

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Jagung

Jagung (*Zea mays*) termasuk dalam famili graminaceae (Gardner, 1991; Nathalia 2011). Tanaman ini merupakan tanaman semusim (annual). Satu siklus hidupnya diselesaikan dalam 80-150 hari. Paruh pertama dari siklus merupakan tahap pertumbuhan vegetatif dan paruh kedua untuk tahap pertumbuhan generatif. Tinggi tanaman jagung sangat bervariasi tergantung varietas (Azrai, 2004).

Jagung terdiri atas kulit, biji dan tongkol. Tongkol jagung adalah tempat pembentukan lembaga dan gudang penyimpanan makanan untuk pertumbuhan biji jagung. Tongkol jagung merupakan modifikasi dari cabang dan mulai berkembang pada ruas-ruas batang dengan diameter 3-5 cm, biasanya mengandung 300-1000 biji. Biji jagung tersusun dalam tongkol dengan susunan teratur memanjang dan ditutup oleh seludang (klobot). Terdapat juga susunan biji yang teratur (mozaik) (Koswara, 2000).

Jagung dapat diolah menjadi berbagai macam bahan baku industri maupun produk jadi seperti tepung jagung, maizena dan sirup. Tongkol jagung merupakan salah satu limbah pertanian yang melimpah. Produk samping yang dihasilkan dari usaha tani jagung yaitu jerami jagung (daun, batang) dan tongkol jagung. Jerami jagung untuk makanan ternak, sedangkan untuk tongkol belum dimanfaatkan secara maksimal (Septiningrum, 2011). Menurut Rohaeni *et al.*

(2005), potensi limbah berupa jerami jagung adalah sebesar 12,19 ton/ha dalam bentuk segar sedang tongkolnya 1 ton/ha.

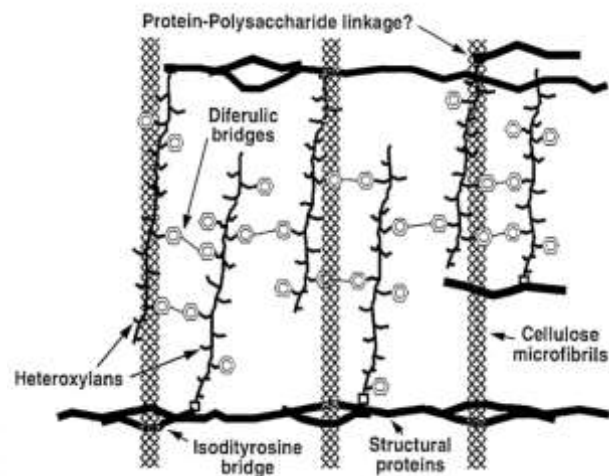
Dalam penelitian (Richana *et al.*, 2007), tongkol jagung diketahui mengandung xilan yang dapat digunakan sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme penghasil xilanase. Tongkol jagung diketahui mengandung xilan yang lebih tinggi dibandingkan bagas tebu, *oat hulls*, sekam, kulit kacang dan kulit biji kapas (Tabel 1). Kandungan xilan atau pentosan pada tongkol jagung berkisar antara 12,4-12,9%.

Tabel 1. Kandungan xilan dari beberapa limbah pertanian

Bahan	Xilan (%)
Bagas tebu	9,6
Oat hulls	12,3
Tongkol jagung	12,9
Sekam	6,3
Kulit biji kapas	6,3
Kulit kacang	10,2

Sumber: Richana *et al.*, 2007

Struktur dinding sel pada tanaman jagung terdiri dari heteroxilan, mikrofibril selulosa, dan protein. Pada jaringan kayu, xilan terletak pada dinding sel sekunder bersama dengan lignin membentuk matrik dalam mikrofibril selulosa (Gambar 1). Interaksi xilan dengan lignin dan selulosa (lignoselulosa) dalam bentuk ikatan kovalen dan non kovalen, interaksi ini penting untuk melindungi mikrofibril selulosa terhadap biodegradasi dan menjaga integritas struktur dinding sel (Polizeli *et al.*, 2005; Naomi 2006).



Gambar 1. Struktur dinding sel tanaman jagung (Saulnier, 1999).

Komposisi kimia tongkol jagung terdiri dari 35,5% serat kasar, 2,5% protein, 0,12% kalsium, 0,04 % fosfor dan zat-zat lainnya sebesar 38,16% (Darliah, 2008). Tongkol jagung mengandung selulosa (40%), hemiselulosa (36%), lignin (16%) serta zat-zat lainnya sebesar 6% (Irawadi, 1992). Tongkol jagung merupakan limbah padat yang dikategorikan dalam limbah lignoselulosik. Limbah lignoselulosik adalah limbah pertanian yang mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin. Pemanfaatan limbah lignoselulosik adalah melalui proses degradasi, baik secara kimiawi maupun secara enzimatik (Darliah, 2008)

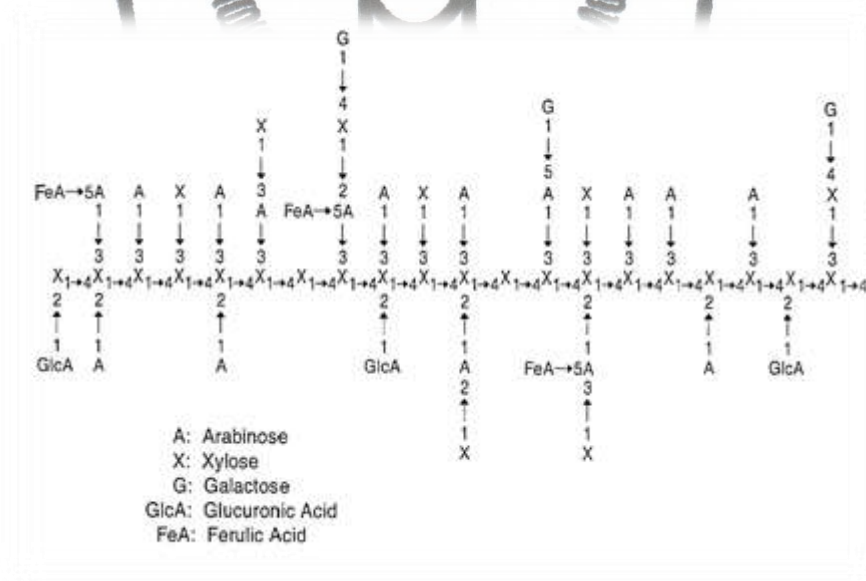
2. Hemiselulosa

Dinding sel tumbuhan tersusun atas selulosa (35-50%), hemiselulosa (20-30%) dan lignin (20-30%) (Bissoon, 2002). Kandungan hemiselulosa pada tanaman berkisar antara 20-30% berat kering kayu, sedangkan pada daun kadarnya mencapai 80-85% (Richana, 2008). Hemiselulosa merupakan heteropolimer kompleks yang memiliki kandungan utama xilan dan juga sejumlah arabinogalaktan, mannan dan arabinan (Burchhardt, 1992). Hemiselulosa

memiliki sifat-sifat yaitu tidak tahan terhadap perlakuan panas dan mudah dimasuki pelarut. Hemiselulosa dapat didekstruksi menggunakan pelarut alkali dan ikatannya lemah sehingga mudah dihidrolisis. Berbeda dengan selulosa yang merupakan homopolisakarida, hemiselulosa merupakan heteropolisakarida (Fengel dan Wegener 1995).

3. Xilan

Xilan merupakan komponen penyusun hemiselulosa yang terbesar. Struktur utama xilan berupa rantai β -1,4 D-xilopiranososa yang dihubungkan dengan ikatan β -1,4 glikosida (Gambar 2) (Saha, 2003) dan berikatan dengan xylosa yang terdapat pada semua tumbuhan tingkat tinggi (Lynd *et al.*, 2005).



Gambar 2. Struktur dinding sel tanaman jagung Saha, 2003).

Masing-masing molekul xilosa berikatan dengan β -1,4 dengan jumlah monomer 150-200 unit (Sunna dan Antraniklan, 1997). Molekul xilan bervariasi dalam bentuk linier atau bercabang dengan L-arabinosa dan 3-O-metil-D-glukoronat atau membentuk ester dengan asetil, feruloil dan p-kumaril (Park *et*

al., 1992). Xilan dapat dihidrolisis dari beberapa sumber karbon. Sumber karbon yang sering digunakan adalah molases, sereal, pati, glukosa, sukrosa dan laktosa. Xilan dengan aktivitas xilanase yang dihasilkan oleh mikroorganisme akan terhidrolisis menjadi xilosa dan xilooligosakarida (Richana, 2008).

Xilan merupakan substrat yang paling efektif untuk memproduksi xilanase (Mountfort dan Asher 1989). Ekstraksi xilan dari tongkol jagung telah dilakukan oleh Anggraini (2003) dengan menggunakan pelarut NaOH 15%, dengan tahapan sebagai berikut:

1. Tahap persiapan bahan

Tongkol jagung dikeringkan di bawah sinar matahari atau dioven hingga mencapai kadar air 5%. Tongkol jagung yang telah kering digiling dengan menggunakan mesin penggiling berukuran 40 mesh.

2. Delignifikasi

Proses delignifikasi dilakukan terhadap serbuk tongkol jagung hasil penggilingan dengan pelarut natrium hipoklorit (NaOCl) karena pelarut tersebut mengandung ion-ion hipoklorit yang mampu memecah ikatan karbon dalam struktur lignin. Proses delignifikasi dilakukan selama 5 jam pada suhu ruang.

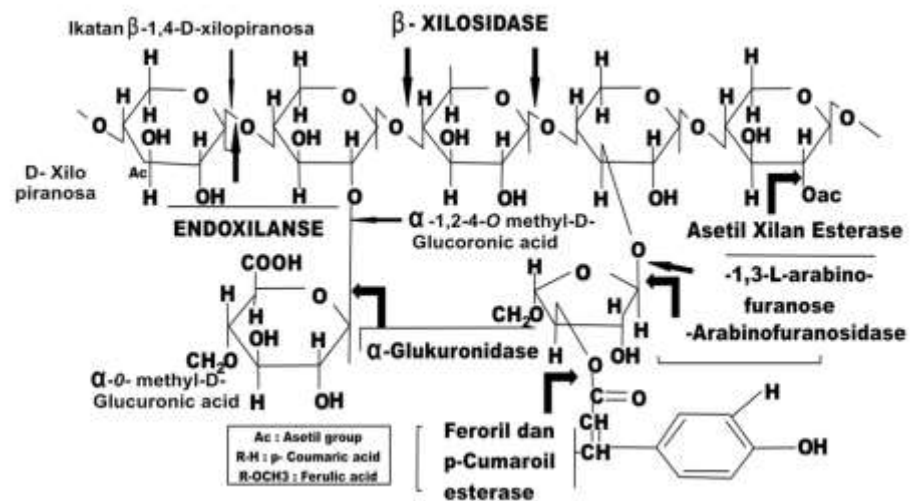
3. Ekstraksi xilan

Pada proses ekstraksi xilan, padatan hasil delignifikasi direndam dalam larutan NaOH 10% selama 24 jam pada 28 °C. Kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat yang dihasilkan diukur pH-nya dan diasamkan dengan HCl 6 N hingga pH 4.5-5. Setelah diasamkan, dilakukan sentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan putaran 4000 rpm untuk memisahkan endapan yang mengandung xilan

dengan supernatan. Xilan dalam endapan dapat dipisahkan dengan disentrifuse pada kecepatan putar 4000 rpm selama 30 menit.

4. Xilanase

Xilanase umumnya merupakan protein kecil dengan berat molekul antara 15.000-30.000 Dalton (Richana, 2008). Berdasarkan struktur xilan terdapat tiga kelompok utama enzim yang dapat menghidrolisis xilan. Kelompok pertama yaitu enzim yang memotong rantai utama xilan, yaitu Endo-1,4- β -xilanase yang memotong ikatan bagian dalam polimer xilan. Kelompok kedua yaitu 1,4- β -xylosidase yang melepaskan unit xylosa dari xylobiosa dan xylooligomer. Kelompok ketiga yaitu enzim yang memotong rantai samping, antara lain α -L-arabinofurosidase, α -L-glukorosidase, galaktosidase, asetil xilan dan asam feruli esterase (Gambar 3) (Subramaniyan, 2002).



Gambar 3. Struktur Xilan Tumbuhan dan Lokasi Pemecahan Xilan oleh Xilanase (Beg *et al.*, 2001)

Endo-1,4- β -xilanase sebagian besar dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri dan fungi, beberapa diantaranya dihasilkan oleh tumbuhan. Endoxilanase mampu menghidrolisis rantai dalam xilan dan bekerja secara acak menghasilkan xilooligosakarida dan xilosa (Polizeli *et al.*, 2005). Hampir semua endoxilanase menghidrolisis rantai utama xilan pada bagian yang tidak tersubstitusi oleh gugus arabinosa. Umumnya hampir semua endoxilase merupakan protein yang terdiri dari subunit tunggal. Enzim endoxilanase sangat potensial untuk dimanfaatkan bagi industri penghasil xilooligosakarida (Tuohy *et al.*, 1995; Setyawati, 2006)

Enzim β -xilosidase menghidrolisis 1,4- β -D-xilooligosakarida dari ujung non pereduksi dan melepaskan xilosa. Aktivitas menurun dengan meningkatnya rantai xilooligosakarida (Reilly, 1991; Setyawati, 2006). Xilooligosakarida juga merupakan inhibitor bagi enzim β -xilosidase. Enzim ini kurang baik apabila digunakan dalam industri penghasil xilosa karena β -xilosidase yang sudah dimurnikan masih mengandung aktivitas transferase (Richana, 2007).

α -L-arabinofuranosidase berfungsi untuk menghidrolisis ujung non pereduksi dari gugus α -L-arabinofuronosil yang terikat dengan polisakarida yang mengandung arabinosa. Adanya substituen α -L-arabinofuranosida dalam struktur xilan dapat secara kuat menghambat aktivitas endoxilanase dan β -xilosidase yang berakibat menghalangi degradasi total polimer xilan. Hal ini dikarenakan struktur α -L-arabinofuranosida cukup besar, sehingga akan menjadi halangan ruang bagi aktivitas endoxilanase dan β -xilosidase (Shalom dan Shoham, 2003; Setyawati, 2006). α -D-glukuronidase berfungsi untuk menghidrolisis ikatan α -1,2-D-

glikosidik antara xilosa dan asam D-glukuronat atau ikatan 4-O-metil eter. Asetil xilan esterase diperlukan untuk memutuskan ikatan antara xilosa dan asam asetat. Selain asetil xilan esterase, kelompok enzim esterase lainnya juga diperlukan untuk melepaskan ikatan antara xilan dengan komponen lignin. Aktivitas ferulil esterase berfungsi untuk memutus ikatan antara gugus samping arabinosa dengan asam ferulat dan aktivitas ρ -kumoril esterase berfungsi untuk memutus ikatan antara gugus samping arabinosa dengan asam ρ -kumorat (Subramanian dan Prema, 2002).

Xilanase banyak diaplikasikan dalam berbagai bidang industri. Pada pembuatan kertas, xilanase digunakan untuk menghilangkan lignin dalam proses *bleaching*. Enzim ini sebagai pengganti cara kimia sehingga pencemaran racun limbah kimia akan dihindari dan lebih murah (Ruiz Arribas *et al.*, 1995). Xilanase juga dimanfaatkan untuk campuran makanan ayam broiler, dengan melihat pengaruhnya terhadap berat yang dicapai dan efisiensi konversi makanan serta hubungannya dengan viskositas pencernaan (Richana, 2002). Xilanase dapat juga digunakan untuk menjernihkan *juice*, ekstraksi kopi, minyak nabati, dan pati (Wong dan Saddler, 1993; Budiman, 2005). Kombinasi xilanase dengan selulase dan pektinase dapat untuk penjernihan *juice* dan likuifikasi buah dan sayuran (Beg *et al.*, 2001; Budiman, 2005).

5. Mikroorganisme Penghasil Xilanase

Xilanase dapat dihasilkan oleh berbagai organisme eukariotik maupun prokariotik. Organisme eukariotik penghasil xilanase antara lain fungi, tumbuh-tumbuhan, protozoa, gastropoda, artropoda dan juga dihasilkan oleh *yeast*
commit to user

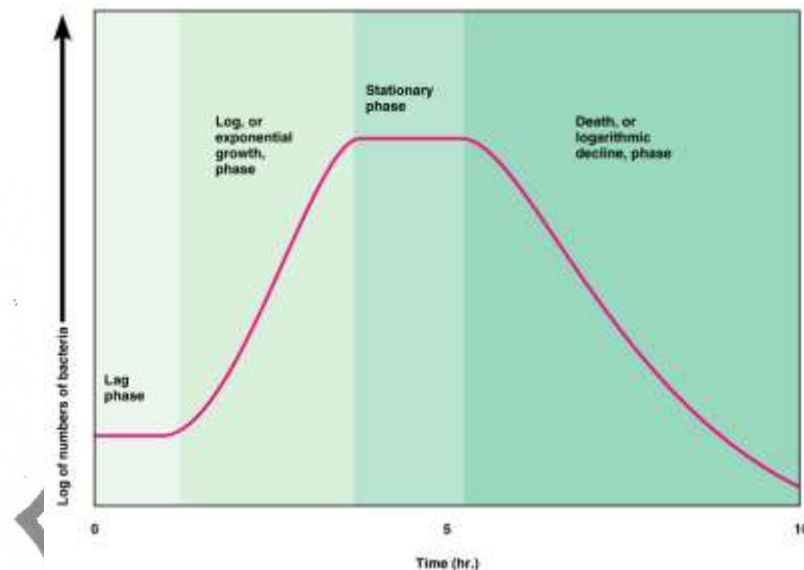
(Kulkarni *et al.*, 1999; Salupi, 2011). Sedangkan organisme prokariotik penghasil xilanase adalah kelompok bakteri (Sunna *et al.*, 1997). Bakteri dan jamur diketahui sebagai penghasil xilanase ekstraseluler. Bakteri penghasil xilanase antara lain *Acidothermus cellulolyticus* 11B (Barabote *et al.*, 2010) dan *Cellulosimicrobium sp.* Strain HY-13 (Kim *et al.*, 2009). Genus *Bacillus* yang diketahui mampu menghasilkan xilanase yaitu *Bacillus sp.* (Park *et al.*, 1992); *Bacillus sp.* 41M-1 (Nakamura *et al.*, 1993) dan *Bacillus sp.*TAR-1 yang juga bersifat termofilik (Nakamura *et al.*, 1994). Sedangkan kelompok jamur penghasil xilanase antara lain *Orpinomyces sp.* Strain PC-2 (Blum *et al.*, 1999). *Neocallimastic frontalis*, *Aspergillus*, *Penicillium oxalicum*, *Paecilomyces*, *Thermomyces lanuginosus* dan *Trichoderma reesei* (Xu *et al.*, 2008).

6. Pertumbuhan Mikroorganisme

Pertumbuhan bakteri dapat diamati berdasarkan kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan terdiri atas empat fase utama yaitu fase lag, log, stasioner, dan kematian. Fase lag merupakan fase adaptasi untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan yang baru. Pada fase ini biasanya pertumbuhan terjadi sangat lambat. Fase log (eksponensial), pada fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrient, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Fase stasioner merupakan fase ketika populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Fase kematian merupakan fase ketika jumlah

koloni menurun karena bakteri banyak yang mati karena kehabisan nutrisi.

Aktivitas enzim tertinggi terjadi pada fase log (Brock *et al.*, 1994).



Gambar 4. Kurva pertumbuhan bakteri (Brock *et al.*, 1994).

7. Produksi xilanase

Xilanase dapat dihasilkan dengan fermentasi cair maupun padat (Haltrich, 1996). Keuntungan fermentasi pada medium cair adalah komposisi dan konsentrasi medium dapat diatur dengan mudah. Selain itu oksigen, pH dan nutrisi dapat tersebar secara merata (Suhartono, 1989; Naomi, 2006).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi xilanase adalah jenis substrat, suhu, pH, waktu inkubasi dan zat tambahan sebagai sumber karbon (Haltrich, 1996; Oktarina, 2008).

a. Substrat

Substrat berpengaruh terhadap produksi dan aktivitas enzim. Pada produksi xilanase, substrat tidak hanya sebagai sumber karbon dan sumber energi tetapi juga sebagai inducer. Jenis substrat yang digunakan untuk produksi xilanase

dapat berupa xilan (*oat spelt xylan*, *beech xylan*, *birchwood xylan*, dan *larchwood xylan*), xilosa, xilobiosa, arabinosa, dan selulosa (Haltrich, 1996; Oktarina, 2008). Berdasarkan penelitian Gessesse dan Gashe (1997) penggunaan *oat spelt xylan* sebagai substrat menghasilkan aktivitas yang lebih besar dibandingkan arabinosa sebagai substrat. Sumber karbon alternatif selain xilan antara lain bagas tebu, oat hulls, sekam, kulit kacang, kulit biji kapas dan jerami padi (Richana *et al.*, 2007).

b. Suhu

Suhu mempengaruhi pertumbuhan dan produksi xilanase (Haltrich, 1996). Menurut Gessesse (1997), suhu optimum untuk produksi xilanase sama dengan suhu optimum pertumbuhan. Penelitian mengenai bakteri alkalotermofilik penghasil xilanase yaitu *Bacillus thermoleovorans* dan *Bacillus Flavothermus* yang diisolasi dari sumber air panas optimum pada suhu (50-90) °C (Sunna 1997). Suhu optimum produksi xilanase oleh bakteri saluran pencernaan rayap adalah 45 °C (Hossain, 2008). *Pseudomonas* sp. WLUN024 memiliki aktivitas optimum pada suhu 50 °C (Xu *et al.*, 2005).

c. pH

Kondisi pH sangat menentukan produksi enzim. Pada kondisi keasaman di bawah atau di atas pH optimum dapat mempengaruhi enzim yang dihasilkan karena protein dapat terdenaturasi, sehingga sisi aktif enzim tidak dapat bereaksi dengan substrat (Susilowati, 2012). Dalam penelitian Sekatresna (2008) pH optimum untuk produksi xilanase oleh *Bacillus amyloliquefaciens* dengan substrat jerami adalah 8,2 U/ml.

d. Waktu inkubasi

Waktu inkubasi optimum produksi enzim pada setiap mikroorganisme berbeda-beda. Pada umumnya aktivitas enzim tertinggi dihasilkan pada fase log pada kurva pertumbuhan (Brock, 2004)

Enzim memiliki spesivitas yang amat tinggi terhadap substratnya. Penggunaan media yang berbeda dapat menyebabkan perbedaaan produksi enzim. Perbedaan tersebut mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Sistem enzim xilanolitik memperlihatkan bahwa biasanya lebih dari satu xilanase diproduksi oleh masing-masing mikroba. Sistem multienzim tersebut diperkirakan bahwa beberapa xilanase mungkin memiliki fungsi khusus untuk menunjukkan efektivitas dari hidrolisis xilan (Agustine 2005).

Pertumbuhan mikroorganisme sangat berpengaruh terhadap produksi enzim. Pertumbuhan mikroorganisme yang semakin cepat menyebabkan besarnya produksi enzim. Sedangkan penurunan produksi enzim disebabkan karena pertumbuhan sel telah menurun setelah memasuki fase stasioner. selain itu pecahnya sel yang mati akan melepaskan protease endogenous yang akan menghidrolisis enzim. Produksi xilanase juga dapat semakin turun karena adanya akumulasi gula terlarut pada media kultur. Akumulasi pentosa bersama dengan turunnya aktivitas xilanase selama pertumbuhan pada konsentrasi media xilan yang semakin meningkat menunjukkan bahwa gula-gula mempengaruhi regulasi enzim. Dilakukan percobaan dengan tidak menambah xilan pada media kultur dan ditambahkan xilosa, pertumbuhan *Neocallimastix frontalis* sangat cepat namun

xilanase yang dihasilkan menjadi kecil (Mountfort dan Asher 1989; Oktarina, 2008).

8. Pengujian Aktivitas Xilanase

Aktivitas xilanase menyatakan besarnya kemampuan enzim xilanase dalam menguraikan atau mengkonversi xilan menjadi produknya yaitu xilosa (Miller, 1959). Aktivitas secara kuantitatif ditentukan dengan mengukur kadar gula reduksi yang dihasilkan selama produksi (Broderick *et al.*, 2003). Aktivitas xilanase menunjukkan hidrolisis xilan oleh isolat bakteri. Pada umumnya, hidrolisis xilan menghasilkan gula reduksi. Gula reduksi dilepaskan dari xilan dan dikuantifikasi menggunakan metode DNS (Yang *et al.*, 2008). Besarnya aktivitas xilanase digunakan untuk mengetahui produksi xilanase.

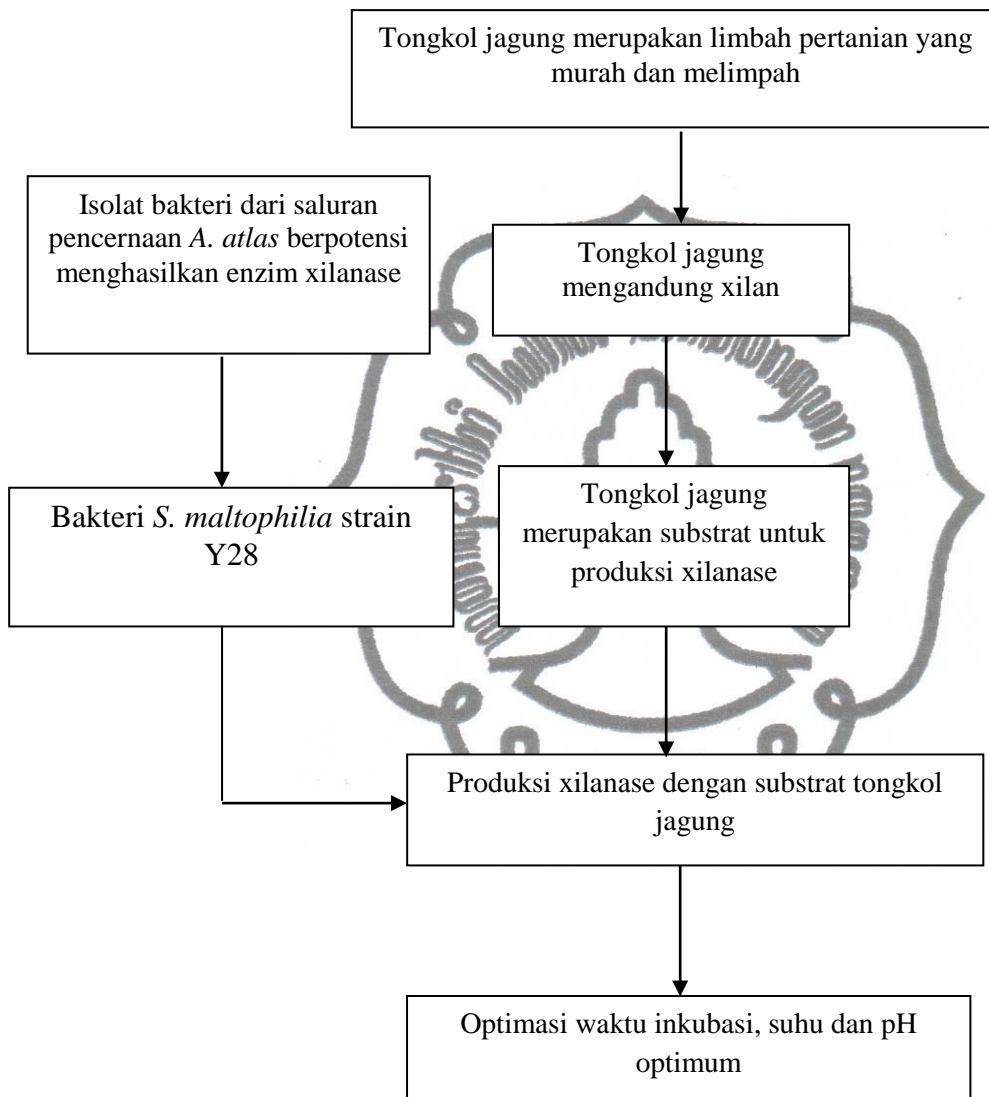
Pengukuran kadar gula reduksi xilanase dilakukan untuk menguji kemampuan enzim dalam menghidrolisis xilan menjadi xilosa (Winterhalter dan Liebl, 1995). Pengukuran gula reduksi dilakukan dengan menggunakan 3,5 asam dinitro salisilat (DNS) dan berdasarkan serapannya pada panjang gelombang 540 nm. Metode ini lebih banyak digunakan karena prosesnya lebih cepat, mudah, dan memiliki sensitifitas yang tinggi (Haltrich *et al.*, 1996; Damaso *et al.*, 2003). 3,5 Asam dinitro salisilat (DNS) merupakan senyawa aromatic yang akan bereaksi dengan gula pereduksi membentuk *3-amino-5-nitrosalicylic acid*, yang mengabsorbansi cahaya pada 540 nm. Selain itu DNS juga berfungsi menghentikan reaksi yang dibantu dengan inkubasi enzim pada air mendidih (Miller, 1959).

Aktivitas enzim dinyatakan sebagai unit aktivitas. Satu unit aktivitas enzim adalah jumlah enzim yang diperlukan untuk mengubah 1 μmol substrat atau menghasilkan 1 μmol produk dalam waktu 1 menit, dalam suhu dan pH yang telah ditentukan (Sadikin, 2002). Satu unit aktivitas xilanase adalah kemampuan enzim untuk menghasilkan 1 μmol xilosa per satu menit pada suhu dan pH tertentu (Kubata *et al.*, 1992; Sadikin, 2002).

Aktivitas enzim dipengaruhi beberapa faktor diantaranya suhu, pH, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat dan inhibitor. Kecepatan suatu reaksi enzimatik meningkat sejalan dengan meningkatnya suhu. Disamping itu karena enzim adalah suatu protein, maka kenaikan suhu dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi. Apabila terjadi proses denaturasi, maka bagian aktif enzim akan terganggu dengan demikian konsentrasi efektif enzim menjadi berkurang dan kecepatan reaksinya pun akan menurun. Setiap enzim memiliki suatu suhu optimum yang mana laju reaksinya berjalan paling optimal (Chambell *et al.*, 1999). Enzim juga memiliki nilai pH optimal untuk bekerja paling aktif. pH rendah atau pH tinggi dapat pula menyebabkan proses denaturasi dan akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Secara umum endoxilanase menunjukkan puncak aktivitas diantara 40 hingga 80 °C (Polizeli *et al.*, 2005).

B. Kerangka Pemikiran

Salah satu limbah pertanian yang murah dan melimpah adalah tongkol jagung. Masyarakat pada umumnya hanya memanfaatkan tongkol jagung sebagai pakan ternak dan bahan bakar. Tongkol jagung diketahui mengandung hemiselulosa yang komponen utamanya berupa xilan. Xilan dalam tongkol jagung berpotensi sebagai substrat dalam produksi xilanase. Bakteri *S.maltophilia* strain Y28 yang diisolasi dari saluran pencernaan larva *A. atlas* berpotensi sebagai penghasil xilanase. Produksi xilanase oleh bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain waktu inkubasi, suhu, dan pH. Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian untuk menentukan waktu inkubasi, suhu dan pH yang optimum untuk produksi xilanase oleh bakteri *S. maltophilia* strain Y28 yang diisolasi dari saluran pencernaan larva *A. Atlas*. Kerangka pemikiran dalam penelitian ini ditunjukkan pada gambar 5.



Gambar 5. Kerangka pemikiran

commit to user