

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Jerami Padi

Jerami adalah tanaman padi yang telah diambil buahnya (gabahnya), sehingga tinggal batang dan daunnya yang merupakan limbah pertanian terbesar serta belum sepenuhnya dimanfaatkan karena adanya faktor teknis dan ekonomis. Pada sebagian petani, jerami sering digunakan sebagai mulsa pada saat menanam palawija. Hanya sebagian kecil petani menggunakan jerami sebagai pakan ternak alternatif di kala musim kering karena sulitnya mendapatkan hijauan. Di lain pihak jerami sebagai limbah pertanian, sering menjadi permasalahan bagi petani, sehingga sering di bakar untuk mengatasi masalah tersebut (Ikhsan *et al.*, 2009). Sementara itu, pembakaran limbah pertanian meningkatkan kadar CO<sub>2</sub> di udara yang berdampak terjadinya pemanasan global (Puspaningsih, 2007)

Jerami padi merupakan biomassa berlignoselulosa yang terbentuk dari tiga komponen utama yakni selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa merupakan komponen utama yang terkandung dalam dinding sel tumbuhan dan mendominasi hingga 50% berat kering tumbuhan. Jerami padi diketahui memiliki kandungan selulosa yang tinggi, mencapai 34,2% berat kering, 24,5% hemiselulosa dan kandungan lignin hingga 23,4%. Komposisi kimia limbah pertanian maupun

limbah kayu tergantung pada spesies tanaman, umur tanaman, kondisi lingkungan tempat tumbuh dan langkah pemrosesan (Eriksson *et al.*, 1990).

Tabel 1. Komposisi kimiawi jerami padi

No	Komponen	Eriksson <i>at al.</i> (1990)	Wenzl (2003)
		(100%)	(100%)
1	Air	11,31	14
2	Abu	12,51	10,4-21,8
3	Protein	2,89	2,8-4,4
4	Lemak	0,06	1,1-1,3
5	Serat Kasar	26,03	26,0-33,9
6	Lignin		5,0-11,0
7	Selulosa	30,92	24,0-34,0
8	Hemiselulosa		19,0-29,0

## B. Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan karbohidrat dengan bobot molekul lebih rendah daripada selulosa dan tersusun atas satuan-satuan gula xilosa dan beberapa gula heksosan. Hemiselulosa memiliki derajat polimerisasi yang lebih rendah daripada selulosa yaitu maksimum 200. Dengan dasar bahwa rantai hemiselulosa tidak berbentuk kristal sehingga mudah dimasuki air dan pelarut lain dibandingkan selulosa. Gugus OH hemiselulosa dapat diesterifikasi. Pengaruh alkalis pada suhu tinggi sekali menyebabkan pemecahan hidrolitik dari ikatan glukosida. Di alam hemiselulosa terdapat pada dinding sel semua jenis kayu, merang padi, buah-buahan dan kulit buah umbi-umbian (Gong *et al.*, 1981).

Hemiselulosa merupakan salah satu komponen lignoselulosa yang sering diartikan sebagai selulosa dengan bobot molekul rendah. Hemiselulosa terdiri dari dua sampai tujuh residu gula yang berbeda. Sifat – sifat hemiselulosa di antaranya adalah tidak tahan terhadap perlakuan panas, struktur amorf dan mudah dimasuki pelarut (Sjostrom, 1995), dapat diekstraksi menggunakan alkali dan ikatannya lemah sehingga mudah dihidrolisis (Winarno, 1984). Menurut Judoamidjojo *et al.*, (1989) molekul hemiselulosa lebih mudah menyerap air, bersifat plastis dan mempunyai permukaan kontrol antar molekul yang lebih luas dibandingkan selulosa. Berbeda dengan selulosa yang merupakan homopolisakarida, hemiselulosa merupakan heteropolisakarida.

Hemiselulosa terdiri dari monomer gula penyusun yang dapat dikelompokkan pada heksosa, pentosa, asam heksuronat dan deoksi heksosa. Rantai utama hemiselulosa dapat hanya terdiri dari satu macam monomer saja (homopolimer), misalnya xilan, atau dapat terdiri dari dua atau lebih monomer (heteropolimer) misalnya glukomanan.

### **C. Xilan**

Xilan terdapat pada tanaman berlignoselulosa, kebanyakan dijumpai pada tanaman-tanaman tahunan dan khususnya pada limbah-limbah pertanian seperti tongkol jagung, bagas tebu, jerami padi, dedak gandum dan biji kapas.

Kandungan xilan dalam bahan-bahan tersebut berkisar antara 15-30% bobot kering. Kayu keras (*hard wood*) dan kayu lunak (*soft wood*) juga merupakan

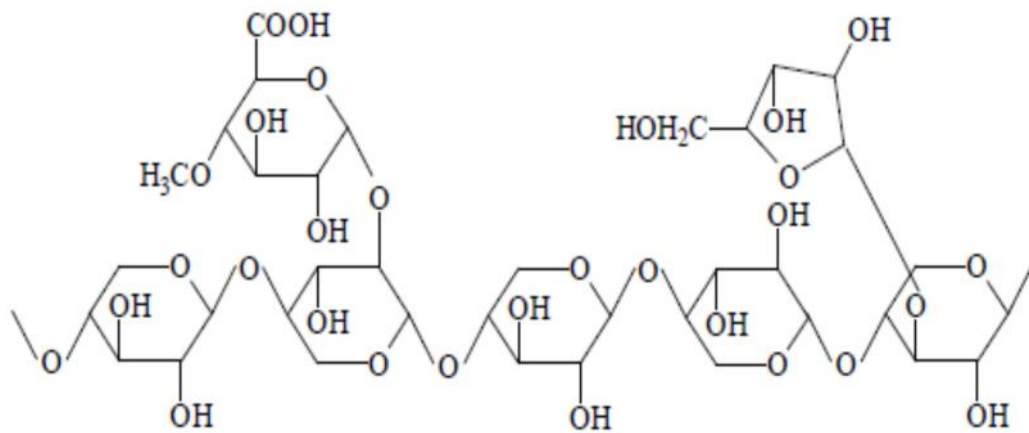
bahan-bahan yang kaya akan xilan, kayu keras mengandung 20-25% xilan sedangkan kayu lunak mengandung 7-12% (Saha, 2003).

Xilan merupakan komponen utama dari hemiselulosa. Xilan atau polimer xilosa adalah komponen yang paling banyak terdapat dalam hemiselulosa tanaman. Xilan terikat pada selulosa, pektin, lignin, dan polisakarida lainnya untuk membentuk sel tanaman (Howard *et al.*, 2003). Xilan merupakan polimer dari xilosa yang berikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik dengan jumlah monomer 150 – 200 unit. Rantai utama penyusun polimer xilan terdapat rantai samping berupa arabinosa, galaktosa, asam glukuronat, asam asetat, asam ferulat dan asam p-kumarat. Setiap sepuluh residu xilosa terikat asam 4-O-metil glukuronat pada posisi atom C nomor 2 di xilosa kedua. Pada kayu keras asetilasi xilan lebih banyak ditemui pada posisi atom C nomor 3 dibandingkan dengan atom C nomor 2. Adanya asetil menyebabkan xilan dapat larut di air. Gugus asetil dapat dihilangkan dengan perlakuan basa (Beg *et al.*, 2001). Pada kayu lunak, xilan tersusun atas arabinosa-4-O-metilglukuroxilan dan dengan kandungan asam 4-O-metilglukoronat yang lebih tinggi dibanding xilan pada kayu keras. Xilan pada kayu lunak tidak terasetilasi karena atom C nomor 3 telah mengikat  $\beta$ -L-arabinofuranosa dengan membentuk ikatan  $\beta$ -1,3 glikosida. Struktur asli xilan sangat kompleks dan dapat disubstitusi dengan grup asetil, L-arabinofuranosil, glukuronosil pada rantai sampingnya (Saha, 2000).

Secara umum, xilan dapat ditempatkan kedalam tiga kelas-polisakarida yaitu pentosa, glikan, dan hemiselulosa. Xilan dimasukkan ke dalam kelas pentosa karena xilan adalah polimer dari xilosa. Jerami padi mengandung sekitar 35

persen pentosa. Xilan dimasukkan ke dalam kelas glikan karena jumlahnya yang cukup besar dan merupakan polimer dari gula yang tak termodifikasi.

Kebanyakan xilan diklasifikasikan atau disebut sebagai hemiselulosa karena dapat diperoleh melalui prosedur ekstraksi hemiselulosa dan xilan adalah komponen pokok dari hemiselulosa.



Gambar 1 : Struktur hipotetikal xilan dari tumbuhan (Beg *et al.*, 2001)

Xilan mempunyai sifat-sifat dapat larut dalam larutan alkali (NaOH atau KOH 2-15 %), larut dalam air dan penyulingan dengan menggunakan larutan HCL xilan dapat berubah menjadi furfural. Xilan mudah dihidrolisis oleh asam dan mempunyai putaran optik negatif (Howard *et al.*, 2003).

Ditinjau dari segi industri, xilan memiliki banyak kegunaan, diantaranya adalah

1. Xilan dapat diubah menjadi xilosa, melalui proses hidrolisis dengan bantuan asam maupun enzim.
2. Xilan dapat digunakan dalam pembuatan tablet dan *artificial low calorie sweeteners* (Kulkani, 1999).

3. Xilosa sangat baik untuk penderita diabetes (Irawadi, 1999). Selain itu, dapat digunakan sebagai pemanis pada permen karet karena di samping tidak menyebabkan kegemukan juga tidak merusak gigi. Kegunaan lainnya dari xilosa adalah sebagai campuran pasta gigi karena memperkuat gusi (Saha, 2003).
4. Xilan dapat dikonversi menjadi xilooligosakarida sebagai bahan prebiotik dengan menggunakan enzim xilanase (Ramirez *et al.*, 2002).

#### **D. Ekstraksi Xilan**

Xilan dapat diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan berlignoselulosa. Beberapa pelarut dapat dipergunakan untuk mengekstrak xilan, diantaranya adalah natrium hidroksida (NaOH), amonium hidroksida (NH<sub>4</sub>OH) dan kalium hidroksida (KOH). Di antara ketiga pelarut tersebut, Natrium Hidroksida adalah yang terbaik karena dapat menghasilkan xilan yang relatif bersih dari pengotor, warnanya lebih putih, serta mudah larut dalam air. Adapun pelarut lain yang dapat digunakan untuk mengekstraksi adalah dimetilsulfoxida, akan tetapi penggunaan pelarut ini tidak dapat menghasilkan xilan secara maksimal. Faktor-faktor yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah daya melarutkan xilan, titik didih, mudah tidaknya terbakar, sifat toksik (racun) serta korosif tidaknya terhadap peralatan ekstraksi (Widyani, 2002).

Xilan dapat diekstraksi dari beberapa bahan berlignoselulosa dengan berbagai proses meliputi ekstraksi secara alkali dengan menggunakan NaOH, KOH (Puls *et al.*, 2006), proses hidrotermal, *pretreatment* dengan asam sulfat dan ultrasonikasi.

### **1. Ekstraksi Xilan secara Netralisasi**

Menurut Widyani (2002), jerami padi direndam dalam NaOCl 1 % pada suhu ruang. Kemudian sampel dibilas dengan air dan disaring (penghilangan lignin). Sampel kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari atau pada suhu 50°C selama 48 jam dan selanjutnya diekstraksi. Padatan yang dihasilkan pada tahap sebelumnya direndam dalam larutan NaOH 15 % selama 24 jam pada suhu 28°C. Perendaman ini bertujuan untuk mengekstraksi xilan dan disaring untuk memperoleh filtrat. Filtrat yang dihasilkan ditampung untuk diukur pH-nya dan selanjutnya dinetralkan dengan HCl 6 N hingga pH 7. Ampas yang sudah tidak terpakai dibuang.

Setelah netralisasi, dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan cairan (supernatan) dengan padatan (endapan). Xilan terkandung dalam supernatan. Etanol ditambahkan ke dalam supernatan untuk memisahkan xilan yang larut di dalamnya. Perbandingan supernatan dengan etanol yang ditambahkan adalah 1:2 (Yoshida *et al.*, 1994). Sebagai tahap akhir, dilakukan pemisahan antara xilan yang diperoleh dengan cairan campuran supernatan-etanol yang tidak ikut mengendap sebagai xilan.

### **2. Ekstraksi Xilan dengan proses Hidrotermal**

Ekstraksi xilan mengikuti prosedur yang disampaikan oleh Zilliox and Debeire (1998) dengan sedikit modifikasi yang dilakukan oleh Akpinar *et al.*, (2010).

Jerami padi yang telah kering diblender dan dipanaskan pada suhu 60°C selama 16 jam. Xilan diekstraksi selama 3 jam pada suhu 35°C dengan penambahan 24 persen KOH (w/v) yang mengandung 1 persen NaBH<sub>4</sub>, dengan volume KOH 17 mL per 2 gram jerami. Ekstrak disentrifugasi pada 10000 rpm selama 2 menit lalu difiltrasi menggunakan kertas Wattman No. 1. Xilan diendapkan dengan menambahkan 2 kali volum etanol dingin dan 0,2 kali volume asam asetat. Endapan disaring dan dikeringkan dalam oven bersuhu 60 °C.

### **3. Ekstraksi Xilan secara Ultrasonikasi**

Ultrasonikasi dengan intensitas yang tinggi merupakan cara untuk mengisolasi fibril yang digunakan untuk perlakuan material yang mengandung selulose untuk menghasilkan fibril yang kecil pada skala nano dan mikro (Cheng *et al.*, 2009). Ultrasonikasi dapat menghasilkan kekuatan mekanis yang sangat kuat, sehingga pemisahan mikrofibril selulosa dari selulosa kemungkinan dilakukan oleh kekuatan hidrodinamik dari ultrasonikasi. Metode ini secara luas terpakai pada beberapa proses, terutama diemulsifikasi, katalisis, homogenisasi dan disperse. Efisiensi proses sonifikasi dari tanaman telah dibuktikan, dari pemecahan serabut yang meningkatkan hasil ekstraksi dan waktu ekstraksi cepat. Waktu yang diperlukan untuk proses ultrasonikasi dapat dikurangi ketika kekuatan iradiasi meningkat (Kim *et al.*, 1999)

### **E. Hidrolisis Xilan**

Hidrolisis polisakarida merupakan proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu: selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula



penyusunnya (glukosa & xilosa). Hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentosa (C5) dan heksosa (C6). Secara umum teknik hidrolisis dibagi menjadi dua, yaitu: hidrolisis dengan enzim dan hidrolisis dengan asam.

### **1. Hidrolisis Enzim**

Hidrolisis enzim merupakan proses penguraian suatu polimer yang kompleks menjadi monomer penyusunnya dengan menggunakan enzim (Perez *et al.*, 2002). Hidrolisis enzimatis memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain: tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih lunak (suhu rendah, pH netral), berpotensi memberikan hasil yang tinggi, dan biaya pemeliharaan peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif (Taherzadeh and Karimi, 2007). Beberapa kelemahan dari hidrolisis enzimatis antara lain adalah membutuhkan waktu yang lebih lama, dan kerja enzim dihambat oleh produk. Di sisi lain harga enzim saat ini lebih mahal daripada asam sulfat, namun demikian pengembangan terus dilakukan untuk menurunkan biaya dan meningkatkan efisiensi hidrolisis maupun fermentasi (Sanchez and Cardona, 2007).

### **2. Hidrolisis asam**

Di dalam metode hidrolisis asam, biomassa lignoselulosa dipaparkan dengan asam pada suhu dan tekanan tertentu selama waktu tertentu, dan menghasilkan monomer gula dari polimer selulosa dan hemiselulosa. Beberapa asam yang umum digunakan untuk hidrolisis asam antara lain adalah asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), asam perklorat, dan HCl. Asam sulfat merupakan asam yang paling banyak

diteliti dan dimanfaatkan untuk hidrolisis asam (Tahezadeh and Karimi, 2007). Hidrolisis asam dapat dikategorikan melalui dua pendekatan umum, yaitu hidrolisis asam konsentrasi tinggi pada suhu rendah dan hidrolisis asam konsentrasi rendah pada suhu tinggi. Pemilihan antara dua cara tersebut pada umumnya didasarkan pada beberapa hal yaitu laju hidrolisis, hasil total hidrolisis, tingkat degradasi produk dan biaya total proses produksi (Kosaric *et al.*, 1983).

#### **F. Enzim Xilanase**

Enzim merupakan produk protein sel hidup yang berperan sebagai biokatalisator dalam proses biokimia, baik yang terjadi di dalam sel maupun di luar sel (Poedjiadi, 1994). Enzim merupakan katalisator sejati yang meningkatkan kecepatan reaksi kimia spesifik dengan nyata. Tanpa enzim, suatu reaksi kimia akan berlangsung lambat. Enzim tidak dapat mengubah titik kesetimbangan reaksi yang dikatalisisnya, enzim juga tidak akan habis dipakai atau diubah secara permanen oleh reaksi-reaksi tersebut. Fungsi terpenting dari enzim adalah kemampuannya menurunkan energi aktivasi suatu reaksi kimia. Kemampuan enzim dalam mendegradasi substrat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, pH serta temperatur (Lehninger, 1982).

Enzim xilanase merupakan biokatalis reaksi hidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi gula pereduksi. Xilan merupakan polimer xilosa yang berikatan  $\alpha$ -1,4 dengan jumlah monomer 30-100 unit (Schlegel dan Schmidt, 1994). Enzim xilanase dapat dihasilkan oleh sejumlah mikroorganisme seperti: *A. niger*,

*Bacillus*, *Cryptococcus*, *Penicillium*, *Aureo-basidium*, *Fusarium*, *Rhizomucor*, *Humicola* (Haltrich *et al.*, 1996).

Tabel 2: Beberapa mikroorganismen penghasil xilanase

Mikroorganismen	Kondisi Fermentasi	Karakteristik Enzim		Referensi
	Suhu Tumbuh (°C)	Suhu optimum (°C)	pH	
<i>Aspergillus sp</i>	24-30	45-60	4,5-6	Stenberg <i>et al.</i> , 1997
<i>Bipolaris sorokinana</i>	28	70	5,5	Bath, 1997
<i>Fusarium oxysporium</i>	20	55	4,5	Bath, 2001
<i>Cryptococcus flavus</i>	26	50	5,0	Christakopoulos <i>et al.</i> , 1991
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	22	80	4,0	Berlin <i>et al.</i> , 2005
<i>Humicola grisea</i>	40	70	5,5	Lynd <i>et al.</i> , 2002
<i>Trichoderma sp</i>	25-30	50-60	3,5-6,5	Koivula <i>et al.</i> , 1998

Sumber: Sunna and Antraniklan, 1997

Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis polisakarida -1,4-xilan yang merupakan komponen utama hemiselulosa menjadi xilooligosakarida dan xilosa (Richana, 2002). Struktur xilan yang sangat bervariasi mulai dari rantai linier 1,4- -polixilosa sampai heteropolisakarida bercabang banyak. Xilanase dapat diklasifikasi berdasarkan substrat yang dihidrolisis yaitu -1,4-D-xilosidase (EC 3.2.1.37) eksoxilanase dan endo- -1,4-xilanase (EC3.2.1.8) atau biasa disebut endoxilanase (Yarema, 2005). -1,4-xilosidase yaitu xilanase yang mampu menghidrolisis xilooligosakarida yang berantai pendek menjadi xilosa. Aktivitas enzim akan menurun dengan meningkatnya rantai xilooligosakarida. Xilosa selain merupakan hasil hidrolisis

juga merupakan inhibitor bagi enzim  $\beta$ -1,4-D-xilosidase. Eksoxilanase mampu memutus rantai polimer xilan pada ujung reduksi, sehingga menghasilkan xilosa sebagai produk utama dan sejumlah oligosakarida rantai pendek. Endoxilanase mampu memutus ikatan  $\beta$ -1,4 pada bagian dalam xilan secara teratur. Ikatan yang diputus ditentukan berdasarkan panjang rantai substrat, derajat percabangan, ada atau tidaknya gugus substitusi, dan pola pemutusan dari enzim hidrolase (Richana, 2002; Jefries, 1996).

Xilanase (endo-beta-1,4-xilanase, E.C 3.2.1.8) adalah enzim yang mampu memutuskan ikatan pada rantai utama xilan yang akan membentuk molekul oligosakarida. Enzim inilah yang memegang peranan kunci dalam mendegradasi polimer xilan yang banyak ditemukan pada dinding sel tanaman berkayu (Saha, 2003).

Mekanisme kerja enzim xilanase mampu mendegradasi polimer xilan dengan cara memutus ikatan antargugus pada bagian tengah secara acak yang akan menghasilkan xilooligosakarida, (Collins *et al.*, 2005).

## **G. Prebiotik**

Prebiotik adalah karbohidrat yang tidak dicerna tubuh, namun dapat dicerna oleh mikroba yang menguntungkan dalam tubuh, sehingga meningkatkan kesehatan, (Gibson, 1995). Prebiotik umumnya meningkatkan komposisi mikroba yang menguntungkan (serta meningkatkan aktivitasnya) dan mengurangi mikroba yang

merugikan dalam tubuh, sehingga ASI pun dikatakan sebagai prebiotik.

Sebenarnya prebiotik sudah terdapat dalam tanaman seperti pada umbi dahlia, bawang merah, bawang putih, asparagus, kedelai, ubi jalar, dan juga pada susu.

Namun itu bukan berarti dengan hanya mengkonsumsi bahan-bahan tersebut maka kita akan dapat memperoleh prebiotik yang diharapkan. Alasannya kadar prebiotiknya biasanya sangat rendah dan bervariasi tergantung varietasnya.

Alasan lainnya adalah karena jumlahnya sangat kecil, maka glukosa dan fruktosa dari bahan-bahan tadi sangat mudah diserap usus sehingga prebiotiknya ikutan habis sebelum mencapai usus besar. Padahal di usus besar itu terjadi penyerapan nutrisi yang dibantu mikroba, tidak seperti pemahaman masa lalu yang mengira usus besar hanya berisi sampah yang siap dibuang. Contoh prebiotik adalah fruktooligosakarida (Gibson, 1995) dan xilooligosakarida (Vazquez *et al.*, 2000).

Bentuk yang paling umum dari probiotik adalah produk peternakan dan makanan probiotik. Bagaimanapun juga, tablet dan kapsul berisikan bakteri dalam kondisi dibekukan juga dapat ditemukan.

Beberapa probiotik umum meliputi berbagai spesies dari genera *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* seperti:

- *Bifidobacterium bifidum*
- *Bifidobacterium breve*
- *Bifidobacterium infantis*
- *Bifidobacterium longum*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus reuteri*
- *Lactobacillus rhamnosus*
- *Lactobacillus GG*

Prebiotik yang banyak dikenal dan digunakan adalah oligosakarida kedelai (yang terdiri atas rafinosa dan stakiosa), frukto-oligosakarida (oligofruktosa), Inulin, Laktulosa, Laktosukrosa dan xilooligosakarida. Prebiotik XOS yang disebutkan dapat meningkatkan pertumbuhan *bifidobacterium*. Bakteri bermanfaat yang terdapat dalam minuman yoghurt atau susu fermentasi komersial. Apabila dikonsumsi dengan dosis yang tepat dan cara yang benar, maka prebiotik dapat mengobati atau mendukung pengendalian penyakit seperti kanker usus, liver, sembelit, diabetes melitus dan kanker (Hidayat dkk., 2008).

Sifat oligosakarida yang tidak dicerna ataupun diserap oleh saluran pencernaan akan mencapai usus besar dalam keadaan utuh dan digunakan sebagai makanan oleh bakteri non patogen di dalam usus besar yaitu *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli* (Muchtadi, 2009).

#### **H. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan salah satu metode kimia dan fisikokimia. KCKT termasuk metode analisis terbaru yaitu suatu teknik kromatografi dengan fasa gerak cairan dan fasa diam cairan atau padat. Kelebihan itu antara lain mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, mudah melaksanakannya, kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, dapat dihindari terjadinya dekomposisi / kerusakan bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam-macam detektor, kolom dapat digunakan kembali.

Kromatografi cair kinerja tinggi ideal untuk memisahkan molekul yang mempunyai bobot molekul tinggi. Proses kromatografi cair kinerja tinggi dilakukan di dalam kolom dengan tekanan tinggi. Sistem fase gerak pada kromatografi kinerja cair tinggi berupa larutan yang mempunyai perbedaan polaritas di mana larutan tersebut harus murni dan tidak mengandung gas. Sistem injeksi sangat efisien karena di dalam mikroliter. Pada kromatografi kinerja cair tinggi juga terdapat kolom yang juga berfungsi sebagai tempat larutan fase gerak yang dialirkan ke detektor (Jonhson, 1991).

Menurut Safitri (2007), produk hidrolisis xilooligosakarida oleh enzim xilosidase termofilik rekombinan ini dianalisis dengan HPLC untuk memperoleh hasil yang maksimal. Analisis HPLC menggunakan kolom karbohidrat (Waters), detektor indeks bias pelarut asetonitril 60% dalam air, kecepatan alir 1 mL/menit, konsentrasi senyawa standar 1%, volume injek 20 mikroliter dan suhu 40°C.

### **I. Spektrofotometer Ultraviolet-Visibel (UV-vis)**

Spektrosfotometri merupakan studi mengenai interaksi cahaya dengan atom atau molekul. Bila cahaya jatuh pada senyawa, maka sebagai cahaya tersebut akan terserap oleh molekul tersebut. Banyaknya sinar yang diabsorpsi adalah sebanding dengan konsentrasi senyawa yang dianalisis (Sudjadi, 1983).

Spektrosfotometri ultraviolet-visibel adalah pengukuran jumlah radiasi UV-vis yang diserap oleh senyawa sebagai fungsi dari panjang gelombang radiasi.

Panjang gelombang serta intensitasnya ini tergantung dari jenis ikatan dan gugus

karakteristik dari molekul. Spektrum tampak (visibel) terentang dari sekitar 400 nm (ungu) sampai 750 nm (merah), sedangkan spektrum ultraviolet terentang dari 100 nm sampai dengan 400 nm (Fessenden and Fessenden, 1986).

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum UV-vis tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektrum UV-vis dari senyawa organik berkaitan erat dengan transisi-transisi elektron di antara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Transisi-transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan dan orbital anti ikatan. Tetapi dalam praktek, UV-vis digunakan terbatas pada sistem-sistem terkonjugasi (Sudjadi, 1983). Menurut Septiyana (2010), pengukuran aktivitas enzim xilanase dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran absorbansi masing-masing larutan dilakukan pada  $\lambda$  540 nm. Satu unit aktivitas xilanase didefinisikan sebagai jumlah  $\mu\text{mol}$  xilosa yang dihasilkan per menit untuk setiap mL enzim pada kondisi optimumnya.