzim**, <http://tulisan-kami.blogspot.com/2009/06/enzim.html>, tanggal akses 23 Februari 2012
- [19] Voet D. and Voet J.G., 1990, **Biochemistry**. New York
- [20] Winarno, F.G., 2002, **Enzim Pangan**, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta

- [21] Lehninger, A.L., 2000, **Dasar-Dasar Biokimia, jilid I**, Alih Bahasa: Thenawidjaja, M., Erlangga, Jakarta
- [22] Martin D.W., P.A. Mayes dan V.W. Rodwell, 1986, **Harper Biokimia (Review of Biochemistry), Ed. 20**, Alih Bahasa: Adji Darma dan Andreas Sanusi Kurniawan, EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta
- [23] Martin, D.W., P.A. Mayes dan V.W. Rodwell, 1984, **Harper Biokimia (Review of Biochemistry), Ed. 19**, Alih Bahasa: Adji Darma dan Andreas Sanusi Kurniawan, EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta
- [24] Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, and V.W. Rodwell, 2003, **Harper's Biochemistry 25th ed.**, Appleton and Lange, America
- [25] Judoamidjojo, R.M., A.A. Darwis, dan E.G. Sa'id, 1992, **Teknologi Fermentasi**, Rajawali Press, Jakarta
- [26] Cooper, T.G., 1997, **The Tool of Biochemistry**, John Willey and Sons, Canada
- [27] Muchtadi, S., Nurleni da Made, 1992, **Enzim dalam Industri Pangan**, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- [28] Richana, N., 2002, **Produksi dan Prospek Xylanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia**, Jurnal AgroBio 5(1):29-36, tanggal akses 23 Februari 2012
- [29] Dekker, R.F.H., 1983, **Bioconversion of Hemicellulose: Aspect of Hemicellulose Production by *Trichoderma reesei* QM 9414 and Enzymic Saccharification of Hemicellulose**, Biotechnol, Bioeng, 25:1127-1146
- [30] Yang, *dkk.*, 1988, **Molecular Cloning and Expression of Xylanase Gene from *Bacillus polymyxa* in *Eschericia coli***, Environ microbiology 54:1023-1029

- [31] Sunna, A. and G. Antraniklan. 1997. **Xylanolytic Enzyme From Fungi and Bacteria**. Crit. Rev. in Biotechnol. 17(1):39-67
- [32] Alexopoulos, C.J. and C.W. Mims. 1979. **Introductory Mycology**. 4th ed. John Willey & Sons Inc., New York. Pp. 214-250
- [33] Pelezar, M.J. and R.D. Reid, 1965, **Microbiology**, Mc Graw Hill, Inc., USA.
- [34] Fardiaz, S., 1998, **Fisiologi Fermentasi**, Pusat Antar Universitas IPB, Bogor.
- [35] Rifai, M.A., 1969, **A Revision of The Genus Trichoderma**, *Mycological Papers* no.116, Commonwealth Mycological Institut, Kew, Surrey, England.
- [36] Sanjaya, 2000, **Pengaruh Anhidridasetat Terhadap Struktur Molekuler Kayu dalam Stabilisasi Dimensi Kayu *Pinus merkusii* Et. De Vr.**, JMS Vol. 6 No. 1.
- [37] Tombs, M.F., 1985, **Review: Stability of Enzymes**, *Journal of Applied Biochemistry* 7,3-24
- [38] Anonim², 2007, **Daftar Komposisi Zat Gizi Pangan Indonesia**, Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [39] Husin, A. A. 2007. **Pemanfaatan Limbah Untuk Bahan Bangunan**.
http://www.kimpraswil.go.id/balitbang/puskim/Homepage%20Modul%202003/modulc1/MAKALAH%20C1_3.pdf.
Diakses tanggal 23 Februari 2012
- [40] Tjitrosoepomo, G., 1994, **Morfologi Tumbuhan**, Fakultas Biologi, Universitas Gajahmada, Yogyakarta.
- [41] Suarni. 2006. **Modifikasi tepung jagung secara enzimatik (α-amilase) untuk bahan pangan**. Disertasi Pascasarjana Unhas. 125 p.

- [42] Tilman, A.D., dkk, 1991, **Ilmu Makanan Ternak Dasar**, Yogyakarta, *Gajahmada University Press*
- [43] Van Thu Nguyen and T.R. Preston, 1999, **Rumen environment and feed degradability in swamp buffaloes fed different supplements**, *Livestock Research for Rural Development*(1) 3
- [44] Fauzi. Y.E., 2003, **Kelapa Sawit Budidaya Pemanfaatan Hasil Limbah dan Analisis Hasil Usaha dan Pemasaran**, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- [45] Chaplin, M., 2008, **Enzymes and Enzyme Technology**, www.lsbu.ac.uk/biology/enzyme/practical1.html, tanggal akses 23 Februari 2012
- [46] Anonim³, 2007, **Spektrofotometri & Spektrofotometer UV – Vis**, <http://scribcom/2007/02/spektrofotometer.html>, tanggal akses 12 Maret 2012
- [47] Haris, dkk., 2010, **Spektrofotometri UV-Vis**. www.its.ac.id/kimia/spektrofotometri/uv-vis.html, tanggal akses 12 Maret 2012
- [48] Bisonerich., 2009, **Rancangan Acak Lengkap (RAL)**, <http://bisonerich-rancob.blogspot.com/2009/02/rancangan-acak-lengkap.html>, tanggal akses 23 Februari 2012
- [49] Sianturi, D.C., 2008, **Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Panen Sibirubiru Sumatera Utara**, Tesis, Universitas Sumatera Utara,
- [50] James, C., 1996, **Analytical Chemistry of Foods**, Chapman and Hall, United Kingdom.
- [51] Yong-Eok, L., S.E. Lowe, B. Henrissat dan J.G. Zeikus, 1993, **Characterization of The Active Site and Thermostability Regions of Endoxylanase**, *Journal of*

Bacteriology 175(18): 5890-5898, diakses tanggal 12 September 2011

[52] Withers, S. G and R, Aebersold, 1995. **Approachesto labeling and Identification of Active site residues in Glycosidases**, *Journal of protein Science*, 4:361-372

[53] Widyasari, S., 2007, **Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Xilanase dari *Trichoderma viride***, Skripsi, Universitas Brawijaya, Malang



LAMPIRAN

Lampiran A. Komposisi Media Pertumbuhan

A.1 Media Padat

- Kentang 20 g
- Dextrosa 2,0 g
- Tepung Agar 1,5 g

Dilartukan dengan aquadest dalam beaker hingga volume 100 mL.

A.2 Media Cair

- Pepton 0,25 g
- KH_2PO_4 0,1 g
- CaCl_2 0,15 g
- asam oleat 0,1 g
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,7 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,15 g

Lampiran B. Preparasi Laruran

B.1 Reagen DNS (asam dinitrosalisilat)

Sebanyak 1 gram NaOH, 18,2 gram Na-K Tartarat, 0,2 g fenol dan 0,5 gram Na_2SO_3 dilarutkan dengan 50 mL akuades dalam beaker glass 100 mL. Ditambahkan 1 gram asam dinitrosalisilat sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan magnetic stirrer. Setelah larut, dipindahkan dalam labu ukur 100 mL kemudian ditambah akuades hingga tanda batas.

B.2 Larutan xilan 1% b/v dalam buffer asetat pH 5

Ditimbang xilan sebanyak 1 gram, dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL, kemudian dilarutkan dengan 50 mL buffer asetat pH 5. Dipindahkan larutan dalam labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan buffer asetat pH 5 hingga tanda batas.

B.3 Larutan Stok Glukosa 1500 $\mu\text{g/mL}$

Ditimbang 0,1 gram glukosa anhidrat, kemudian dilarutkan dengan akuades 50 mL dalam gelas beaker, kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan sampai tanda batas.

B.4 Larutan Standar Glukosa

Disiapkan 10 buah labu ukur 10 mL, masing-masing labu ukur diisi dengan larutan stok glukosa 1500 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 2,0; 4,0; 6,0; 6,8 dan 8,0 mL kemudian diencerkan dengan akuades sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar glukosa 300, 600, 900, 1000 dan 1200 $\mu\text{g/mL}$.

B.5 Larutan Asam asetat 0,2 M

Larutan ini dibuat dengan pengenceran asam asetat glasial 100 % (Bj: 1,05 g/mL; BM: 60 g/mol; konsentrasi 17,5 M). Dipipet 1,15 mL asam asetat glasial dengan pipet ukur 5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian diencerkan dengan akuades hingga tanda batas.

B.6 Larutan Natrium asetat 0,2 M

Larutan ini dibuat dengan pengenceran natrium asetat (BM: 82,02 g/mol). Na-asetat sebanyak 1,64 gram dilarutkan dengan akuades secukupnya dan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades hingga tanda batas.

Lampiran C. Perhitungan Preparasi Larutan

C.1 Larutan Asam asetat (CH_3COOH) 0,2 M

Larutan asam asetat 0,2 M dibuat dari asam asetat glasial 100% (Bj: 1,05 g/mL; BM: 60 g/mol) dengan cara:

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi asam asetat glasial} &= \frac{\text{Berat Jenis}}{\text{BM}} \\ &= \frac{1,05 \times 1000 \text{ gr/L}}{60 \text{ gr/mol}} \\ &= 17,5 \text{ M}\end{aligned}$$

Untuk membuat konsentrasi 0,2 M dilakukan pengenceran dengan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 17,5 &= 100 \times 0,2 \\ V_1 &= 1,143 \text{ mL}\end{aligned}$$

Dipipet larutan asam asetat dengan pipet ukur 5 mL sebanyak 1,15 mL, dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas.

C.2 Larutan Natrium asetat (CH_3COONa) 0,2 M

$$\begin{aligned}\text{BM Na-asetat} &= 82,0 \text{ g/mol} \\ \text{Massa jenis Na-asetat} &= \text{BM} \times \text{M} \\ &= 82,0 \text{ g/mol} \times 0,2 \text{ mol/L} \\ &= 16,4 \text{ g/L}\end{aligned}$$

Na-asetat sebanyak 16,4 g dilarutkan dalam 50 mL akuades, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas.

C.3 Larutan Buffer asetat pH 5

Untuk mendapatkan larutan buffer dengan pH yang diharapkan dibuat dengan mencampur larutan Asam asetat dan larutan Natrium asetat (Lampiran C.1 dan Lampiran C.2), berdasarkan persamaan di bawah ini:

$$\text{pH} = \text{pKa} - \log \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COONa}]}$$

Sebagai contoh, untuk membuat larutan buffer asetat pH 5,0 maka 50 mL larutan asam asetat ditambah dengan 90,99 mL larutan Na-asetat dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{pKa}_{\text{Asam asetat}} = 4,74$$

$$5 = 4,74 - \log \frac{(50 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mmol/mL})}{(V \text{ mL} \times 0,2 \text{ mmol/mL})}$$

$$5 = 4,74 - \log \frac{50}{V}$$

$$V = 90,99 \text{ mL}$$

Kemudian larutan buffer asetat tersebut diukur pH-nya dengan menggunakan pH meter.



Lampiran D. Alur Penelitian

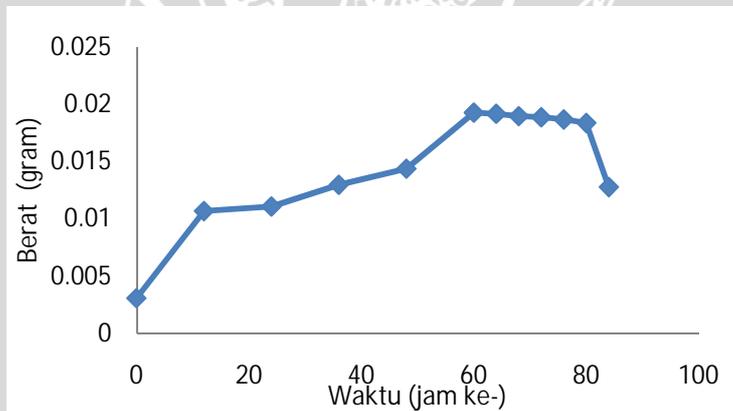


Lampiran E. Kurva Pertumbuhan *Trichoderma viride*

Tabel E.1 : Pertumbuhan *Trichoderma viride*

Waktu (jam ke)	Berat Kering Sel (gram)		
	I	II	rata-rata
0	0.0026	0.0036	0.0031
12	0.0106	0.0108	0.0107
24	0.0109	0.0112	0.0111
36	0.0139	0.0121	0.013
48	0.0157	0.0131	0.0144
60	0.0194	0.0192	0.0193
64	0.0193	0.019	0.0192
68	0.0192	0.0188	0.019
72	0.019	0.0187	0.0189
76	0.0186	0.0187	0.0187
80	0.0183	0.0184	0.0184
84	0.0126	0.013	0.0128

[53]

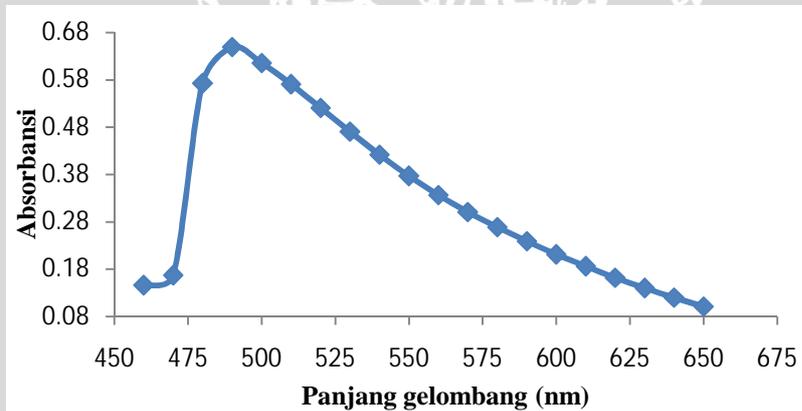


Gambar E.1 : Kurva Pertumbuhan *Trichodrma viride*

Lampiran F. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Tabel F.1: Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang ()	Absorbansi (A)	Panjang gelombang ()	Absorbansi (A)
460	0.146	560	0.337
470	0.167	570	0.301
480	0.573	580	0.269
490	0.65	590	0.239
500	0.616	600	0.211
510	0.571	610	0.186
520	0.521	620	1.162
530	0.471	630	0.140
540	0.422	640	0.120
550	0.377	650	0.101

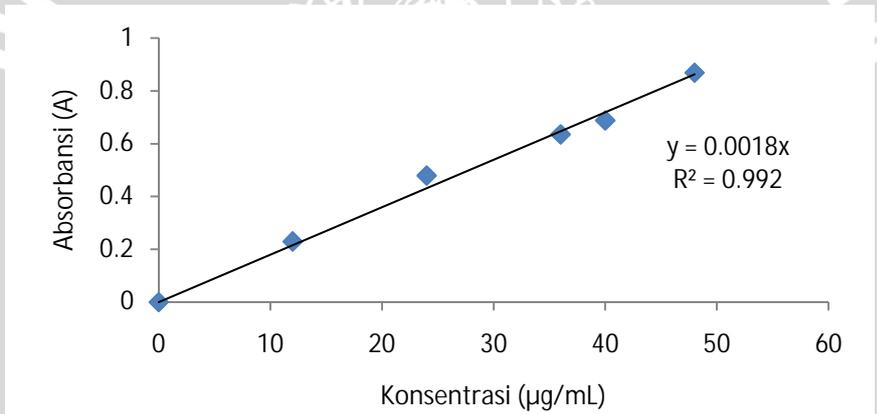


Gambar F.1 : Kurva Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Lampiran G. Absorbansi Larutan Standar Glukosa $\lambda=490\text{ nm}$

Tabel G.1 : Absorbansi Larutan Standar Glukosa

Konsentrasi	A ₁	A ₂	A ₃	A rata-rata
0	0	0	0	0
12	0.23	0.23	0.229	0.2297
24	0.474	0.482	0.484	0.4800
36	0.628	0.641	0.639	0.6360
40	0.68	0.691	0.695	0.6887
48	0.823	0.897	0.889	0.8697



Gambar G.1: Kurva Stadar Glukosa

Lampiran H. Penentuan Kadar Air Campuran Kultur dan Pengemban

Tabel H.1: Data Berat Campuran Biakan Setelah Dikeringkan dalam Oven Vakum

Plate	Tepung	Tepung	Tepung
	Klobot Jagung	Jerami Padi	Ampas Tebu
I	1.0541	1.0072	1.0277
	1.0027	0.9421	1.0027
	0.98013	0.92077	0.9615
II	1.0469	1.0095	1.0335
	0.9631	0.9527	0.9631
	0.97303	0.9209	0.9654
III	1.0337	1.0087	1.0311
	0.9598	0.9294	0.9598
	0.9603	0.9233	0.9657

Kadar air dari campuran biakan tersebut dihitung dengan menggunakan rumus:

$$M = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

Keterangan:

M = kadar air

a = berat sampel awal

b = berat sampel akhir (setelah dikeringkan)

Contoh Perhitungan:

Pada tepung klobot jagung sebelum dikeringkan memiliki berat sampel awal (a) = 1.0042 gram dan berat sampel setelah dikeringkan (b) = 0.9473 gram, sehingga:

$$\begin{aligned} M &= \frac{1.0541 - 0.98013}{1.0541} \times 100\% \\ &= 7.017\% \end{aligned}$$

Dengan perhitungan yang sama, akan diperoleh nilai kadar air dari campuran biakan kultur dan pengemban dalam bentuk % secara keseluruhan.

Tabel H.2 : Persentase kadar air campuran biakan kultur dan pengemban

Tepung Klobot Jagung	Tepung Jerami Padi	Tepung Ampas Tebu
7.0%	8.6%	6.4%
7.1%	8.7%	6.6%
7.1%	8.1%	6.3%



Lampiran I. Penentuan Aktivitas Xilanase

I.1. Data Absorbansi Aktivitas Xilanase Setelah Disimpan pada berbagai Waktu Penyimpanan pada berbagai Suhu

Tabel I.1.1 : Absorbansi Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Absorbansi		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	0.294	0.273	0.258
	0.295	0.275	0.257
	0.295	0.274	0.256
2	0.272	0.238	0.211
	0.271	0.236	0.215
	0.269	0.239	0.214
3	0.241	0.204	0.184
	0.248	0.202	0.182
	0.245	0.207	0.185
4	0.227	0.175	0.149
	0.231	0.171	0.142
	0.229	0.179	0.145
5	0.206	0.164	0.119
	0.205	0.168	0.112
	0.208	0.165	0.115

Tabel I.1.2 : Absorbansi Aktivitas Xilanase dengan Pengembangan Tepung Klobot Jagung

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Absorbansi		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	0.568	0.557	0.552
	0.566	0.554	0.549
	0.565	0.555	0.552
2	0.547	0.519	0.525
	0.545	0.52	0.527
	0.548	0.517	0.524
3	0.532	0.502	0.481
	0.537	0.509	0.483
	0.536	0.509	0.482
4	0.491	0.483	0.437
	0.495	0.484	0.432
	0.497	0.481	0.439
5	0.473	0.459	0.426
	0.475	0.457	0.424
	0.471	0.458	0.429

Tabel I.1.3 : Absorbansi Penentuan Aktivitas Xilanase dengan Pengemban Tepung Jerami Padi

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Absorbansi		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	0.497	0.494	0.488
	0.499	0.495	0.493
	0.496	0.489	0.491
2	0.477	0.478	0.462
	0.479	0.476	0.465
	0.478	0.48	0.467
3	0.461	0.467	0.394
	0.462	0.462	0.401
	0.459	0.465	0.392
4	0.447	0.449	0.382
	0.452	0.439	0.376
	0.454	0.442	0.373
5	0.425	0.418	0.368
	0.431	0.415	0.369
	0.434	0.407	0.371

Tabel I.1.4 : Absorbansi Penentuan Aktivitas Xilanase dengan pengemban Tepung Ampas Tebu

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Absorbansi		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	0.383	0.379	0.376
	0.384	0.378	0.374
	0.385	0.379	0.375
2	0.369	0.367	0.359
	0.373	0.369	0.361
	0.371	0.365	0.357
3	0.359	0.341	0.347
	0.357	0.349	0.342
	0.355	0.343	0.348
4	0.335	0.311	0.321
	0.322	0.314	0.325
	0.324	0.317	0.319
5	0.313	0.287	0.281
	0.304	0.288	0.278
	0.307	0.286	0.276

I.2 Perhitungan Konsentrasi Gula Pereduksi

Konsentrasi gula pereduksi dihitung dengan cara nilai absorbansi yang diperoleh pada persamaan kurva standar gula pereduksi.

Diketahui persamaan kurva standar gula pereduksi:

$$y = 0,0018x$$

Keterangan: y = Absorbansi

x = Konsentrasi

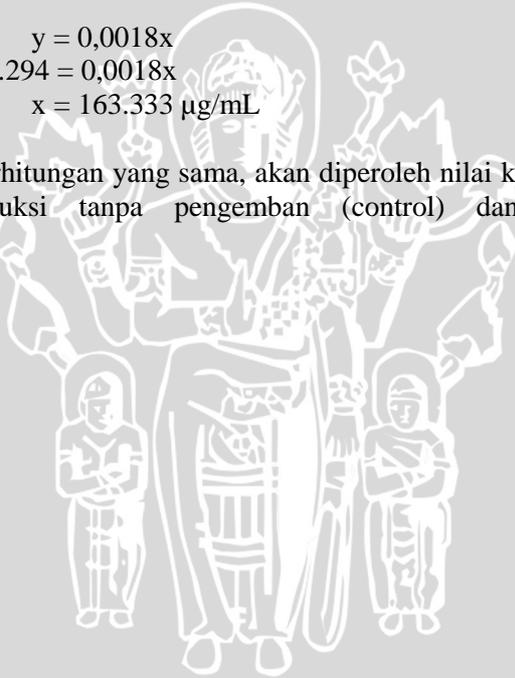
Contoh perhitungan konsentrasi gula pereduksi dengan absorbansi 0,4442.

$$y = 0,0018x$$

$$0.294 = 0,0018x$$

$$x = 163.333 \mu\text{g/mL}$$

Dengan perhitungan yang sama, akan diperoleh nilai konsentrasi gula pereduksi tanpa pengemban (control) dan dengan pengemban.



Tabel I.2.1 : Konsentrasi Gula Pereduksi pada Penentuan Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban Setelah Perlakuan

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	16.333	15.167	14.333
	16.389	15.278	14.278
	16.389	15.222	14.222
2	15.111	13.222	11.722
	15.056	13.111	11.944
	14.944	13.278	11.889
3	13.389	11.333	10.222
	13.778	11.222	10.111
	13.611	11.500	10.278
4	12.611	9.722	8.278
	12.833	9.500	7.889
	12.722	9.944	8.056
5	11.444	9.111	6.611
	11.389	9.333	6.222
	11.556	9.167	6.389

Tabel I.2.2 : Konsentrasi Gula Pereduksi pada Penentuan Aktivitas Xilanase Dalam Pengemban Tepung Klobot Jagung Setelah Perlakuan

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	31.556	30.944	30.667
	31.444	30.778	30.500
	31.389	30.833	30.667
2	30.389	28.833	29.167
	30.278	28.889	29.278
	30.444	28.7222	29.111
3	29.556	27.889	26.722
	29.833	28.278	26.833
	29.778	28.278	26.778
4	27.278	26.833	24.278
	27.500	26.889	24.000
	27.611	26.722	24.389
5	26.278	25.500	23.667
	26.389	25.389	23.556
	26.167	25.444	23.833

Tabel I.2.3 : Konsentrasi Gula Pereduksi pada Penentuan Aktivitas Xilanase Dalam Pengemban Tepung Jerami Padi Setelah Perlakuan

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	27.611	27.444	27.111
	27.722	27.500	27.389
	27.556	27.167	27.278
2	26.500	26.556	25.667
	26.611	26.444	25.833
	26.556	26.667	25.944
3	25.611	25.944	21.889
	25.667	25.667	22.278
	25.500	25.833	21.778
4	24.833	24.944	21.222
	25.111	24.389	20.889
	25.222	24.556	20.722
5	23.611	23.222	20.444
	23.944	23.056	20.500
	24.111	22.611	20.611

Tabel I.2.4 : Konsentrasi Gula Pereduksi pada Penentuan Aktivitas Xilanase Dalam Pengemban Tepung Ampas Tebu Setelah Perlakuan

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	21.278	21.056	20.889
	21.333	21.000	20.778
	21.389	21.056	20.833
2	20.500	20.389	19.944
	20.722	20.500	20.056
	20.611	20.278	19.833
3	19.944	18.944	19.278
	19.833	19.389	19.000
	19.722	19.056	19.333
4	18.611	17.278	17.833
	17.889	17.444	18.056
	18.000	17.611	17.722
5	17.389	15.944	15.611
	16.889	16.000	15.444
	17.056	15.889	15.333

I.3 Penentuan Aktivitas Xilanase

Aktivitas enzim dinyatakan dalam satuan Unit. 1 Unit adalah banyaknya μg gula pereduksi yang terbentuk setiap 1 ml enzim dengan waktu satu menit. Penentuan aktivitas xilanase dihitung dengan persamaan:

$$E = [\text{Glukosa}] \times \frac{V}{p \cdot q}$$

Keterangan:

ΔE = Aktivitas Enzim (Unit)

V = Volume sampel tiap tabung (1 mL substrat + 2 mL DNS + 1 mL ekstrak enzim)

p = Volume ekstrak kasar xilanase (1 mL)

q = Waktu reaksi (55 menit)

Contoh Perhitungan :

Pengukuran aktivitas xilanase dalam pengemban tepung klobot jagung pada suhu 0°C minggu ke-0 dengan data sebagai berikut:

$$[\text{Glukosa}] = 163.333 \mu\text{g/mL}$$

$$V = 4 \text{ mL}$$

$$p = 1 \text{ mL}$$

$$q = 55 \text{ menit}$$

Maka:

$$\begin{aligned} \Delta E &= 16.333 \mu\text{g/mL} \times \frac{4 \text{ ml}}{1 \text{ ml} \times 55 \text{ menit}} \\ &= 1.188 \mu\text{g/mH.menit} \\ &= 1.188 \text{ Unit} \end{aligned}$$

Dengan perhitungan yang sama, maka akan diperoleh nilai aktivitas xilanase dalam media pengemban ataupun tanpa pengemban.

Tabel I.3.1 : Absorbansi Penentuan aktivitas enzim sisa pada minggu ke-0

Pengemban	Pengulangan	Absorbansi	Konsentrasi (µg/mL)	Aktivitas enzim sisa (unit)
Tanpa Pengemban	I	0.322	17.889	1.301
	II	0.319	17.722	1.289
	III	0.314	17.444	1.269
Bagas	I	0.373	20.722	1.507
	II	0.371	20.611	1.499
	III	0.374	20.778	1.511
Jerami	I	0.487	27.056	1.968
	II	0.476	26.444	1.923
	III	0.479	26.611	1.935
Klobot	I	0.547	30.389	2.210
	II	0.548	30.444	2.214
	III	0.547	30.389	2.210

Tabel I.3.2 : Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban setelah Perlakuan

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Aktivitas enzim sisa (unit)		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	1.188	1.103	1.042
	1.192	1.111	1.038
	1.192	1.107	1.034
	1.191 ± 0.0023	1.107 ± 0.004	1.038 ± 0.004
2	1.099	0.962	0.853
	1.095	0.954	0.869
	1.087	0.966	0.865
	1.094 ± 0.0061	0.96 ± 0.0062	0.862 ± 0.0084
3	0.974	0.824	0.743
	1.002	0.816	0.735
	0.990	0.836	0.747
	0.98 ± 0.006	0.988 ± 0.01	0.742 ± 0.0061
4	0.917	0.707	0.602
	0.933	0.691	0.574
	0.925	0.723	0.586
	0.925 ± 0.008	0.707 ± 0.0162	0.587 ± 0.0142
5	0.832	0.663	0.481
	0.828	0.679	0.453
	0.840	0.667	0.465
	0.837 ± 0.0062	0.669 ± 0.008	0.466 ± 0.0142

Tabel I.3.3 : Aktivitas Xilanase dalam Pengemban Tepung Klobot Jagung setelah Perlakuan

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Aktivitas enzim sisa (unit)		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	2.295	2.251	2.230
	2.287	2.238	2.218
	2.283	2.242	2.230
	2.288 ± 0.0062	2.244 ± 0.0062	2.226 ± 0.0069
2	2.210	2.097	2.121
	2.202	2.101	2.129
	2.214	2.089	2.117
	2.209 ± 0.0062	2.096 ± 0.0062	2.122 ± 0.0062
3	2.149	2.028	1.943
	2.170	2.057	1.952
	2.166	2.057	1.947
	2.162 ± 0.0106	2.05 ± 0.016	1.947 ± 0.004
4	1.984	1.952	1.766
	2.000	1.956	1.745
	2.008	1.943	1.774
	1.997 ± 0.0123	1.95 ± 0.0062	1.762 ± 0.0146
5	1.911	1.855	1.721
	1.919	1.846	1.713
	1.903	1.851	1.733
	1.911 ± 0.008	1.85 ± 0.004	1.72 ± 0.01

Tabel I.3.4 : Aktivitas Xilanase dalam Pengemban Tepung Jerami Padi setelah Perlakuan

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Aktivitas enzim sisa (unit)		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	2.008	1.996	1.972
	2.016	2.000	1.992
	2.004	1.976	1.984
	2.01 ± 0.0062	1.991 ± 0.0129	1.982 ± 0.01
2	1.927	1.931	1.867
	1.935	1.923	1.879
	1.931	1.939	1.887
	1.931 ± 0.004	1.931 ± 0.008	1.877 ± 0.01
3	1.863	1.887	1.592
	1.867	1.867	1.620
	1.855	1.879	1.584
	1.861 ± 0.0062	1.877 ± 0.01	1.599 ± 0.019
4	1.806	1.814	1.543
	1.826	1.774	1.519
	1.834	1.786	1.507
	1.822 ± 0.0146	1.791 ± 0.02	1.523 ± 0.018
5	1.717	1.689	1.487
	1.741	1.677	1.491
	1.754	1.644	1.499
	1.737 ± 0.0185	1.67 ± 0.023	1.492 ± 0.006

Tabel I.3.5 : Aktivitas Xilanase dalam Pengemban Tepung Ampas Tebu setelah Perlakuan

Waktu Penyimpanan (Minggu ke-)	Aktivitas enzim sisa (unit)		
	Suhu 0°C	Suhu 4°C	Suhu 25°C
1	1.547	1.531	1.519
	1.552	1.527	1.511
	1.556	1.531	1.515
	1.552 ± 0.004	1.53 ± 0.002	1.515 ± 0.004
2	1.491	1.483	1.451
	1.507	1.491	1.459
	1.499	1.475	1.442
	1.499 ± 0.008	1.428 ± 0.008	1.45 ± 0.008
3	1.451	1.378	1.402
	1.442	1.410	1.382
	1.434	1.386	1.406
	1.442 ± 0.008	1.391 ± 0.0168	1.396 ± 0.0129
4	1.354	1.257	1.297
	1.301	1.269	1.313
	1.309	1.281	1.289
	1.321 ± 0.028	1.269 ± 0.012	1.299 ± 0.0123
5	1.265	1.160	1.135
	1.228	1.164	1.123
	1.240	1.156	1.115
	1.244 ± 0.018	1.159 ± 0.004	1.125 ± 0.01

Lampiran J. Analisa Statistika

Data tentang penentuan aktivitas xilanase dianalisis dengan uji F menggunakan Pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan tiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Bila F hitung lebih besar dari F tabel (db) maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 1%).

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh tiap-tiap perlakuan, maka dilakukan uji F dengan langkah-langkah sebagai berikut :

J.1 Analisa Statistika Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban pada berbagai Suhu Penyimpanan

Berdasarkan data tabel I.3.2 dilakukan perhitungan untuk menentukan Fhitung Pengaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban sebagai berikut :

1. Menghitung Faktor Korelasi (FK)

$$\text{FK tanpa pengemban} = \frac{\left[\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n Y_{ij} \right]^2}{np} = 3.704$$

2. Menghitung jumlah kuadrat (JK)

- a. JK total tanpa pengemban = $\left[\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (Y_{ij})^2 \right] - \text{FK} = 0.205$

- b. JK perlakuan (JK_p) tanpa pengemban =

$$\frac{\left[\sum_{i=1}^p \left(\sum_{j=1}^k Y_{ij} \right)^2 \right]}{n_1} - \text{FK} = 0.204$$

- c. JK galat percobaan (JK_G) tanpa pengemban

$$= JK_{\text{total}} - JK_{\text{perlakuan}}$$

$$= 0.001$$

3. Menghitung kuadrat tengah (KT) setiap sumber karagaman

a. Kuadrat Tengah_{perlakuan} (KT_p) tanpa pengemban

$$= \frac{JK_p}{db_{\text{perlakuan}}}$$

$$= \frac{0.204021}{2} = 0.102$$

b. Kuadrat Tengah_{galat percobaan} (KT_G) tanpa pengemban

$$= \frac{JK_{GP}}{db_{\text{percobaan}}}$$

$$= \frac{0.001}{6} = 0.000013$$

c. Menghitung nilai F

$$F_{\text{hitung}} \text{ tanpa pengemban} = \frac{KT_p}{KT_G}$$

$$= \frac{0.102}{0.000013} = 780.693$$

$$F_{\text{tabel perlakuan}} = F_{p-1, dbg}^{\alpha}$$

$$= F_{2,6}^{0,01} = 10.925$$

Karena $F_{\text{hitung}} \text{ perlakuan} > F_{\text{tabel } 1\%}$, maka H_0 tolak, artinya suhu penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas xilanase tanpa pengemban. Untuk mengetahui suhu penyimpanan mana saja yang berpengaruh terhadap aktivitas xilanase, maka dilakukan uji BNT dengan $\alpha = 0,01$

$$BNT () = t_{dbg}^{\alpha/2} \sqrt{\frac{2KT_{\text{galat}}}{n}}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT (0,01) perlakuan tanpa pengemban} &= t_6^{0,001} \sqrt{\frac{2 \times 0.000013}{3}} \\ &= 4.317 \times 0.00292 \\ &= 0.04 \end{aligned}$$

Tabel J.1.1 : Analisa Ragam Satu Arah Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel}
Perlakuan	2	0.204021	0.102	780.693	10.925
Galat	6	0.001	0.00013		
Total	8	0.205			

FK	3.704
BNT 1%	0.04

Karena $F_{hitung\ perlakuan} > F_{tabel\ 1\%}$, maka H_0 tolak, artinya suhu penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas xilanase tanpa pengemban. Untuk mengetahui suhu penyimpanan mana saja yang berpengaruh terhadap aktivitas xilanase, maka dilakukan uji BNT dengan $\alpha = 0,01$.

Tabel J.1.2 : Data Uji BNT 1% Tanpa Pengemban terhadap Variasi Suhu Penyimpanan

Suhu	Suhu	25	4	0	Notasi
	Rataan	0.466	0.625	0.834	
25	0.466	0	0.159*	0.368*	a
4	0.625		0	0.209*	b
0	0.834			0	c

Keterangan: a,b,c = berpengaruh sangat nyata

J.2. Analisa Statistika Aktivitas Xilanase Pengemban Klobot Jagung pada berbagai Suhu Penyimpanan

Dengan menggunakan tabel I.3.3 dan rumus sama pada penentuan Fhitung pengaruh suhu penyimpanan terhadap aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban, akan didapatkan:

Tabel J.2.1 : Analisa Ragam Satu Arah Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase Pengemban Klobot jagung

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fhit	Ftabel
Perlakuan	2	0.056	0.028	450.772	10.925
Galat	6	0.00037	0.00006		
Total	8	34.978			

FK	30.076
BNT 1%	0.028

Karena $F_{hitung} > F_{tabel\ 1\%}$, maka H_0 tolak, artinya suhu penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas xilanase pengemban klobot jagung. Untuk mengetahui suhu penyimpanan mana saja yang berpengaruh terhadap aktivitas xilanase, maka dilakukan uji BNT dengan $\alpha = 0,01$

Tabel J.2.2 : Data Uji BNT 1% Pengemban Klobot Jagung terhadap Variasi Suhu Penyimpanan

Suhu	Suhu	25	4	0	Notasi
	Rataan	1.723	1.851	1.911	
25	1.723	0	0.128*	0.189*	a
4	1.851		0	0.061*	b
0	1.911			0	c

Keterangan: a,b,c = berpengaruh sangat nyata

J.3 Analisa Statistika Aktivitas Xilanase Pengemban Jerami Padi pada berbagai suhu Penyimpanan

Dengan menggunakan data table I.3.4 rumus dan sama pada penentuan Fhitung pengaruh suhu penyimpanan terhadap aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban, akan didapatkan:

Tabel J.3.1 : Analisa Ragam Satu Arah Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase Pengemban Jerami Padi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	Ftabel
Perlakuan	2	0.096222	0.048111	159.484	10.92477
Galat	6	0.00181	0.000302		
Total	8	0.098032			

FK	24.007
BNT 1%	0.061

Karena $F_{hitung\ perlakuan} > F_{tabel\ 1\%}$, maka H_0 tolak, artinya suhu penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas xilanase pengemban jerami padi. Untuk mengetahui suhu penyimpanan mana saja yang berpengaruh terhadap aktivitas xilanase, maka dilakukan uji BNT dengan $\alpha = 0,01$

Tabel J.3.2 : Data Uji BNT 1% Pengemban Jerami Padi terhadap Variasi Suhu Penyimpanan

Suhu	Suhu	25	4	0	Notasi
	Rataan	1.492	1.670	1.737	
25	1.492	0	0.178*	0.245*	a
4	1.670		0	0.067*	b
0	1.737			0	c

Keterangan: a,b,c = berpengaruh sangat nyata

J.4. Analisa Statistika Aktivitas Xilanase Pengemban Ampas Tebu pada berbagai Suhu Penyimpanan

Dengan menggunakan tabel I.3.5 dan rumus sama pada penentuan Fhitung pengaruh suhu penyimpanan terhadap aktivitas Xilanase Tanpa Pengemban, akan didapatkan:

Tabel J.4.1 : Analisa Ragam Satu Arah Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Aktivitas Xilanase Pengemban Ampas Tebu

Sumber Keragaman	dBa	JK	KT	Fhit	Ftabel
Perlakuan	2	0.023	0.011	73.923	10.925
Galat	6	0.0009	0.0002		
Total	8	0.024			

FK	12.452
BNT 1%	0.044

Karena $F_{hitung\ perlakuan} < F_{tabel\ 1\%}$, maka terima H_0 , artinya suhu penyimpanan berpengaruh tidak sangat nyata terhadap aktivitas xilanase pengemban Ampas Tebu. Untuk mengetahui suhu penyimpanan mana saja yang berpengaruh terhadap aktivitas xilanase, maka dilakukan uji BNT dengan $\alpha = 0,01$

Tabel J.4.2 : Data Uji BNT 1% Pengemban Ampas Tebu terhadap Variasi Suhu Penyimpanan

Suhu	Suhu	25	4	0	Notasi
	Rataan	1.125	1.160	1.244	
25	1.125	0	0.035	0.120*	a
4	1.160		0	0.085*	b
0	1.244			0	c

Keterangan: a,b,c = berpengaruh sangat nyata