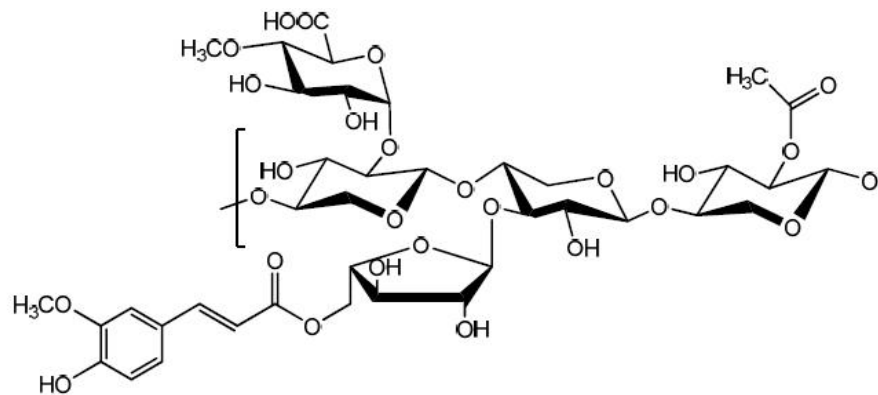


II. TINJAUAN PUSTAKA

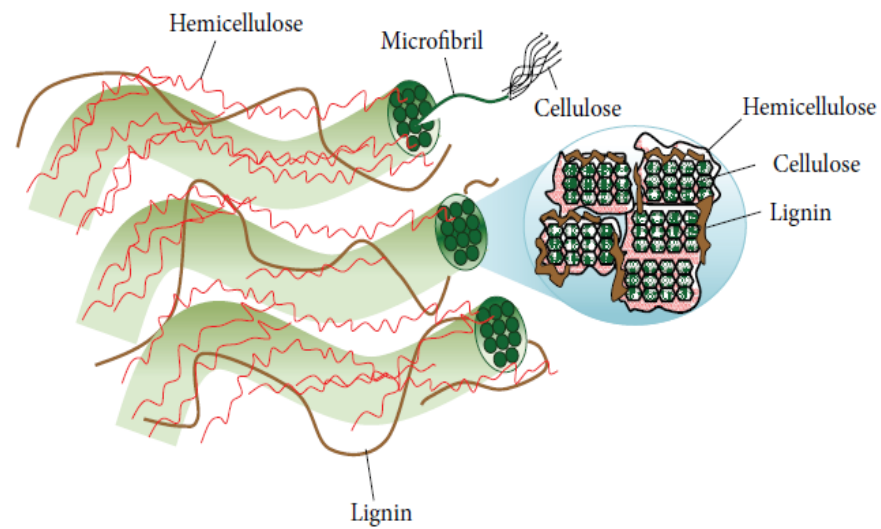
2.1. Xilan

Xilan atau disebut juga hemiselulosa merupakan karbohidrat yang penyebarannya di alam sangat luas (Schlegel, 1994). Sebagai polisakarida kompleks, rangka dasar xilan terdiri dari residu xilosa yang terikat dengan ikatan β -1,4-glikosidik. Monomer utama pada sebagian besar xilan yaitu D-xilosa, D-manosa, D-galaktosa, dan L-arabinosa (Beg dkk., 2001). Xilan memiliki derajat polimerisasi yang rendah (Schlegel, 1994).

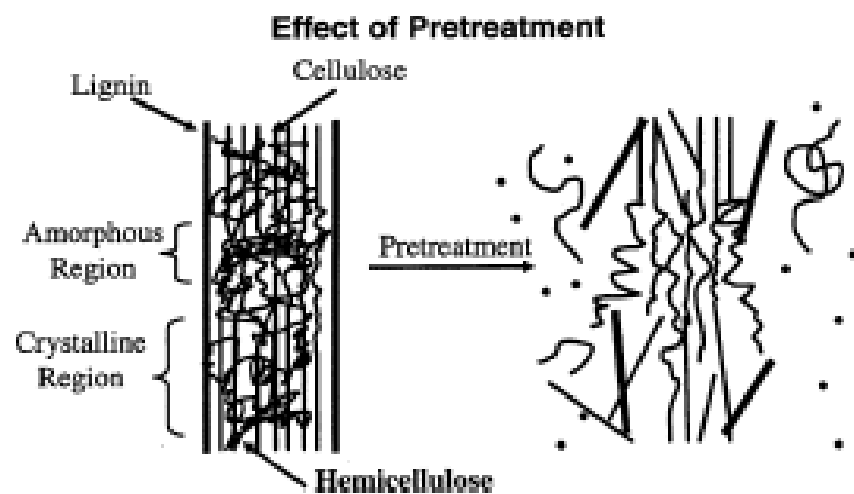


Gambar 1. Struktur xilan (Guo dkk., 2011)

Pada tumbuhan, xilan merupakan salah satu penyusun utama dinding sel tanaman dikotil dan semua dinding sel keluarga rumput-rumputan seperti jerami padi, tongkol jagung, dan rumput (Faik, 2010). Di dalam dinding sel, xilan berada diantara lignin dan kumpulan serat selulosa. Kandungan xilan dapat mencapai sekitar 30%–35% dari total berat kering (Beg dkk., 2001).



Gambar 2. Struktur Dinding Sel Tanaman (Lee dkk., 2014)



Gambar 3. Efek *Pretreatment* Pada Lignoselulosa (Mosier dkk., 2005)

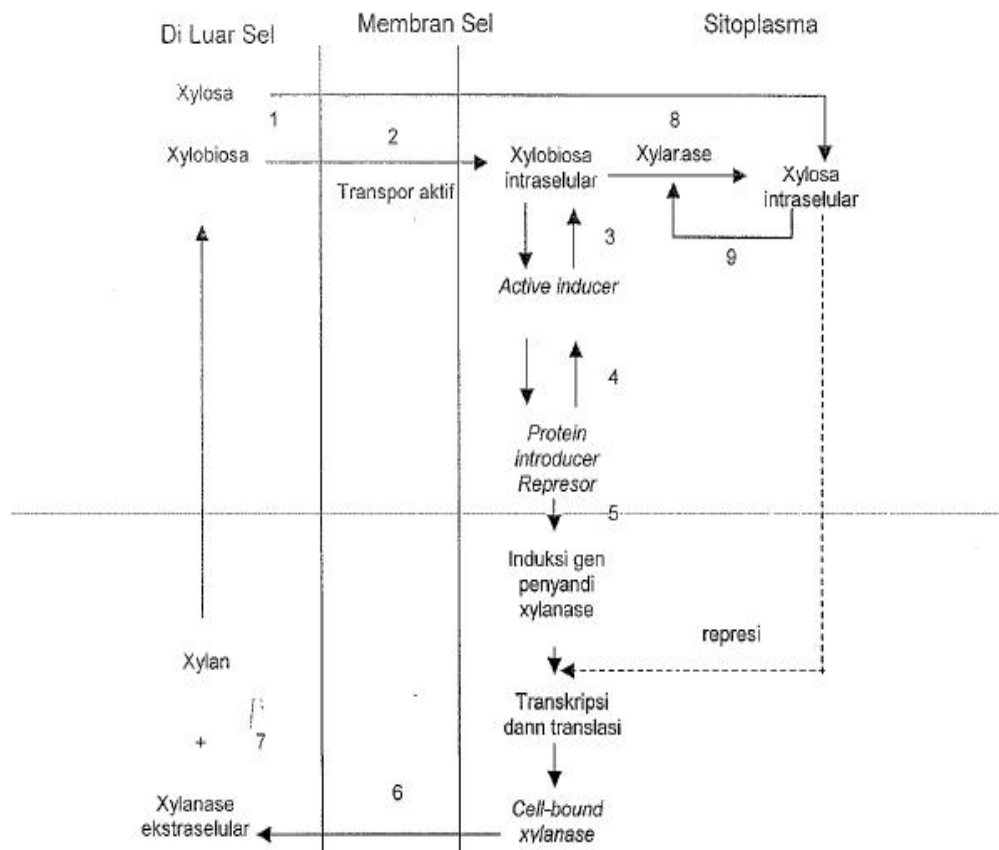
Xilan mempunyai peran penting dalam produk makanan. Xilan mempengaruhi kualitas tepung untuk pembuatan roti dan adonan. Xilan juga berperan dalam pembuatan bir. *Xyl* adalah unsur pokok dari xilan yang dapat dikonversi menjadi produk yang bernilai seperti *xylitol*. Xylitol digunakan sebagai pemanis alami makanan, bahan untuk mengurangi

lubang gigi, dan pengganti gula pada penderita diabetes. Dalam industri peternakan, xilan merupakan faktor penting pada pakan ternak agar mudah dicerna (Faik, 2010).

2.2. Enzim Xilanase

Selama pertumbuhannya, beberapa mikroba menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler untuk merombak komponen kayu seperti lignin, selulosa dan xilan (Al-Hakim, 2001). Jika dibandingkan dengan selulosa, xilan bersifat lebih cepat di uraikan mikroorganisme (Schlegel, 1994). Sebagian besar molekul enzim berupa protein, meskipun ada yang berupa RNA atau yang lebih dikenal dengan ribozim (Saha, 2001). Enzim adalah protein yang berperan sebagai katalis untuk proses biokimia di dalam sel maupun di luar sel. Suatu reaksi dapat dipercepat 10^8 - 10^{11} kali dengan enzim dibandingkan tanpa enzim (Poedjiadi, 1994).

Enzim menjadi perhatian para peneliti di seluruh dunia, tidak hanya komunitas biologi, namun juga para ahli rekayasa genetika, teknik kimia, dan peneliti di bidang eksak. Sejak dahulu, enzim memiliki peranan penting pada sebagian besar proses produksi, seperti produksi minuman anggur, keju, roti, dan yang lainnya (Beg dkk., 2001). Proses produksi dalam industri membutuhkan enzim yang stabil pada suhu tinggi untuk memudahkan proses pencampuran, pelarutan substrat, percepatan reaksi, dan pencegahan kontaminasi (Susilowati dkk., 2012). Dugaan model regulasi biosintesis xilanase dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Dugaan model regulasi biosintesis xilanase (Al-Hakim, 2001)

Keterangan gambar:

1. Xilobiosa dan xilosa merupakan produk akhir dari proses hidrolisis enzim xilanase.
2. Transpor aktif xilobiosa melewati membran sel, dicapai dengan pengembangan suatu sistem transpor enzim yang adaptif. Xilanase akan terikat pada membran dan menghidrolisis sebagian xilobiosa menjadi xilosa.
3. Xilobiosa yang berada dalam sel menjadi penginduksi yang aktif dan bereaksi dengan protein represor, mengakibatkan represor inaktif, sehingga induksi terjadi. Xilobiosa juga dapat dihidrolisis oleh xilanase

intraseluler menjadi xilosa. Akumulasi xilosa dapat menyebabkan terjadinya represi sintesis xilanase.

4. Afinitas senyawa penginduksi (*active inducer*) terhadap protein represor ditentukan oleh efisiensi induksi.
5. Induksi sintesis xilanase terjadi jika protein represor telah dinaktifkan oleh senyawa penginduksi yang diikuti oleh terjadinya transkripsi dan translasi. Jumlah eksoxilanase dan endoxilanase dikontrol oleh aktivitas translasi.
6. Xilanase yang baru disintesis sebagai respon induksi terikat di dalam membran. Pelepasan xilanase diatur oleh mekanisme pengeluaran yang spesifik.
7. Xilanase ekstraseluler menghidrolisis xilan menjadi xilosa dan xilobiosa. Jumlah xilanase ekstraseluler yang dikeluarkan mempengaruhi jumlah xilosa dan xilobiosa yang diproduksi.
8. Enzim xilanase intraseluler menghidrolisis sebagian xilobiosa intraseluler menjadi xilosa.
9. Xilosa intraseluler dalam jumlah tinggi di dalam sel dapat menghambat aktivitas enzim xilanase intraseluler.

Enzim xilanase dikelompokkan menjadi β -xilosidase, eksoxilanase, dan endoxilanase. Enzim xilanase aktif pada suhu 55⁰C dan pH 9 (Al-Hakim, 2001). Sejumlah xilanase telah dimurnikan dari mikroorganisme seperti *Bacillus* sp., *Clostridium* sp., *Streptomyces* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. dan *Trichoderma* sp. (Saha, 2001).

Tabel 1. Berbagai Produksi Enzim Xilanase dari Berbagai Penelitian

No	Mikroba	Kondisi Optimum	Sumber Karbon	Sumber Nitrogen	Aktivitas Enzim	Pustaka
1	<i>Pseudomonas</i> sp.	pH: 9 Suhu: 50°C	Sekam padi	Pepton, <i>yeast extract</i>	0,3 U/mL	Susilowati, (2012)
2	<i>Trichoderma viride</i>	pH: 3,5-4 Suhu: 25°C	Batang jagung	NaNO ₃	6250 IUL ⁻¹	Goyal dkk., (2008)
3	<i>Bacillus circulans</i>	pH: 8,5 Suhu: 50°C	Tongkol jagung	Pepton, ekstrak ragi	11,01 U/mL	Septiningrum dan Candra, (2011)
4	<i>Acinetobacter baumannii</i>	pH: 8 Suhu: 70°C	<i>Xylan beechwood</i>	Ekstrak khamir, polipepton	5,17 U/ml	Fawzya dkk., (2013)
5	<i>Aspergillus niger</i>	pH: 5,8 Suhu: 39°C	Sekam padi	(NH ₄) ₂ SO ₄	34,48 U/mg	Mulyani, (2010)
6	<i>Aspergillus niger</i>	pH: 4,5 Suhu: 40°C	<i>Oalt spelt xylan</i>	(NH ₄) ₂ SO ₄	11829,16 U/mg protein	Mulyani dkk., (2009)
7	<i>Streptomyces</i> sp. SKK1-8	pH: 4,5 Suhu: 50°C	<i>Birchwood xylan</i>	Ekstrak khamir	0,10 U/ml	Meryandini dkk., (2008)
8	<i>Bacillus</i> sp.	pH: 7 Suhu: 40°C	Bagas tebu	<i>yeast extract, beef extract, peptone</i>	1,2 U/ml	Guha dkk., (2013)
9	<i>Streptomyces</i> sp.	pH: 6,5 Suhu: 60°C	<i>Oalt spelt xylan</i>	<i>Tomato pomace</i>	1447 U/ml	Rawashdeh dkk., (2005)
10	<i>Aspergillus terreus</i> SUK-1	pH: 6,5 Suhu: 30°C	<i>Xylan</i>	(NH ₄) ₂ SO ₄	78,65 U/ml	Ali dkk., (2014)

11	<i>Aspergillus niger</i>	pH: 3,5 Suhu: 40°C	<i>Oalt spelt xylan</i>	<i>Tomato pomace</i>	2 U/mg	Peter-Albert dkk., (2015)
12	<i>Bacillus subtilis</i> 276NS	pH: 8 Suhu: 35°C	<i>Xylan</i>	(NH ₄) ₂ SO ₄	360 U/ml	Ali dkk., (2013)
13	<i>Bacillus lpuarvinder</i> strain lpu002	pH: 8,5 Suhu: 60°C	Jerami gandum	Nitrogen organik: <i>yeast extract</i> Nitrogen anorganik: NH ₄ Cl	30,76 IU/ml	Sharma dkk., (2015)
14	<i>Aspergillus niger</i>	pH: 8 Suhu: 28°C	<i>Xylan</i>	<i>Yeast extract</i>	5,79 U/ml	Tallapragada, (2011)
15	<i>Bacillus</i> sp.	pH: 9 Suhu: 50°C	Xilan tongkol jagung	Ekstrak khamir, polipepton	177,57 U/ml	Richana dkk., (2008)
16	<i>Bacillus</i> <i>licheniformis</i>	pH: 7 Suhu: 50°C	<i>Beechwood</i> <i>xylan</i>	Ekstrak khamir, Tripton	3,95 U/ml	Habibie dkk., (2014)
17	<i>Trichoderma</i> sp.	pH: 5 Suhu: 30°C	Bagas tebu	<i>Yeast extract</i>	9,28 U/ml	Mahamud and Gomes, (2012)

2.3. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim

Penyediaan kondisi fisik yang memungkinkan pertumbuhan optimum dalam kultur bakteri sangat diperlukan. Selain bervariasi dalam persyaratan nutrisi, bakteri juga menunjukkan respon yang berbeda terhadap kondisi fisik di lingkungannya. Kombinasi nutrisi dan lingkungan fisik yang sesuai menunjang keberhasilan kultur berbagai tipe bakteri (Pelczar dan Chan, 1986).

2.3.1. Suhu

Setiap spesies bakteri memiliki suhu optimum untuk pertumbuhannya (Pelczar dan Chan, 1986). Umumnya bakteri tumbuh baik pada suhu di atas 35⁰C. Pada suhu minimum, pertumbuhan bakteri lebih lambat, dan pada suhu maksimum pertumbuhan bakteri mendekati optimum. Di atas suhu maksimum pertumbuhan bakteri menurun dengan cepat. Sampai pada suhu tertentu, peningkatan suhu meningkatkan aktivitas enzim. Namun pada suhu yang terlalu tinggi, enzim mengalami denaturasi dan kemudian sel akan mati (Lay dan Hastowo, 1992). Xilanase yang dihasilkan *Bacillus* sp. memiliki suhu optimum. Kondisi suhu optimum ini dibutuhkan xilanase untuk membentuk kompleks enzim-substrat pada semua sisi aktif enzim (Richana dkk., 2008).

2.3.2. Kemasaman atau Kebasaan (pH)

Sebagian besar spesies bakteri memiliki pH optimum pertumbuhan antara 6,5 dan 7,5. Namun ada pula beberapa bakteri yang dapat tumbuh dan hidup dalam keadaan yang sangat masam atau sangat alkalin. Senyawa-senyawa asam dan basa yang dihasilkan akan merubah pH medium yang digunakan selama pertumbuhan bakteri. Larutan penyangga dalam medium digunakan untuk mencegah perubahan pH tersebut. Larutan penyangga ialah senyawa atau pasangan senyawa yang dapat menahan perubahan pH (Pelczar dan Chan, 1986). Pada umumnya bakteri tumbuh pada pH sekitar 7, meskipun kisaran pH nya adalah 5-8 (Lay dan Hastowo, 1992).

2.4. Gula Sederhana

Gula-gula sederhana dapat menginduksi peningkatan aktivitas enzim. Sukrosa merupakan disakarida yang tersusun atas fruktosa dan glukosa yang dihasilkan oleh tumbuhan. Rumus kimia sukrosa yaitu $C_{12}H_{22}O_{11}$. Sukrosa banyak diaplikasikan pada industri pangan karena menambah cita rasa, mengawetkan makanan, dan sebagai sumber energi bagi bakteri. Penambahan sukrosa diketahui dapat meningkatkan aktivitas enzim yang dihasilkan (Misrianti, 2013).

Laktosa adalah karbohidrat utama dalam susu hewani. Hasil penelitian (Sadhu dkk., 2011) menunjukkan bahwa laktosa yang dicampur dalam medium pertumbuhan bakteri, secara cepat meningkatkan produksi enzim dengan mensekresikan berbagai macam protein yang bersinergi positif

terhadap aktivitas enzim. Glukosa mempengaruhi aktivitas bakteri. Glukosa merupakan gula sederhana yang mudah dicerna sehingga dapat digunakan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan bakteri (Kunaepah, 2008). Gula sederhana lainnya yang juga digunakan sebagai sumber karbon dalam media kultur bakteri adalah xilosa. Xilosa merupakan gula kayu yang dihidrolisis dari hemiselulosa. Rumus molekulnya yaitu $C_5H_{10}O_5$ dan memiliki berat molekul 150 g mol^{-1} . Xilosa biasanya dimanfaatkan untuk pembuatan xilitol (Putri, 2008).

2.5. Limbah Pertanian

Perkembangan dan kemajuan di bidang pertanian di Indonesia diikuti dengan peningkatan limbah pertanian. Sebagian besar limbah pertanian mengandung lignoselulosa, diantaranya xilan yang bisa dimanfaatkan menjadi gula xilosa (Putri, 2008). Xilan dapat dimanfaatkan oleh bakteri xilanolitik sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Bakteri xilanolitik memproduksi enzim xilanase ekstraseluler untuk mendegradasi xilan yang terdapat dalam substrat limbah pertanian (Susilowati dkk., 2012).

2.5.1. Sekam Padi

Indonesia memiliki lahan pertanian padi seluas 476.436 ha dengan produksi padi mencapai 1.800 ton/tahun. Proses penggilingan padi menghasilkan 20% sekam padi (Suka, 2008 dan Soeswanto dan Lintang, 2011). Sekam padi merupakan salah satu jenis limbah pertanian yang pemanfaatannya belum optimal. Umumnya sekam

padi hanya dimanfaatkan untuk membakar batu bata (Sugiarti dan Widyatama, 2009). Selain itu sekam padi biasanya hanya ditumpuk dan dibakar di dekat penggilingan padi, abu yang dihasilkan dimanfaatkan sebagai bahan penggosok alat rumah tangga (Hindryawati dan Alimuddin, 2010).

Kandungan xilan pada sekam padi (18,03%) dapat digunakan sebagai sumber karbon yang baik dalam media fermentasi padat untuk menghasilkan enzim xilanase (Hindryawati dan Alimuddin, 2010 dan Fitriani dkk., 2013). Sekam padi sangat potensial sebagai media pertumbuhan bakteri dan produksi enzim karena mengandung mineral, protein, dan serat kasar cukup tinggi (Susilowati dkk., 2012).

2.5.2. Tongkol Jagung

Jagung (*Zea mays*) merupakan tanaman pangan penting di Indonesia. Pada tahun 2006, luas panen jagung mencapai 3,5 juta hektar dengan produksi jagung rata-rata 3,47 ton/ha, dan produksi jagung nasional mencapai 11,7 juta ton. Selain kebutuhan pangan, jagung juga digunakan sebagai pakan dan bahan industri. Kebutuhan jagung semakin hari semakin meningkat. Peningkatan konsumsi jagung berarti meningkatkan pula limbah tongkol jagung yang dihasilkan. Dari total berat jagung bertongkol, 40-50% nya merupakan tongkol jagung, tergantung varietasnya (Richana dkk., 2007). Tongkol jagung sebagai bagian dari contoh limbah pertanian memiliki

penyusun utama dinding sel berupa lignin, selulosa dan hemiselulosa. Kandungan xilan pada tongkol jagung mencapai 25% (Fitriani dkk., 2013). Umumnya bonggol jagung dibakar atau langsung dibuang sehingga menjadi salah satu sumber sampah yang mencemari lingkungan (Ilmi dan Kuswytasari, 2013).

Saat ini lebih banyak studi yang membahas tentang pemanfaatan limbah lignoselulosa secara efektif (Ilmi dan Kuswytasari, 2013). Xilan pada serat jagung merupakan salah satu heteroxilan kompleks yang tersusun atas β -(1,4)-residu dan terikat dengan xilosa. Rangka xilan terikat kuat pada sisi rantai monomer arabinosa atau asam glukoronik yang berikatan dengan O-2 dan atau O-3 residu xilosa, dan juga sisi rantai oligomerik yang terdiri atas arabinosa, xilosa dan terkadang residu galaktosa. Xilan serat jagung memiliki resistensi yang tinggi terhadap degradasi enzimatik dan pengolahan komersial. Saha (2001) mengisolasi mikroba dari berbagai ladang jagung. Tiga kultur mikroba diketahui menggunakan xilan serat jagung sebagai substrat pertumbuhan.

2.5.3. Bagas Tebu

Menurut data FAO (*Food and Agricultural Organization*) tahun 2006, produksi tebu di Indonesia menduduki peringkat ke-11 dengan produksi per tahun mencapai 25.500.00 juta ton, sekitar 35% dari produksi tebu berupa bagas tebu (Purnawan dkk., 2012). Bagas tebu merupakan produk limbah dari proses ekstraksi gula. Bagas tebu

mengandung xilan 35% yang dapat digunakan sebagai sumber karbon pada medium fermentasi untuk penghasil enzim ekstraseluler, yaitu produksi xilanase. Bagas tebu yang dihasilkan tumbuhan sudah dimanfaatkan untuk produksi energi.

Penggabungan sumber karbon yang murah seperti bagas tebu pada media untuk memproduksi enzim xilanase berkontribusi dalam menurunkan biaya produksi enzim kompleks. Enzim xilanase dapat menghidrolisis lignoselulosa menjadi produk gula fermentasi dan efisiensi biaya produksi bioetanol (Camassola and Dillon, 2014) dan (Fitriani dkk., 2013).

2.6. *Bacillus* sp.

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik. Bentuk bakteri beragam, seperti batang, bola, elips atau spiral. Sel bakteri yang berbentuk batang dinamakan *basilus*. Ujung beberapa basilus tampak persegi, meruncing seperti ujung cerutu, dan bundar. Basilus yang melekat pada bagian ujung dengan ujung memberikan penampilan seperti rantai (Pelczar dan Chan, 1986). Hasil identifikasi bakteri dari sampel tanah yang dilakukan oleh (Bhakyaraj, 2014) menunjukkan karakteristik bakteri *Bacillus* sp yaitu berkoloni, berbentuk batang, tumbuh pada suhu 30°C, dan optimum pada pH 5-9.

Bacillus merupakan bakteri gram positif, membentuk endospora, aerob obligat dan anaerob fakultatif (Nester dkk., 2009). Hasil penelitian

(Puspitasari dkk., 2012) menunjukkan isolat 3 merupakan *Bacillus* karena bersifat motil, katalase positif, kebutuhan O₂ positif, sel bakteri membentuk endospora yang dapat bertahan pada keadaan yang tidak menguntungkan seperti kekurangan nutrisi, kekeringan, pembekuan, serta bahan-bahan kimia. *Bacillus cereus* berbentuk ireguler, permukaan koloni kasar, datar dan agak mengkilap (Salaki, 2011).