

OPTIMASI MEDIA PRODUKSI XILANASE DARI *Bacillus* sp.

Erika ^a, Rochmah Agustrina ^b, Sumardi ^b¹, Mulyono ^c

^a Program Studi Magister Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung, Lampung

^b Program Studi Magister Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung, Lampung

^c Program Studi Magister Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Lampung, Lampung

¹ sumardi_bio@yahoo.co.id

Diterima: 15 Oktober 2015, Revisi akhir: 22 Juni 2016, Disetujui terbit: 24 Juni 2016

MEDIUM OPTIMIZATION OF XILANASE PRODUCTION FROM Bacillus sp.

ABSTRACT

Xylan is a carbon source in growth medium of extracellular xylanase producing bacteria. The purpose of this study was to get the optimum medium for the growth of Bacillus sp. in producing the xylanase. The factors consist of production time, carbon, and nitrogen source, as well as simple sugars. Addition carbon source used was delignified sugarcane bagasse, rice hulls, and corn cobs with different concentrations (0.25%; 0.5%; 0.75%; and 1% w/v) . Ammonium chloride, ammonium sulfate, and sodium nitrate with different concentrations (0.08%; 0.17%; 0.26%; and 0.35% w/v) were used as a source of nitrogen, while the simple sugar used was glucose, lactose, sucrose, and xylose. The results showed that the optimum culture media of Bacillus sp. to produce xylanase is media with 0.25% natural starch from the corn cob xylan as a carbon source, 0.26% ammonium chloride as a source of nitrogen, 0.0625 grams of sugar xylose, at pH 6, incubation temperature of 40°C, and 12 hours production time. In that media, xylanase activity was 0.2 U/mL.

Keywords: agricultural waste, medium optimization, xylanase, Bacillus sp.

ABSTRAK

Xilan merupakan sumber karbon pada media pertumbuhan bakteri penghasil enzim ekstraseluler xilanase. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan media optimum untuk pertumbuhan *Bacillus* sp. dalam memproduksi xilanase. Perlakuan percobaan terdiri dari waktu produksi, sumber karbon, sumber nitrogen, dan penambahan gula sederhana. Sumber karbon yang digunakan adalah bagas tebu, sekam padi, dan tongkol jagung dengan variasi konsentrasi 0,25%; 0,5%; 0,75%; dan 1% (b/v) . Amonium klorida, amonium sulfat, dan natrium nitrat dengan variasi konsentrasi 0,08%; 0,17%; 0,26%; dan 0,35% (b/v) digunakan sebagai sumber nitrogen, sedangkan gula sederhana yang digunakan adalah glukosa, laktosa, sukrosa, dan xilosa masing-masing sebanyak 0,0625 b/v. Hasil percobaan menunjukkan bahwa media optimum pertumbuhan *Bacillus* sp. untuk produksi xilanase adalah media dengan 0,25% tepung xilan dari tongkol jagung sebagai sumber karbon, 0,26% amonium klorida sebagai sumber nitrogen, 0,0625 gram gula xilosa, pada pH media 6, suhu inkubasi 40°C, serta waktu produksi 12 jam. Dalam media tersebut, aktivitas xilanase yang dihasilkan sebesar 0,2 U/mL.

Kata kunci : limbah pertanian, optimasi media, xilanase, *Bacillus* sp.

PENDAHULUAN

Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang menghidrolisis xilan menjadi xilooligosakarida dan xilosa (Susilowati dkk., 2012). Xilosa sebagai hasil penguraiannya dapat dimanfaatkan dalam berbagai industri makanan dan obat-obatan antara lain : memperkuat gusi

dengan cara mencampurkan gula xilosa dengan pasta gigi sebagai pengganti pemanis makanan bagi penderita diabetes dan untuk meningkatkan sistem imun, menghambat laju osteoporosis, dan mencegah sakit telinga pada anak-anak (Mulyani, 2010).

Selain itu, pemanfaatan xilanase dalam bidang industri lain juga telah banyak dilakukan

seperti dalam industri kertas dan proses pemutihan pulp (Irfan dkk., 2010). Pada industri tersebut, xilanase dapat digunakan sebagai agen *biobleaching*. Xilanase mampu memotong ikatan antara xilan pada selulosa yang berikatan dengan lignin, sehingga akan memotong xilan menjadi monomernya, dan dapat melepaskan lignin dari selulosa sehingga akan menghasilkan pulp yang berwarna putih dan lebih ramah lingkungan.

Meskipun xilanase diketahui memiliki berbagai manfaat, namun ditemui banyak kendala dalam upaya untuk memproduksinya, salah satunya adalah masih minimnya pengetahuan mengenai teknologi produksi enzim dan ketersediaan biakan mikroba penghasil enzim ekstraseluler xilanase yang unggul. Penggunaan mikroba sebagai agen penghasil enzim memiliki beberapa keuntungan diantaranya: kecepatan tumbuh mikroba tinggi sehingga dapat diproduksi dalam waktu singkat, mudah dikontrol, dan biaya produksi relatif murah (Pangesti dkk., 2012). Salah satu mikroba penghasil xilanase adalah *Bacillus* sp. (Richana dkk., 2008). Uji pendahuluan pada isolat *Bacillus* sp. dalam media dengan penambahan xilan menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. memiliki daya xilanolitik yang terlihat dari adanya pembentukan zona jernih pada media kultur. Di samping sebagai mikroba penghasil xilanase, *Bacillus* sp. tersebut juga diharapkan berpotensi sebagai probiotik dalam dunia peternakan.

Penelitian optimasi produksi xilanase alkali termofilik dari *Bacillus halodurans* CM1 dalam fermentasi telah dilakukan oleh Wibowo (2014). Dari penelitian tersebut diketahui bahwa bakteri tersebut menghasilkan xilanase terbaik dengan menggunakan media tongkol jagung 4,36% (b/v), tepung ikan P 1,75% (b/v), dan pH 9,0. Penelitian sejenis oleh Muawanah (2006) menyatakan produksi xilanase termostabil dari *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 pada media modifikasi Mendel menyatakan bahwa substrat terbaik adalah bagasse tebu dengan kadar air 65%. Dengan memperhatikan hal tersebut, penelitian optimasi produksi xilanase dengan menggunakan *Bacillus* sp untuk keperluan probiotik dengan memanfaatkan limbah pertanian menjadi sangat penting. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan komposisi media optimum untuk pertumbuhan *Bacillus* sp. dalam memproduksi xilanase.

BAHAN DAN METODE

Mikroba

Mikroba yang akan digunakan adalah *Bacillus* sp. koleksi kultur di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNILA. Bakteri tersebut diisolasi dari saluran pencernaan ayam kampung.

Pembuatan Tepung Xilan

Sumber karbon xilan yang ditambahkan pada media kultur media (Liang dkk., 2014) diambil dari sumber karbon alami yang berasal dari 3 jenis limbah pertanian, yaitu: bagas tebu, sekam padi, dan tongkol jagung. Ketiga jenis limbah pertanian tersebut didelignifikasi dengan cara sebagai berikut : sampel limbah dicacah dengan ukuran ± 1 cm. Hasil cacahan dihaluskan sampai ukuran 80 mesh dengan masing-masing serbuk bagas tebu, sekam padi, dan tongkol jagung disiapkan sebanyak 20 g. Masing-masing serbuk yang dihasilkan didelignifikasi dalam NaOCl 0,5%, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 6500 rpm selama 15 menit. Endapan dikeringkan, kemudian direndam dalam larutan NaOH 10% dan disentrifugasi. Supernatan yang diperoleh dinetralkan dengan HCl 6N. Xilan yang terlarut dalam supernatan dipisahkan dengan penambahan etanol 95% dengan perbandingan etanol : sampel = 3:1 (Richana dkk., 2007). Produk akhir berupa tepung xilan yang tersebut digunakan sebagai sumber karbon dalam media pertumbuhan bakteri.

Produksi Xilanase

Inokulum *Bacillus* sp. ditumbuhkan pada 50 mL media steril Mandels dan Rees (1957) yang dimodifikasi dengan komposisi : *xylan beechwood* 0,5%; *yeast extract* 0,35%; Triptofan 0,35%; NaCl 0,2%; KH_2PO_4 0,245%; MgSO_4 0,035%; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,175%. Inokulum bakteri kemudian diinkubasi selama 30 jam pada *incubator shaker* dengan kecepatan 120 rpm dengan suhu 40°C. Percobaan diulang 2 kali dan setiap 6 jam sekali dilakukan pengambilan contoh untuk mengetahui waktu produksi enzim yang maksimal. Contoh tersebut disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm dan suhu 4°C selama 15 menit. Selanjutnya, enzim kasar diuji aktivitasnya dengan metode DNS. Produksi xilanase diamati dengan melihat aktivitas enzim xilanase.

Perlakuan Optimasi Media

Optimasi media dilakukan melalui 5 tahapan percobaan. Media kultur yang dimaksud adalah media dari penelitian Mandels dan Rees (1957), yang dimodifikasi dengan masing-masing dua kali ulangan. Aktivitas xilanase dinyatakan dalam aktivitas relatif dibandingkan dengan media dasarnya.

Tahap pertama adalah percobaan penentuan sumber karbon alami pertumbuhan *Bacillus sp.* penghasil xilanase dengan aktivitas paling tinggi. Pada tahap ini, digunakan 0,5% tepung xilan dari bagas tebu, sekam padi, dan tongkol jagung. Sumber karbon alami terbaik yang menghasilkan aktivitas xilanase paling tinggi dijadikan acuan pada percobaan tahap kedua.

Tahap kedua adalah penentuan konsentrasi optimum sumber karbon xilan. Sebanyak 0,25%; 0,5%; 0,75%; dan 1% sumber karbon alami terbaik dari hasil percobaan tahap pertama ditambahkan ke dalam media yang sama. Kultur *Bacillus sp.* sebanyak 10% dimasukkan dalam media tersebut. Kultur diinkubasi dalam *incubator shaker* pada suhu 40°C dengan kecepatan 120 rpm. Konsentrasi karbon yang memberikan aktivitas xilanase paling tinggi dijadikan acuan pada percobaan tahap ketiga.

Tahap ketiga adalah penentuan jenis sumber nitrogen. Sumber nitrogen yang digunakan adalah amonium klorida, amonium sulfat, dan natrium nitrat. Masing-masing sumber nitrogen tersebut menggunakan konsentrasi 0,175% dengan komposisi media dasar Mandel dan Rees (1957). Sumber nitrogen yang memberikan aktivitas xilanase paling tinggi dijadikan acuan pada percobaan tahap keempat.

Tahap keempat adalah penentuan konsentrasi optimum sumber nitrogen. Sebanyak 0,08%; 0,175%; 0,26%; dan 0,35% sumber nitrogen terbaik dari hasil percobaan tahap ketiga ditambahkan masing-masing ke dalam 20 mL media. Konsentrasi nitrogen yang memberikan aktivitas xilanase paling tinggi dijadikan acuan pada percobaan selanjutnya tahap kelima.

Tahap kelima adalah penentuan sumber gula sederhana. Gula sederhana yang digunakan adalah glukosa, laktosa, sukrosa dan xilosa. Sebanyak 0,0625 (b/v) gula sederhana ditambahkan ke dalam media dasar Mandel dan Rees (1957).

Penentuan Aktivitas Xilanase

Penentuan aktivitas xilanase dilakukan dengan metode *3,5-dinitrosalicylic acid* (DNS) (Miller, 1959). Aktivitas enzim diukur berdasarkan nilai absorbansi larutan sampel pada panjang gelombang 575 nm. Sebagai blangko, penambahan enzim ke dalam tabung reaksi dilakukan setelah proses inkubasi. Satu unit aktivitas xilanase (U/mL) didefinisikan sebagai jumlah enzim yang melepaskan μmol xilosa per menit (Dybkær, 2002). Setelah selesai pengukuran aktivitas xilanase, segera dilakukan penghitungan aktivitas relatif xilanase dengan membandingkan antara aktivitas dari perlakuan dengan aktivitas dari media dasar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Tepung Xilan

Substrat dalam bentuk tepung memungkinkan kontak antar substrat tersebut dengan enzim semakin tinggi sehingga proses hidrolisis berlangsung lebih cepat (Pangesti dkk., 2012). Hasil ekstraksi xilan tertinggi diperoleh dari proses delignifikasi tongkol jagung dengan rendemen 26,69 % (Tabel 1).

Tabel 1. Rendemen Hasil Delignifikasi Bahan Limbah Pertanian

No	Bahan Limbah	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)	Persentase (%)
1	Bagas Tebu	20	4,82	24,1
2	Sekam Padi	20	1,24	6,2
3	Tongkol Jagung	20	5,34	26,69

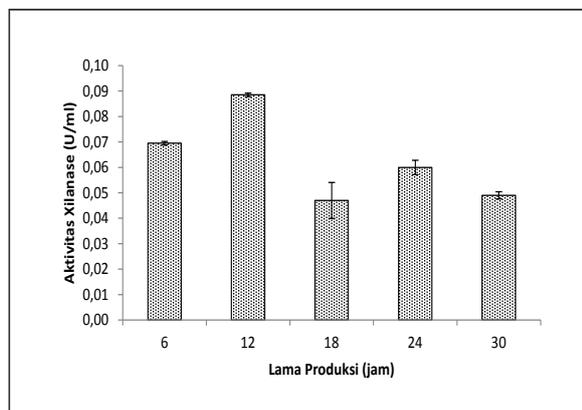
Hasil ekstraksi xilan dari bagas tebu tidak berbeda dengan tongkol jagung. Kekompakan dari bahan terlihat berpengaruh pada penghancurannya. Persentase sekam padi terendah karena banyak sekam padi yang berterbangan saat penghancuran awal sehingga rendemen rendah. *Bacillus sp.* yang digunakan diisolasi dari saluran pencernaan ayam. Suhu tubuh ayam adalah 39°C - 40°C sehingga produksi xilanase dilakukan meniru kondisi asal bakteri tersebut, yakni diinkubasi pada suhu 40°C.

Secara umum, produksi enzim sangat dipengaruhi suhu, waktu inkubasi, dan pH media produksi (Sarkar dan Kaustav, 2012). Beberapa penelitian lain diketahui bahwa aktivitas xilanase yang dihasilkan dari *Bacillus pumilus* optimum pada suhu 40°C dengan rentang 30°C - 60°C dan menghasilkan aktivitas relatif xilanase tertinggi, yaitu 100% (Menon dkk., 2010). Hasil penelitian (Guha dkk., 2013) menunjukkan bahwa suhu optimum *Bacillus* sp. dalam memproduksi xilanase adalah 40°C.

Penentuan Waktu Produksi Optimum

Hasil percobaan menunjukkan bahwa waktu produksi optimum xilanase adalah 12 jam dengan aktivitas 0,09 U/mL (Gambar 1). Sumber karbon yang digunakan dalam percobaan ini, yaitu *xylan beechwood*.

Diduga dalam percobaan ini, isolat bakteri telah memasuki fase eksponensial setelah 12 jam inkubasi sehingga sumber nutrisi yang terdapat dalam media Mandels dan Rees (1957), telah dimanfaatkan secara maksimal. Pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. ini mengikuti pola induktif. Pada penelitian lain (Sinaga, 2013), produksi selulase dilakukan dimana penambahan selnya meningkat mulai pada jam ke-6 sampai jam ke-24.



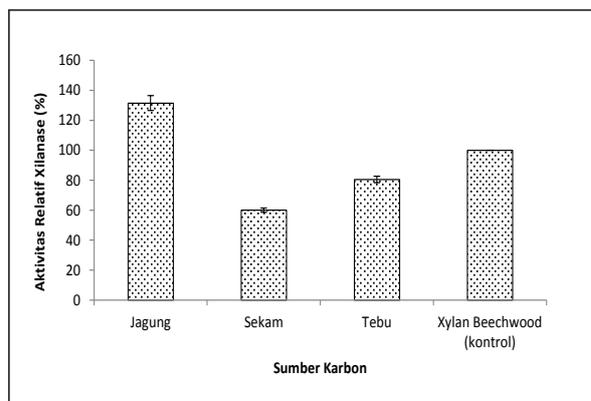
Gambar 1. Pengaruh Waktu Produksi terhadap Aktivitas Xilanase

Aktivitas Xilanase pada Berbagai Sumber Karbon

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa tepung xilan tongkol jagung adalah sumber karbon alami dalam media yang memberikan aktivitas relatif enzim tertinggi sebesar 133% (Gambar 2).

Richana dkk., (2008) mengemukakan bahwa ekstrak tongkol jagung menghasilkan tepung xilan yang hampir murni, yaitu 97,47%. Hasil kromatogram ekstrak xilan tongkol jagung menunjukkan waktu retensi yang tidak jauh berbeda dengan waktu retensi *oalt spelt xylan* sebagai standar (2,59 menit dan 2,57 menit). Dengan demikian, ekstrak xilan tongkol jagung dapat dijadikan sumber karbon alternatif yang potensial untuk pertumbuhan mikroorganisme xilanolitik sesuai dengan yang dikemukakan oleh Yaşınok dkk., 2008. Hasil penelitian yang sama juga menunjukkan bahwa xilanase yang diproduksi dari xilan tongkol jagung dengan menggunakan bakteri *Bacillus circulans* menghasilkan aktivitas xilanase sebesar 11,07 U/mL (Septiningrum dan Chandra, 2011).

Sumber karbon alami xilan dari sekam padi menghasilkan aktivitas relatif xilanase terendah (Gambar 2). Hal tersebut diduga akibat dari rendahnya kandungan xilan sekam padi (18,03%) dibandingkan kandungan xilan tongkol jagung dan bagas tebu masing-masing yaitu 25% dan 35% (Fitriani dkk., 2013 dan Jalaluddin dkk., 2005)



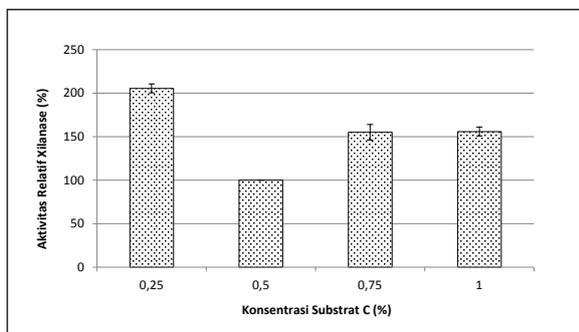
Gambar 2. Pengaruh Berbagai Sumber Karbon Alami terhadap Aktivitas Relatif Xilanase dengan *Xylan Beechwood* sebagai Kontrol

Ukuran tepung xilan dari tongkol jagung lebih lembut dibandingkan *xylan beechwood* sehingga diduga tepung xilan tongkol jagung lebih cepat tercampur dan lebih mudah larut dalam media cair. Tepung xilan dari bagas tebu (aktivitas relatif 79%), meskipun kandungan xilannya lebih tinggi 10% dari tongkol jagung (Fitriani dkk., 2013 dan Jalaluddin dkk., 2005) tetapi ternyata aktivitas relatif enzim yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan dengan tepung xilan tongkol jagung (aktivitas relatif).

Produksi Xilanase

a. Sumber Karbon Xilan Tongkol Jagung

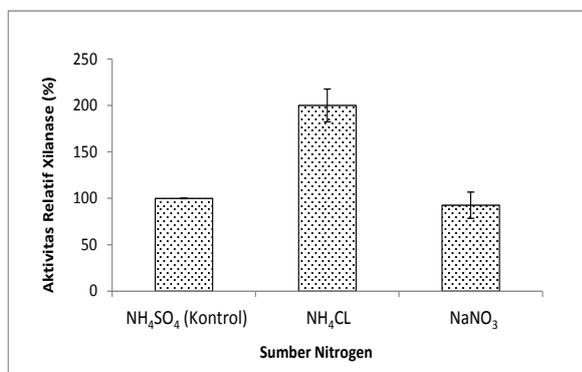
Setiap mikroorganisme membutuhkan sumber karbon konsentrasi tertentu untuk pertumbuhannya. Sumber karbon terbaik untuk produksi xilanase dalam penelitian ini adalah tepung alami xilan tongkol jagung dengan konsentrasi optimumnya 0,25% yang menghasilkan aktivitas relatif xilanase tertinggi yaitu 206% (Gambar 3). Menurut Guha (2013), pada konsentrasi xilan 0,25% sampai dengan 1 % (b/v) digunakan untuk produksi xilanase.



Gambar 3. Pengaruh Konsentrasi Tepung Xilan Tongkol Jagung terhadap Rata-rata Aktivitas Relatif Xilanase

Berbeda dengan hasil yang dilaporkan (Meryandini dkk., 2009), isolat 45I-3 memiliki kurva tertinggi dengan media xilan 1%. Media yang mengandung xilan akan menginduksi mikroba penghasil xilanase mensekresikan enzimnya.

b. Berbagai Sumber Nitrogen



Gambar 4. Pengaruh Sumber Nitrogen terhadap Aktivitas Relatif Xilanase

Hasil percobaan menunjukkan bahwa sumber nitrogen terbaik untuk memproduksi xilanase, yaitu NH₄Cl dengan aktivitas relatif enzim sebesar 200%. Besarnya aktivitas pada sumber nitrogen tersebut kemungkinan disebabkan oleh asal usul *Bacillus* sp yang digunakan berasal dari usus ayam dimana kebiasaan bakteri itu hidup pada di lingkungan dengan kondisi tersebut. Menurut Rachmawati (2000), kotoran ayam banyak mengandung amonia. Nilai aktivitas relatif enzim terendah diperoleh dari media yang mendapat tambahan natrium nitrat sebagai sumber nitrogen (Gambar 4).

Nitrogen dalam media kultur diperlukan bakteri *Bacillus* sp. M_{1,2,3} untuk meningkatkan pertumbuhan sel (Zuhri dkk., 2013) dan produksi xilanase sebesar 681,22 IU/g (Sarkar dan Kaustav, 2012). Sumber nitrogen pada media kultur sangat diperlukan bakteri *Bacillus* sp. untuk proses metabolisme, pertumbuhan, dan produksi xilanase sebesar 1,2 U/mL (Guha dkk., 2013). Nitrogen yang diperlukan harus tersedia dalam jumlah optimum. Jika kekurangan ataupun kelebihan sumber nitrogen maka produksi enzim terhambat (Aiyer, 2004).

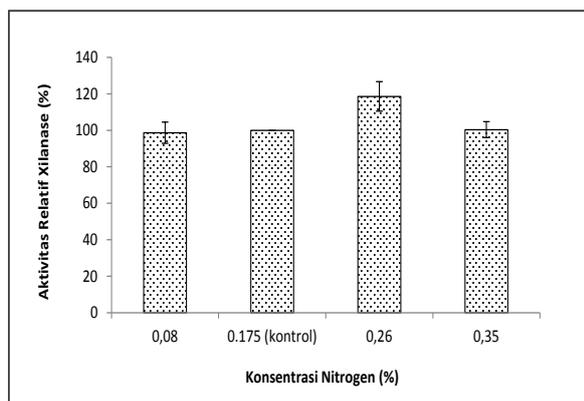
Penambahan amonium sulfat dalam media kultur menunjukkan aktivitas relatif xilanase lebih rendah dari amonium klorida. Meskipun demikian, hasil penelitian (Zuhri dkk., 2013) menunjukkan bahwa amonium sulfat merupakan sumber nitrogen terbaik dalam kultur *Bacillus* sp. M_{1,2,3} untuk produksi protease alkali. Kebutuhan sumber nitrogen setiap jenis mikroorganisme sangat spesifik dan berbeda-beda. Mikroorganisme yang sejenis tetapi dari sumber yang berbeda, akan berbeda pula kebutuhan sumber nitrogennya.

Beberapa hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa mikroorganisme yang sejenis memiliki perbedaan kebutuhan nitrogen optimumnya. Penelitian Mulyani (2010) menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* tumbuh optimum pada media dengan sumber nitrogen (NH₄)₂SO₄ dan menghasilkan xilanase sebesar 34,48 U/mg, sedangkan hasil penelitian Peter-Albert dkk. (2015), *Aspergillus niger* pada media dengan sumber nitrogen dari *tomato pomace* dan *yeast extract* menghasilkan xilanase dengan aktivitas 2 U/mg (Tallapragada dan Kayva, 2011). Hasil penelitian Richana dkk. (2008) dan Habibie dkk. (2014) menunjukkan bahwa aktivitas xilanase optimum dari genus *Bacillus* pada

media dengan sumber nitrogen ekstrak khamir, polipepton, dan tripton adalah masing-masing sebesar 177,57 U/mL dan 3,95 U/mL. Berbeda dengan hasil penelitian tersebut Sharma dkk., 2015 menunjukkan aktivitas *Bacillus lpuarvinder strain lpu002* pada media dengan sumber nitrogen NH_4Cl menghasilkan aktivitas xilanase sebesar 30,76 IU/mL. Adapun pada penelitian lain, Guha dkk. (2013), menyatakan bahwa aktivitas xilanase *Bacillus* sp. optimum pada media yang memakai pepton sebagai sumber nitrogennya dan menghasilkan aktivitas enzim sebesar 1,2 U/mL.

c. Berbagai Konsentrasi NH_4Cl

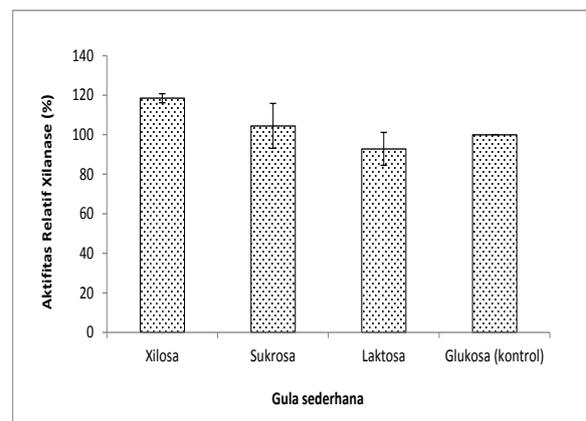
Pada Gambar 5 menunjukkan bahwa NH_4Cl merupakan sumber nitrogen terbaik untuk produksi xilanase. Konsentrasi optimum NH_4Cl untuk menghasilkan aktivitas relatif tertinggi adalah 0,26% dengan aktivitas relatif enzimnya sebesar 119% (Gambar 5). Perlakuan konsentrasi NH_4Cl paling tinggi (0,35%) menyebabkan aktivitas xilanase lebih rendah dibandingkan dengan NH_4Cl 0,26%. Sebaliknya, konsentrasi nitrogen yang terlalu rendah akan memperlambat pertumbuhan mikroorganisme (konsentrasi $\text{NH}_4\text{Cl} < 0,26\%$). Nitrogen dibutuhkan dalam media pertumbuhan mikroorganisme untuk pertumbuhan sel (Zuhri dkk., 2013).



Gambar 5. Pengaruh Konsentrasi Nitrogen terhadap Aktivitas Relatif Xilanase

Percobaan optimasi menunjukkan bahwa konsentrasi NH_4Cl 0,26% merupakan konsentrasi terbaik untuk produksi xilanase, dengan demikian dijadikan acuan untuk uji optimasi media tahapan selanjutnya, yaitu penambahan berbagai gula sederhana. Hasil percobaan dari empat sumber gula diperoleh xilosa sebagai sumber gula

sederhana yang menghasilkan aktivitas xilanase tertinggi (0,2 U/mL) (Gambar 6). Menurut (Menon dkk., 2010) xilosa merupakan induser yang baik untuk meningkatkan produksi xilanase. Pada penelitian lain, yakni Sadhu dkk. (2011), membuktikan bahwa bakteri *Microbacterium* sp. menghasilkan enzim terbaik dengan induser laktosa untuk produksi CMCCase, avicelase, FPase dan β -galaktosidase, dibandingkan dengan gula sederhana yang lain, seperti glukosa, maltosa, sukrosa, glukosa, galaktosa.



Gambar 6. Pengaruh Berbagai Gula Sederhana terhadap Aktivitas Xilanase

KESIMPULAN DAN SARAN

Tongkol jagung merupakan limbah yang paling potensial untuk dijadikan sumber karbon alami xilan pada media untuk kultur *Bacillus* sp. dalam memproduksi xilanase. Komposisi media terbaik untuk produksi xilanase, yaitu media dengan sumber karbon alami xilan dari tongkol jagung dengan konsentrasi 0,25%, sumber nitrogen NH_4Cl 0,26%, 0,0625 gram xilosa sebagai induser, dengan pH media 6, suhu inkubasi 40°C, serta waktu produksi 12 jam. Dalam media produksi tersebut, aktivitas xilanase yang dihasilkan sebesar 0,2 U/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Aiyer, P. V. D., 2004. Effect of C:N Ratio on Alpha Amylase Production by *Bacillus licheniformis* SPT 27. *African Journal of Biotechnology*. 3 (10), 519-522
- Dybkaer, R., 2002. The Tortuous Road to the Adoption of Katal for the Expression of Catalytic Activity by the General Conference on Weights and Measures. *Clinical Chemistry Journal*. 48 (3), 586-590.

- Fitriani, Bahri, S., Nurhaeni, 2013. Produksi Bioetanol Tongkol Jagung (*Zea mays*) dari Hasil Proses Delignifikasi. *Online Jurnal of Natural Science*. 2, (3), 66-74.
- Guha, S., Bhutty, S., Kurana, S. M. P., Kohli, U. K., 2013. Optimization of Cultural Conditions for Production of Thermo-Alkali Tolerant Xylanase from *Bacillus* sp. *International Journal of Research in Pure and Applied Microbiology*. 3 (4), 116-120.
- Habibie, F. M., Agustin K. W., Mochammad, N., 2014. Isolasi dan Identifikasi Molekuler Mikroorganisme Termofilik Penghasil Xilanase dari Lumpur Panas Lapindo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 (4), 231- 238.
- Irfan M., Nadeem M., Syed, Q. A., Baig, S. 2010. Submerge cultivation of *Aspergillus niger* on pretreated sugarcane bagasse. *World Journal of Agricultural Science*, 6(4), 466-472.
- Jalaluddin, Samsul, R. 2005. Pembuatan Pulp dari Jerami Padi dengan Menggunakan Natrium Hidroksida. *Jurnal Sistem Teknik Industri*. 6 (5), 53-56
- Liang, Y. L., Zheng, Z., Min, W., Yuan, W., Jia X. F., 2014. Isolation, Screening, and Identification of Cellulolytic Bacteria from Natural Reserves in the Subtropical Region of China and Optimization of Cellulase Production by *Paenibacillus terrae* ME27-1. *BioMed Research International*. Vol. 2014, 1-13
- Mandels, M., Reese, E.T. 1957. Induction of cellulase in *Trichoderma viride* as influenced by carbon sources and metals. *J Bacteriol*. 73(2): 269–278.
- Menon, G., Kalpana, M., Jitendra, K., Bhavanath, J., 2010. Isolation, Purification, and Characterization of Haloalkaline Xylanase from a Marine *Bacillus pumilus* Strain, GESF-1. *Biotechnology and Bioprocess Engineering Journal*. 998-1005
- Meryandini, A., Wahyu, W., Besty, M., Titi, C.S., Nisa R., Hasrul, S., 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Jurnal Makara, Sains*. 13 (1), 33-38
- Muawanah, A. 2006. “Produksi enzim xilanase termostabil dari *Thermomyces Lanuginosus* IFO 150 pada substrat bagasse tebu”. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian. Bogor
- Miller, G. L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagen for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry Journal*. Vol. 31, No. 3, 426-428.
- Mulyani, N. S. 2010. Penentuan Temperatur dan pH Optimum pada Uji Aktivitas Hasil Isolasi dari *Aspergillus niger* dengan Menggunakan Media Pertumbuhan Sekam Padi. *Prosiding seminar nasional kimia dan pendidikan kimia*. 241-247
- Pangesti, N. W. I., Artini P., Estu R. N., 2012. Pengaruh Penambahan Molase pada Produksi Enzim Xilanase oleh Fungi *Aspergillus niger* dengan Substrat Jerami Padi. *Jurnal Bioteknologi*. Vol. 9, No. 2, 41-48.
- Peter-Albert, C. F., A. A. Ajayi., and F. A. Awosika, 2015. Studies on Xylanase Production by *Aspergillus niger* Tomato Pomace Medium. *African Journal Applied Research (Ajar)*. Vol. 1, No. 1, 286-298.
- Rachmawati, S. 2000. Upaya Pengelolaan Lingkungan Usaha Peternakan Ayam. *wartazoa* vol. 9 no. 2 74-80
- Richana, N., Tun T. I., Anwar N., dan Khaswar S, 2008. Isolasi Identifikasi Bakteri Penghasil Xilanase serta Karakterisasi Enzimnya. *Jurnal Agro Biogen*. Vol.4, No. 1, 24-34.
- Richana, N., Irawadi, T.T., Nur, M. A., Sailah, I., Syamsu, K., Arkenan, Y., 2007. Ekstraksi Xilan dari Tongkol Jagung. *Jurnal Pascapanen*., 4 (1), 38-43
- Sadhu, S., Pradipta, S., Shamnugam, M., . Tushar, K. M, 2011. Lactose-Enhanced Cellulase Production by *Microbacterium* sp. Isolated from Fecal Matter of Zebra (*Equus zebra*). *Curr Microbiol Journal*. 1050-1055.
- Sarkar, N., Kaustav, A., 2012. Cellulase and Xylanase Production from Rice Straw by a Locally Isolated Fungus *Aspergillus fumigatus* NITDGPKA3 under Solid State Fermentation – Statistical Optimization by Response Surface Methodology. *Journal of Technology Innovations in Renewable Energy*. Vol. 1, No.1, 54-62.
- Septiningrum, K., Chandra A. P, 2011. Produksi Xilanase dari Tongkol Jagung dengan Sistem Bioproses Menggunakan *Bacillus circulans* untuk Pra-Pemutihan Pulp. *Jurnal Riset Industri*. Vol. V, No. 1, 87-97
- Sharma, N. R., Arvinder, K., Chirag, C., Anshul, J, 2015. Bioprocessing, Biochemical Characterisation and Optimization of Solid State Fermentation of A New Thermostable Xylanase Producing Strain Belonging to *Bacillus* Genus. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. , 7 (1), 266-276
- Sinaga, R. E, 2013, “Karakterisasi Enzim Selulase Dan Aplikasinya Pada Substrat Limbah Pertanian”, *tesis*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Susilowati, P.E., Raharjo, S., Kurniawati, D., Rahim, R., Sumarlin, Ardiansyah, 2012. Produksi Xilanase dari Isolat Sumber Air Panas Sonai, Sulawesi Tenggara, Menggunakan Limbah Pertanian. *Jurnal Natur Indonesia*. 14 (3), 199-204

- Tallapragada, P., Kayva, V., 2011. Isolation, Identification and Optimization of Xylanase Enzyme Produced by *Aspergillus niger* Under Submerged Fermentation. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 1 (4), 137-147
- Wibowo, S.G. 2014. "Optimasi Produksi Xilanase dari *Bacillus haloduranscm1* dengan Metode Permukaan Respon". *Tesis*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian. Bogor
- Yaşınok, A. E., Feride I. Ş., Mehmet, H, 2008. Isolation Of Endopyhtic And Xylanolytic *Bacillus Pumilus* Strains From *Zea Mays*. *Tarim Bilimleri Dergisi Journal*. 14 (4), 374-380.
- Zuhri, R., Anthoni, A., Yetria, R, 2013. Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen Terhadap Produksi Protease Alkali dari *Bacillus* sp. $M_{1,2,3}$ Termofilik. *Jurnal Biologika*. 2 (1), 40-46.