

The Effect of Temperature on the Activities of Amobil Xylanase Enzymes in the Paper Biobleaching Process (Pulp)

Pengaruh Temperatur terhadap Aktivitas Enzim Amobil Xilanase dalam Proses *Biobleaching* Kertas (Pulp)

Irdawati^{1*}, Fauzana Ahmad¹, S. Syamsuardi², A. Agustien², Y. Rilda²

¹Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

²Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Andalas, West Sumatera, Indonesia

*Corresponding author: irdawati.amor40@gmail.com

Abstract. Xylanase enzyme is an extracellular enzyme capable of hydrolyzing xylan to xylose. SSA 2 isolates are isolates from thermophilic bacteria which are isolated from Sapan Sungai Aro Hot Spring, which has the ability to produce xylanase enzymes. The use of xylanase is an alternative to reducing chlorine use in the pulp bleaching process. Xylanase is immobilized by using NA alginate. The pulp is fermented at 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, 80°C, for 6 hours, the optimum temperature which produces the lowest kappa number and the highest enzyme activity at 60°C.

Key words: *Immobilized Cells, Pulp, Temperature, Thermophilic Bacteria, Xylanase Enzymes*

Abstrak. Enzim xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang mampu menghidrolisis xilan menjadi xilosa. Isolat SSA 2 merupakan isolat dari bakteri termofilik hasil isolasi dari air panas sapan sungai aro, yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim xilanase. penggunaan xilanase merupakan salah satu alternative mengurangi pemakaian clorin dalam proses pemutihan pulp. Xilanase diamobilisasi dengan menggunakan NA alginate. Pulp difermentasi dengan suhu 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75 °C, 80°C, selama 6 jam, suhu optimum yang menghasilkan bilangan kappa terendah dan aktivitas enzim yang tertinggi pada suhu 60°C.

Kata kunci : *Bakteri Termofilik, Enzim Xylanase, Pulp, Sel Imobil, Suhu.*

This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2020 by author.



Pendahuluan

Enzim xilanase merupakan salah satu enzim yang saat ini banyak dimanfaatkan dalam dunia perindustrian. Salah satu industri yang memanfaatkan kerja enzim adalah Industri pulp dan kertas. Pada industri kertas dan pulp, enzim xilanase berperan dalam meningkatkan ekstraksi lignin dan melepaskan kromofor dari pulp sehingga dapat meningkatkan derajat putih dan kecerahan pada pulp. Artinya xilanase bertindak sebagai enzim yang memfasilitasi proses pemindahan lignin pada proses pemutihan pulp (Bajpai et al., 2004). Proses pemutihan memerlukan suhu tinggi dan pH basa serta stabil. Potensi ini bisa ditemukan pada mikroorganisme termofilik, yaitu mikroorganisme

yang berhabitat di suhu tinggi seperti jamur dan bakteri termofilik (Garg *et al.*, 2011). Bakteri penghasil xilanase didapatkan dari genus *Bacillus* serta *Clostridium* (Trismilah dan Waltam, 2016) dan dari spesies *Bacillus subtilis* (Annamalai *et al.*, 2009).

Isolat SSA 2 yang diisolasi dari air panas Sapan Sungai Aro Solok Selatan merupakan salah satu isolat bakteri yang mampu menghasilkan enzim xilanase secara maksimum. Hal ini terlihat dari tingginya indeks xilanolitik SSA 2 dibandingkan dengan isolat lainnya yaitu 0.74 (Irdawati *et al.*, 2018). Xilanase yang dihasilkan oleh mikroba memiliki karakteristik suhu optimum. Pengaruh suhu sangat menentukan aktivitas enzim pada waktu mengkatalisa suatu reaksi. Seluruh enzim memerlukan jumlah panas tertentu untuk dapat aktif. Sejalan dengan meningkatnya suhu, makin meningkat pula aktivitas enzim. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Putri (2018) Aktivitas enzim paling tinggi dari isolat bakteri SSA 2 berada pada suhu 60°C dengan nilai 12.192 U/ml.

Pada proses yang melibatkan enzim, umumnya enzim hanya dapat digunakan untuk sekali pakai, karena secara teknis sangat sulit untuk memisahkan enzim dan produk serta kesulitan mendapatkan kembali enzim yang aktif di akhir reaksi (Sarah, 2001). Untuk mengatasi hal tersebut dalam menghasilkan enzim dapat menggunakan teknik amobilisasi sel, sehingga memudahkan pemurnian produk, meningkatkan produktivitas, kemudahan dalam mengontrol kestabilan sel serta dapat digunakan berulang kali (Riwayati *et al.*, 2012). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Putri (2018) produksi enzim xilanase amobilisasi sel memiliki suhu optimum yaitu 70°C dengan produksi enzim tertinggi 8.992 U/ml dan dapat digunakan hingga 4 kali ulangan.

Penggunaan xilanase merupakan salah satu alternatif untuk mengurangi dampak yang ditimbulkan oleh penggunaan klorin dalam proses pemutihan pulp (Tolan dan Collins, 2004). Proses pemutihan pulp dengan klorin menimbulkan persoalan lingkungan yang serius, karena dampak negatifnya adalah buangan senyawa kimia khloro organik, yang di dalamnya terdapat 10 senyawa dioksin dan 10 senyawa furan yang berbahaya. Dioksin dan furan merupakan senyawa yang kuat dengan daya ikat yang besar terhadap tanah dan sendimen karena akan terikat kuat pada partikel tanah dan sendimen. Senyawa ini tidak dapat lepas secara kimiawi maupun biologis, karena sifatnya sulit didegradasi secara alami dan senyawa ini dapat tertahan lebih lama pada permukaan bumi. Kemungkinan lain dapat masuk ke dalam makanan dan akan terakumulasi pada tubuh manusia atau binatang dan bersifat karsinogenik (Valchev, 2010). Penelitian Khonzue *et al.*, (2011) menyebutkan bahwa xilanase dapat mereduksi konsumsi bahan kimia pemutih sebesar 20% untuk mendapatkan nilai derajat cerah yang sama dibandingkan dengan kontrol tanpa xilanase.

Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pulp (bubur kertas), NaOH 5%, *Beechwoodxylan*, *pepton Bacteriological*, *yeast ekstrak*, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KH_2PO_4 , $CaCl_2$ 0,2 M, H_2SO_4 , $Na_2S_2O_3$, $KMNO_4$, Amilum, *Dinitrosalicylic Acid (DNS)*. Bakteri termofilik yang digunakan adalah isolat SSA 2 yang di isolasi dari air panas Sapan Sungai Aro Solok Selatan.

Prosedur Penelitian

Produksi Enzim Xilanase

Sebanyak 10% (v/v) inokulum bakteri termofilik diinokulasikan pada erlenmeyer yang berisi 100 ml media *beechwoodxylan*, lalu diinkubasi 150 rpm, pada suhu 60°C selama 6 jam waktu panen.

Amobilisasi Sel dengan Menggunakan Alginat

Disiapkan larutan Na-Alginat dengan konsentrasi 3% yang telah disterilisasi pada autoclav pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian dicampurkan 2,5 ml suspensi sel ke dalam larutan alginat. Selanjutnya larutan alginat dituang ke dalam petridish lalu di ambil dengan menggunakan *syringe* steril dan diteteskan secara perlahan ke dalam wadah yang berisikan $CaCl_2$ 0,2 M sehingga terbentuk *bead* (butiran) alginat. Butiran alginat disimpan pada suhu 4°C selama 1 jam kemudian dicuci dengan aquadest steril sebanyak 3 kali.

Pemasakan Pulp (Bubur Kertas) menggunakan NaOH 5%.

Pulpyang telah konstan ditimbang 1,7 gr kemudian dimasak menggunakan NaOH 5 % sebanyak 34 ml di dalam Erlenmeyer 100 ml pada suhu 100°C selama 60 menit lalu pulp dipisahkan dari NaOH dan dibilas menggunakan aquades hingga pH nya normal. Pulp yang telah dibilas ditambahkan dengan aquades sebanyak 50 ml, setelah itu di sterilisasi di autoklav.

Fermentasi Pulp pada Variasi Suhu dengan Menggunakan Sel Amobil Bakteri Termofilik SSA 2.

Produksi xilanase dari bakteri termoxilanolitik yang telah diamobilisasi dengan alginat diaplikasikan pada pulp. Butiran alginat sebanyak 250 dimasukkan ke dalam Erlenmeyer ukuran 100 ml berisikan 50 ml aquades steril dan pulp yang telah dimasak dengan NaOH 5%. Selanjutnya di fermentasi dengan varian suhu (50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, 80 °C).

Pengujian Kecerahan Pulp dengan Melihat Bilangan Kappa (SII 0530-81).

Sampel pulp yang akan diuji dikeringkan di dalam oven pada suhu 100°C sampai kadar airnya nol. Kemudian timbang 0,5 gr pulp kering yang sebelumnya dihaluskan dulu dg digunting jadi potongan yang lebih kecil, dan dimasukkan dalam erlenmeyer 1000 ml. Tambahkan akuades sampai volumenya 350 ml ke dalam elenmeyer 1000 mL tersebut lalu di stirer selama 60 menit sehingga seratnya terurai. Kemudian ditambahkan KmnO₄ 0,1 dan H₂SO₄ 4N sebanyak N sebanyak 12.5 mL. Setelah 3 menit berselang lalu masukkan KI 10% sebanyak 5 mL sampai warnanya menjadi coklat terang. Lalu teteskan amilum 10% kedalam erlenmeyer tersebut sampai warnanya berubah jadi hitam kebiruan, dan terakhir tititasi sampel dengan Na₂S₂O₃ 0,1 N sampai warnanya menjadi hijau lembayung. Hitung banyaknya larutan Na₂S₂O₃ 0,1 N yang terpakai sehingga warnanya berubah jadi hijau lembayung lalu masukkan ke dalam rumus Bilangan Kappa/Permanganat. Sebelumbya Blanko dipersiapkan dengan tahapan yang sama dengan diatas tanpa menggunakan pulp.

Perhitungan Rumus :

$$\text{Bil. Kappa/Permanganat} = \frac{(b - a) N \times 10}{K}$$

Keterangan :

a = Jumlah mL Na₂S₂O₃ 0,1 N untuk titrasi sampel (mL)

b = Jumlah mL Na₂S₂O₃ 0,1 N untuk titrasi blanko (mL)

K = Berat pulp kering ysng digunakan (gr)

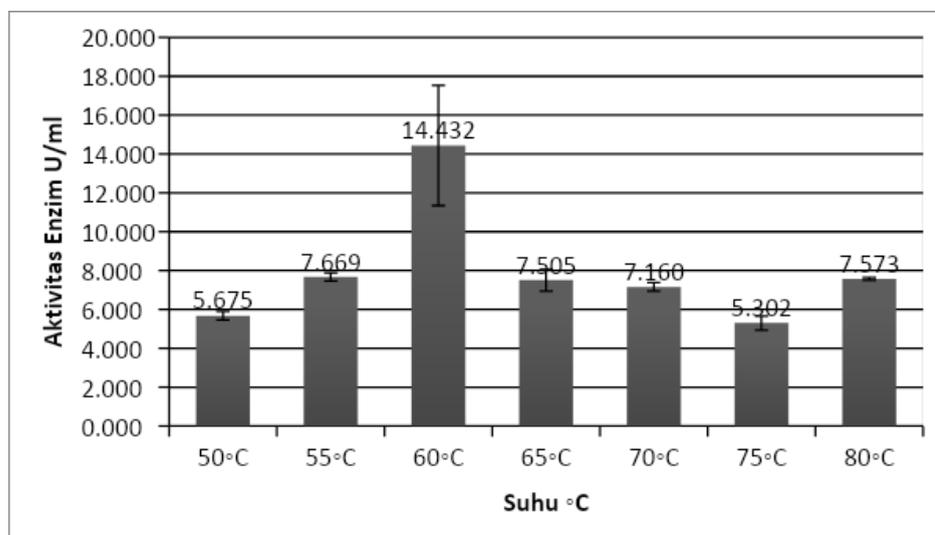
N = Normalitas Na₂S₂O₃ 0,1 N .

Analisis Data

Data hasil aktivitas spesifik pulp, pengaruh suhu terhadap kecerahan pulp yang dilihat berdasarkan bilangan kappa dianalisis secara deskriptif. Data yang didapatkan ditampilkan dalam bentuk gambar.

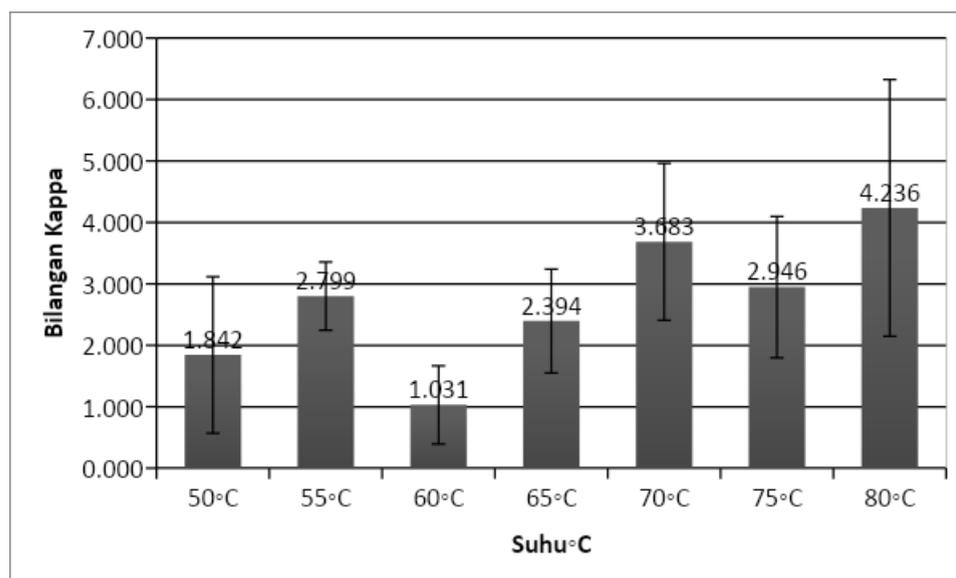
Hasil dan Pembahasan

Kenaikan derajat kecerahan pada proses pemutihan pada pulp dengan enzim xilanase (*biobleaching*) pada penelitian ini salah satunya dipengaruhi oleh suhu. berdasarkan hasil yang didapatkan bahwa suhu optimum pada fermentasi pulp terdapat pada suhu 60°C dengan nilai 14.432 U/ml dibandingkan pada perlakuan suhu yang lain.



Gambar 1. Aktivitas enzim pada variasi suhu

Menurut Widhiana (2015) aktivitas enzim akan semakin meningkat dengan bertambahnya suhu hingga suhu optimum tercapai. Kenaikan suhu di atas suhu optimum akan menyebabkan aktivitas enzim menurun akibat denaturasi, hal tersebut menyebabkan enzim tidak bekerja dengan bagus, pada suhu 60°C ini mampu menghasilkan aktivitas enzim tertinggi, hal tersebut menyebabkan produksi enzim xilanase lebih banyak sehingga kecerahan pulp pada fermentasi pulp juga semakin tinggi, hal tersebut terlihat dengan rendahnya bilangan kappa yang diperoleh yaitu 1.031.



Gambar 2. Bilangan kappa fermentasi pulp pada variasi suhu

Bilangan kappa merupakan parameter yang digunakan untuk menentukan tingkat kecerahan pulp atau delignifikasi pulp kimia dan semi kimia, baik pulp yang belum putih maupun setengah putih (McDonough *et al.*, 2009). Semakin tinggi bilangannya maka kandungan ligninnya juga semakin tinggi, sehingga membutuhkan zat kimia yang lebih banyak untuk mencapai kecerahan pulp. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan bilangan kappa yang diberi enzim xilanase dari sel amobil bakteri termofilik lebih rendah dibandingkan dengan tanpa menggunakan enzim xilanase. Pulp yang diberi enzim xilanase didapatkan bilangannya 6.711 sedangkan pulp yang tidak diberi perlakuan menggunakan enzim xilanase diperoleh bilangannya 8.01 hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Christov *et al.*, (1999) yang menyatakan bahwa penambahan enzim xilanase pada proses pemutihan dapat meningkatkan pulp yang ditandai dengan persen penurunan bilangannya sejumlah 24%.

Bioleaching dengan enzim xilanase dari *B. pumilus* SV-85 diperoleh kondisi terbaik adalah pada pH 9.0 pada dosis enzim dosis 10 IU / g pulp, waktu retensi 120 menit, dan suhu 50°C menunjukkan jumlah penurunan kappa terendah dan kecerahan maksimum (Nagar, 2012). Hasil penelitian yang dilakukan oleh (Beg, *et al.*, 2001) menunjukkan bahwa xilanase dari *Bacillus circulans* dapat diproduksi dengan menggunakan fermentasi fase padat. xilanase yang dihasilkan memiliki karakteristik yang sesuai dengan proses *prebleaching*, yaitu memiliki aktivitas selulase yang rendah (sebesar 0,07 U/mL) dengan pH optimum 8,5 dan suhu optimum 50°C. Penggunaan xilanase dengan karakteristik tersebut memiliki beberapa keuntungan seperti tidak memerlukan proses netralisasi dan pendinginan pulp dari proses pemasakan ke proses pemutihan.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan bahwa enzim xilanase yang berasal dari isolat SSA 2 bakteri termofilik pada suhu 60°C mampu menghasilkan tingkat kecerahan tertinggi pada pulp. Berdasarkan bilangan kappa yang terendah yaitu 1,031 dan Aktivitas enzim yang paling tinggi yaitu 14,432.

Ucapan Terimakasih

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan nikmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan penulisan artikel ini. Terimakasih kepada pembimbing yang telah

membimbing dalam pelaksanaan penelitian serta memberikan ide dan saran dalam penulisan artikel. Terimakasih kepada semua pihak yang telah ikut serta berpartisipasi dan memberikan bantuan baik secara moril maupun materil demi lancarnya penelitian dan penulisan artikel.

Daftar Pustaka

- Annamalai, N., Thavasi, R., Jayalakshmi, S., dan Balasubramanian, T. 2009. Thermostable and alkaline tolerant xylanase production by *Bacillus subtilis* isolated from marine environment. *Indian Journal of Biotechnology*. 8: 291–297.
- Bajpai, P. 2004 . Biological Bleaching Of Chemical Pulps. *Critical Reviews In Biotechnology*. 24 (1) :1-58.
- Beg, Q. K., M. Kapoor, L. Mahajan dan G.S. Hoodal. 2001. Microbial xylanases and their industrial applications: A Review. *Applied microbiology and biotechnology*. 56 (3-4): 326-338.
- Christov, L. P., G. Szakacs, dan H Balakrishnan. 1999. Production Partial Characterization and Use of Fungal Cellulase-Free Xilanasein Pulp Bleaching. *Journal Process Biochemistry*. 34 (5): 511-517.
- Garg, G.,R. Mahajan. 2011. Xilanase production using agro-residue in solid-state fermentation from *Bacillus pumilus* ASH for biodelignification of wheat straw pulp. *Biodegradation*. 22 (6): 1143-54.
- Irdawati.,Syamsuardi., A. Agustien dan Yetria Rilda. 2016. Xylanase Enzyme Stability and Biochemical Characteristics Thermoxylyanolytic Bacteria from Mudiak Sapan Hot Springs at Solok Selatan District. *Der Pharmacia Lettre*. 8(19): 254-261.
- Irdawati.,Syamsuardi., A. Agustien., dan Yetria Rilda. 2018. Screening of Thermophilic bacteria Produce Xylanase from Sapan Sungai Aro Hot Spring South Solok. *Materials Science and Engineering*. 335
- McDonough, T.J., Shunichiro uno, Alan W. Rudie, dan Charles E. Courchene. 2009. Optimization of ECF Bleaching of Kraft Pulp: II. Effects of Acid Prehydrolysis on Hardwood Pulp Bleachability. *Tappi Journal*
- Nagar,S., dan Jain,R.K., 2012, *Biobleaching application of cellulase poor and alkali stable Xilanase from Bacillus pumilus* SV-85S, Depart. Of Biochemistry, Kurukshetra University, India.
- putri, I. S. 2018. Kemampuan Bakteri Termofilik dalam Memproduksi enzim Xilanase pada Variasi pH dan Suhu dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro. *Skripsi*. Padang. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.
- Putri. D. D. 2018. Karakterisasi Xilanase Bakteri Termofilik Amobil Dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro Solok Selatan. *Skripsi*. Padang. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.
- Richana, N. 2002. Produksi dan prospek enzim Xilanase dalam pengembangan bioindustri di Indonesia. *Buletin AgroBio*. 5(1): 29-36.
- Riwayati, I., I. Hartati, L. dan Kurniati. 2012. *Teknologi Imobilisasi Sel Mikroorganisme pada Produksi Enzim Lipase*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknis. UNWAHAS: Semarang.
- Sarah A., 2001. Immobilization and Stabilization of Papain on Chelating Sepharose, *Electronic Journal Biotechnology*, Catolica de Velparaaiso Chile.
- Thakur, V. V., Rakesh. K. J dan Rajeev M. M. 2012. Studies on xilanase and laccase enzymatic prebleaching to reduce chlorine-based chemicals during CEH and ECF bleaching. *BioResources*. 7(2): 2220-2235.
- Tolan, J. S., Collins, J. 2004. Use of Xilanasein the Production of Bleached, Unrefined Pulp at Marathon Pulp Inc.

Pulp and Paper Canada. 105 (7): 44-46.

Trismilah, T. dan D. R. Waltam. 2016. Produksi Xilanase Menggunakan Media Limbah Pertanian dan Perkebunan. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 10 (2): 137-144.

Valchev, I. dan P. Tsekova. 2010. Xilanase Posttreatment as a Progress in Bleaching Processes. *Apita Journal*. 63(1): 53-56.

Widhiana, E. T., P. Ardiningsih dan Lia Destiarti. 2015. Produksi dan Karakterisasi Xilanase dari Jamur Xilanolitik Asidofilik. *Jurnal JKK*. 4 (2): 44-49.