

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Penyiapan Tepung Xilan Alami

Bagas tebu, sekam padi dan tongkol jagung merupakan limbah pertanian yang memiliki kandungan xilan yang potensial untuk dijadikan media pertumbuhan mikroorganisme xilanolitik. Xilan sendiri terikat dengan selulosa dan lignin yang terdapat pada dinding sel tumbuhan. Oleh karena itu, perlu proses delignifikasi dan pemisahan dengan komponen selulosa. Berdasarkan hasil dari ekstraksi xilan yang telah dilakukan merujuk pada penelitian (Richana dkk., 2007) diperoleh data sebagai berikut.

Tabel 2. Perbandingan Hasil Rendemen Limbah Pertanian

No	Bahan Limbah	Berat Awal (g)	Berat Akhir(g)	Persentase (%)
1	Bagas Tebu	60	14,46	24,1
2	Sekam Padi	20	1,24	6,2
3	Tongkol Jagung	45	12,01	26,69

Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperluas bidang permukaan yang menyebabkan kemungkinan kontak antara substrat dan enzim semakin tinggi, sehingga proses hidrolisis dapat berlangsung dengan lebih cepat (Pangesti dkk., 2012). Hasil hidrolisis xilan dalam bentuk halus memiliki kadar xilosa lebih tinggi dibandingkan xilan yang masih kasar (Putri, 2008). Hasil ekstraksi xilan tertinggi diperoleh dari tongkol jagung yaitu 26,69 %

(Tabel 1). Xilan yang diperoleh tersebut dalam bentuk serbuk namun kandungan airnya masih tinggi dan xilan ini disebut tepung xilan berat basah. Berat kering tepung xilan dapat diketahui dengan mengeringkan sampel di dalam oven. Berat kering yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan berat basah. Perbandingan berat basah dan berat kering tepung xilan dari tongkol jagung yaitu 0,14 gr : 0,08 gr (1,75 : 1). Sedangkan untuk tepung xilan dari bagas tebu dan sekam padi sebelum dan sesudah di oven beratnya relatif sama.



Gambar 6. Tepung Xilan Hasil Delignifikasi dan Pemisahan Selulosa

4.2. Uji Xilanolitik dan Produksi Enzim Xilanase

Bacillus sp. yang diisolasi dari saluran pencernaan ayam kampung telah diuji daya xilanolitiknya dan terbukti dapat menghasilkan enzim xilanase dengan terbentuknya zona jernih pada media Mendels yang dimodifikasi (Lampiran 1).

Dalam penelitian ini, suhu inkubasi yang digunakan yaitu 40°C selama 30 menit. Produksi enzim sangat dipengaruhi suhu, waktu inkubasi dan pH media produksinya (Sarkar and Aikat, 2012). Aktivitas enzim xilanase yang dihasilkan dari *Bacillus pumilus* optimum pada suhu 40°C dengan rentang

30°C- 60°C (Menon dkk., 2010). Hasil yang sama juga diperoleh dari hasil penelitian Guha dkk. (2013) menunjukkan bahwa suhu optimum *Bacillus* sp. dalam memproduksi enzim xilanase yaitu 40°C dengan aktivitas enzimnya 1 U mL⁻¹. Kecepatan reaksi meningkat seiring dengan peningkatan suhu media sampai tercapai suhu optimum. Peningkatan kecepatan reaksi ini merupakan hasil peningkatan energi kinetik yang menyebabkan pemacuan gerak vibrasi, translasi dan rotasi substrat maupun enzim sehingga meningkatkan peluang bereaksinya enzim dan substrat (Meryandini dkk., 2009).

Aktivitas enzim terhenti pada suhu di atas 40°C dan pada suhu di bawah 30°C tidak ada aktivitas enzim. Pada suhu di atas 40°C enzim terdenaturasi karena suhu yang tinggi menyebabkan perubahan konformasi protein sehingga sisi aktif enzim akan terhambat. Energi aktivasi diperlukan untuk memberikan media yang sesuai bagi enzim dan substrat. Energi aktivasi menurun ketika suhu rendah dan menyebabkan tidak ada aktivitas enzim (Sinaga, 2013).

Kondisi lain yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme yaitu kestabilan pH. Jika keasaman media di bawah atau di atas pH optimum maka enzim akan mengalami denaturasi sehingga sisi aktif enzim tidak dapat bereaksi dengan substrat (Susilowati dkk., 2012). *Buffer* digunakan untuk menjaga kestabilan pH sehingga proses metabolisme tidak terhenti dengan adanya enzim yang terdenaturasi (Pangesti dkk., 2012). *Buffer* yang digunakan yaitu buffer sitrat dengan pH 6. Isolasi mikroba penghasil

xilanase dengan media dari limbah jagung stabil pada pH 5-7,5 (Richana dkk., 2008). Penelitian Menon dkk. (2010) menunjukkan *strain Bacillus pumilus* GESF-1 memiliki pH dan suhu optimum masing-masing 6 dan 40°C dengan V_{max} 0,42 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$.

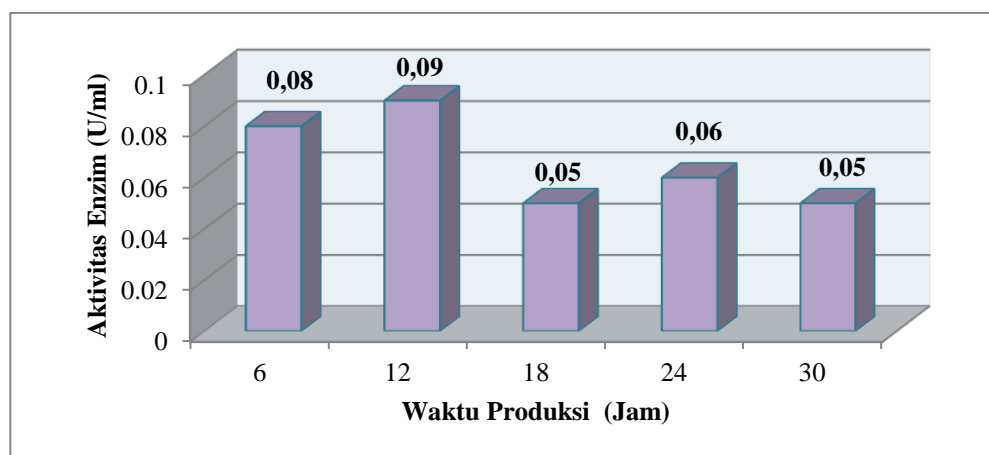
Enzim xilanase merupakan enzim ekstraseluler sehingga untuk mendapatkannya harus disentrifugasi. Prinsip kerja sentrifugasi berdasarkan berat molekul yaitu berat molekul yang lebih besar akan membentuk endapan pada bagian bawah. Endapan merupakan sisa komponen-komponen media dan sel *Bacillus* sp., sedangkan bagian jernih merupakan supernatan atau cairan yang mengandung enzim xilanase (Mulyani, 2010). Selanjutnya supernatan digunakan untuk media uji selanjutnya.

4.3. Penentuan Waktu Produksi Optimum

Media yang digunakan untuk menentukan waktu produksi optimum yaitu media Mendels yang dimodifikasi yang terdiri dari *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%, dengan suhu inkubasi 40°C dan pH 6. Tujuan dari penentuan waktu produksi optimum adalah untuk mengetahui waktu produksi *Bacillus* sp. yang paling baik dalam menghasilkan enzim xilanase. Pengujian untuk menentukan waktu produksi optimum dilakukan pada beberapa lama waktu produksi (0, 6, 12, 18, 24 dan 30 jam). Semua media uji dibuat duplo, dengan masing-masing 3 tabung uji dan 2 tabung kontrol. Aktivitas enzim xilanase diuji dengan metode DNS. Metode DNS

digunakan karena β -D-xilosa yang memiliki gugus aldehid akan mengalami oksidasi dan DNS mengalami reduksi menjadi 3-amino, 5-nitrosalicylic sehingga menghasilkan warna *orange* kekuningan (Mulyani, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh waktu produksi optimum enzim xilanase adalah 12 jam. Pada waktu produksi 12 jam diperoleh aktivitas enzim xilanase tertinggi dibandingkan waktu produksi lain yang diuji (Gambar 7).



Gambar 7. Pengaruh Waktu Produksi Terhadap Produksi Enzim Xilanase. Kultur dilakukan pada Media Mendels yang dimodifikasi (*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%).

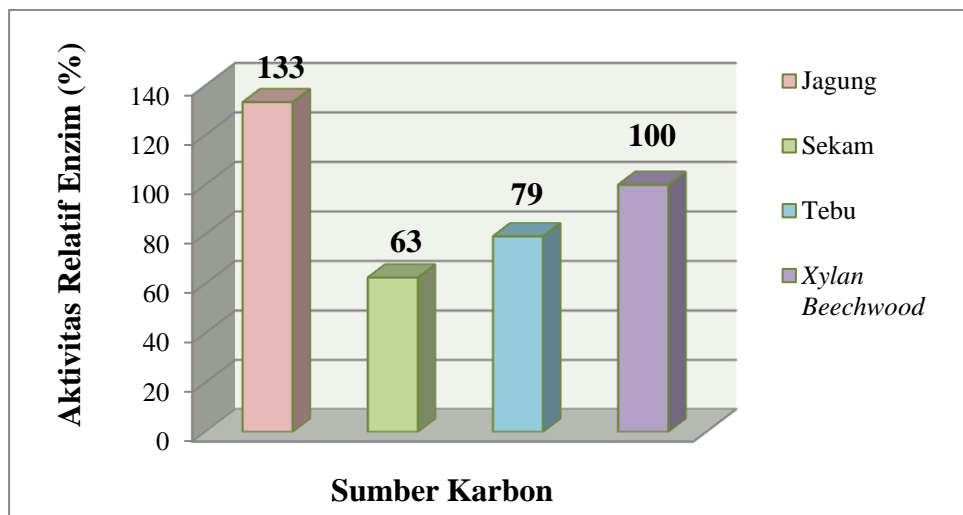
Pertumbuhan mikroorganisme memiliki beberapa fase yaitu fase *lag* (fase pertumbuhan lambat/adaptasi), fase eksponensial (fase pertumbuhan cepat) dan fase kematian (Al-Hakim, 2001). Berdasarkan penelitian ini, setelah 12 jam waktu produksi *Bacillus* sp. memasuki fase eksponensial dan memanfaatkan sumber nutrisi yang sangat tinggi dalam media. Setelah sumber nutrisi habis, bakteri memasuki fase kematian yang ditunjukkan dengan menurunnya jumlah sel bakteri. Hasil ini sesuai dengan penelitian

Sinaga (2013) yang menunjukkan pertambahan sel meningkat mulai jam ke-6 sampai jam ke-24. Turbiditas sel mulai terlihat menurun pada jam ke-30.

4.4. Produksi Enzim Xilanase pada Berbagai Sumber Karbon Alami

Xilanase merupakan enzim yang dihasilkan dari mikroorganisme seperti bakteri dan fungi dengan media yang mengandung xilan. Xilanase akan merombak xilan yang ada menjadi gula sederhana. Xilan merupakan sumber karbon yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri.

Media yang digunakan untuk produksi enzim xilanase yaitu media Mendels yang dimodifikasi yang mengandung: *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%), suhu inkubasi 40°C dan pH 6. Keunggulan medium cair salah satunya yaitu memudahkan dalam pengambilan ekstrak kasar enzim yang diukur menggunakan spektrofotometer. Keuntungan lainnya yaitu komposisi dan konsentrasi medium mudah diatur sesuai dengan tujuan penelitian. Selain itu, kandungan oksigen, pH dan nutrisi dapat tersebar secara merata dengan adanya proses agitasi. *Shaker incubator* dengan kecepatan 50-70 rpm digunakan dalam proses fermentasi dengan tujuan untuk memudahkan proses difusi oksigen ke dalam medium sehingga kontak antara inokulum dan media semakin banyak dan homogen. Oksigen yang terlarut dalam medium akan cukup mendukung pertumbuhan sel secara aerobik (Pangesti dkk., 2012).



Gambar 8. Pengaruh Berbagai Sumber Karbon Alami Terhadap Produksi Enzim Xilanase. *Xylan Beechwood* Sebagai Kontrol Positif. Kultur dilakukan pada Media Mendels yang dimodifikasi (*Xylan Beechwood* 0,5%; *Yeast Extract* 0,35%; *Triptofan* 0,35%; *NaCl* 0,2%; *KH₂PO₄* 0,245%; *MgSO₄* 0,035%; *(NH₄)₂SO₄* 0,175%).

Tujuan dari uji sumber karbon adalah untuk mengetahui sumber karbon yang terbaik untuk *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim xilanase.

Sumber karbon yang diteliti yaitu *xylan beechwood* sebagai kontrol positif, tepung xilan tebu 0,5%, tepung xilan sekam padi 0,5%, dan tepung xilan jagung 0,5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 0,5% tepung xilan tongkol jagung menghasilkan aktivitas relatif enzim tertinggi sebesar 133% (Gambar 8).

Berdasarkan analisis kualitatif dan kuantitatif yang dilakukan Richana dkk. (2007) menunjukkan bahwa ekstrak xilan tongkol jagung diduga hampir murni yaitu 97,47% dengan hasil kromatogram ekstrak xilan tongkol jagung memiliki waktu retensi tidak jauh berbeda dengan waktu retensi standar *oalt spelt xylan* (2,59 menit dan 2,57 menit). Ekstrak xilan dari tongkol jagung dapat dijadikan sumber karbon alternatif yang potensial untuk pertumbuhan

mikroorganisme xilanolitik dengan produksi enzimnya sebesar 1,1 U/ml (Yaşınok dkk., 2008). Hasil penelitian yang sama juga menunjukkan bahwa xilanase dapat diproduksi dari xilan tongkol jagung dengan menggunakan bakteri *Bacillus circulans* menghasilkan aktivitas enzim xilanase sebesar 11,07 U/mL (Septiningrum dan Chandra, 2011).

Pada media yang menggunakan sumber karbon dari tepung xilan yang berasal dari sekam padi menghasilkan aktivitas relatif enzim terendah. Diduga hal ini berhubungan dengan kadar xilan sekam padi yang paling sedikit yaitu 18,03% dibandingkan dengan kadar xilan tongkol jagung dan bagas tebu yaitu 25% dan 35% (Fitriani dkk., 2013 dan Jalaluddin dkk., 2005). Selain itu, salah satu faktor rendahnya aktivitas relatif enzim pada media sekam padi yaitu suhu inkubasi 40°C yang digunakan kurang optimum. Hasil penelitian Susilowati dkk. (2012) menunjukkan bahwa bakteri dapat memproduksi aktivitas enzim xilanase yang tinggi sebesar 0,3 U/mL pada media sekam padidengan suhu inkubasi 50°C.

Aktivitas relatif enzim pada media *xylan beechwood* lebih rendah dibandingkan xilan tongkol jagung. Ukuran tepung xilan dari tongkol jagung lebih halus dibandingkan *xylan beechwood* sehingga diduga tepung xilan tongkol jagung dapat lebih cepat tercampur dan mudah larut dalam medium cair. Sedangkan tepung xilan dari bagas tebu, meskipun kandungan xilannya 10% lebih tinggi dari tongkol jagung (Fitriani dkk., 2013 dan Jalaluddin dkk., 2005) tetapi ternyata aktivitas relatif enzim yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan tongkol jagung. Hasil ini

memperkuat hasil penelitian Putri (2008) yang menunjukkan bahwa kadar xilan/pentosan pada tongkol jagung 36% lebih tinggi dibandingkan dengan limbah lignoselulosa dari limbah lainnya seperti bagas tebu (27,97%), sekam padi (16,94-21,95%) dan sabut kelapa sawit (24%).

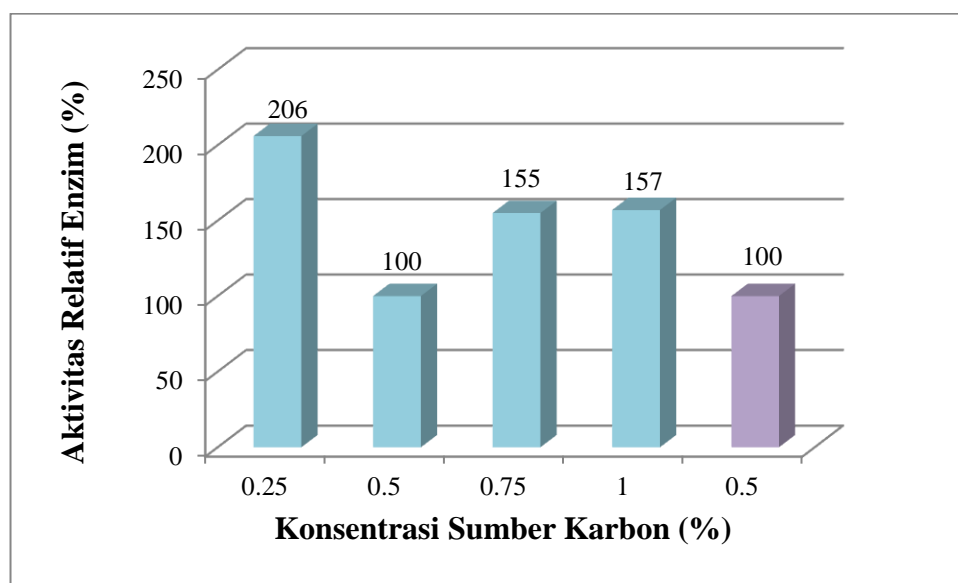
Berdasarkan hasil rendemen, tepung xilan bagas tebu sedikit lebih rendah dari tepung xilan tongkol jagung (24,1%), sedangkan rendemen tepung xilan tongkol jagung mencapai 26,69%. Beberapa penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa cara delignifikasi dan pemisahan selulosa setiap substrat limbah pertanian berbeda-beda. Selain itu, faktor kelarutan juga berpengaruh terhadap kualitas xilan yang dihasilkan. Xilan dari bagas tebu membutuhkan waktu lebih lama untuk larut dibandingkan xilan tongkol jagung. Penelitian Syawala dkk. (2013) menunjukkan persentase rendemen hasil delignifikasi tongkol jagung lebih tinggi (11,17%) dibandingkan bagas tebu (7,67%). Bagas tebu memiliki struktur yang kompleks sehingga materialnya lebih sulit didegradasi dan dihidrolisis dibandingkan material yang berbahan dasar pati (Rohana, 2013).

4.5. Produksi Enzim Xilanase pada Berbagai Konsentrasi Xilan Tongkol Jagung

Dalam penelitian ini, sumber karbon terbaik untuk produksi enzim xilanase yaitu tepung xilan dari tongkol jagung. Tepung xilan tongkol jagung kemudian dijadikan acuan untuk media tahapan selanjutnya yaitu mengetahui konsentrasi optimum dari tepung xilan tongkol jagung.

Konsentrasi xilan tongkol jagung dalam media Mendels yang dimodifikasi

(*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%), adalah 0%, 0,25%, 0,5%, 0,75% dan 1%. *Xylan beechwood* 0,5% digunakan sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas relatif enzim xilanase tertinggi yaitu 206% diperoleh dari media yang menggunakan tepung xilan tongkol jagung sebanyak 0,25% (Gambar 9).



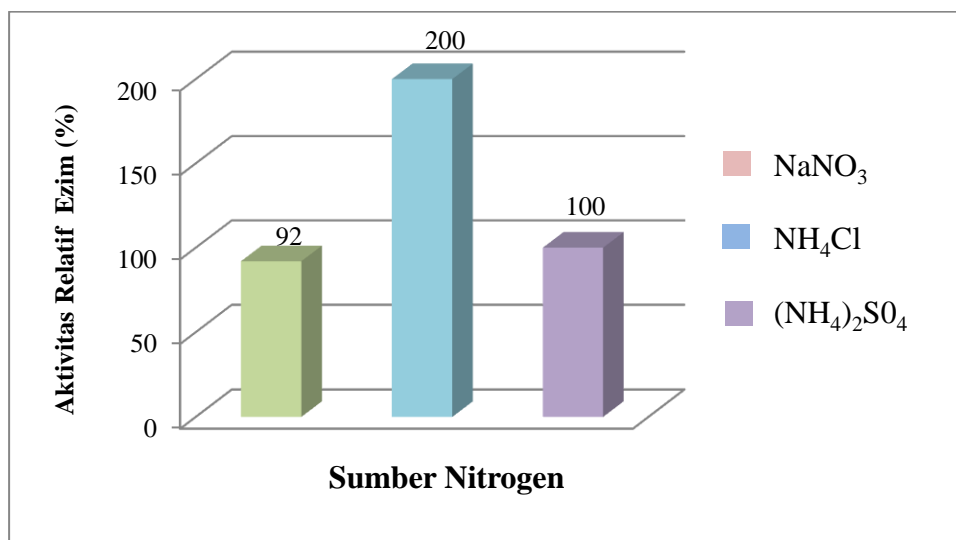
Gambar 9. Pengaruh Konsentrasi Sumber Karbon Alami (Tongkol Jagung) Terhadap Produksi Relatif Enzim Xilanase. ■ Xilan Tongkol Jagung. ■ *Xylan Beechwood* (Kontrol Positif). Kultur dilakukan pada Media Mendels yang dimodifikasi (*Yeast Extract* 0,35%; Triptofan 0,35%; NaCl 0,2%; KH_2PO_4 0,245%; MgSO_4 0,035%; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,175%).

4.6. Produksi Enzim Xilanase pada Berbagai Sumber Nitrogen

Hasil tahapan sebelumnya menunjukkan bahwa konsentrasi tepung xilan tongkol jagung yang optimum untuk produksi enzim xilanase yaitu 0,25%.

Hasil ini kemudian dijadikan acuan untuk media tahapan selanjutnya dengan menggunakan perbedaan sumber nitrogen. Media yang digunakan untuk produksi enzim xilanase yaitu media Mendels yang dimodifikasi (xilan

tongkol jagung 0,25%; *yeast extract* 0,35%; triptofan 0,35%; NaCl 0,2%; KH_2PO_4 0,245%; MgSO_4 0,035% (NH_4) $_2$ SO_4 0,175%). Sumber nitrogen yang diuji adalah NH_4Cl , NaNO_3 dan (NH_4) $_2$ SO_4 masing-masing dengan konsentrasi 0,175%. Tahapan ini bertujuan untuk mengetahui sumber nitrogen optimum untuk memproduksi enzim xilanase.



Gambar 10. Pengaruh Sumber Nitrogen Terhadap Produksi Relatif Enzim Xilanase. (NH_4) $_2$ SO_4 0,175%) Sebagai Kontrol Positif. Kultur dilakukan pada Media Mendels yang dimodifikasi (Xilan Tongkol Jagung 0,25%; *Yeast Extract* 0,35%; Triptofan 0,35%; NaCl 0,2%; KH_2PO_4 0,245%; MgSO_4 0,035%; berbagai sumber nitrogen (NH_4) $_2$ SO_4 0,175%, NaNO_3 0,175%, dan NH_4Cl 0,175%).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sumber nitrogen terbaik untuk memproduksi enzim xilanase yaitu NH_4Cl dengan aktivitas relatif enzim xilanase sebesar 200% (Gambar 10). Nitrogen dalam media kultur diperlukan bakteri *Bacillus* sp. M_{1.2.3} untuk meningkatkan pertumbuhan sel (Zuhri dkk., 2013) dan produksi enzim xilanase sebesar 681,22 IU/g substrat kering (Sarkar and Aikat, 2012). Tingkat produksi enzim diatur dengan

adanya sumber nitrogen pada media kultur (Schreirer dkk., 1982) yang sangat diperlukan bakteri *Bacillus* sp. untuk proses metabolisme, pertumbuhan, dan produksi enzim xilanase sebesar 1,2 U/ml (Guha dkk., 2013). Nitrogen yang diperlukan harus dalam kondisi optimum. Jika kekurangan ataupun kelebihan sumber nitrogen maka produksi enzim terhambat (Aiyer, 2004).

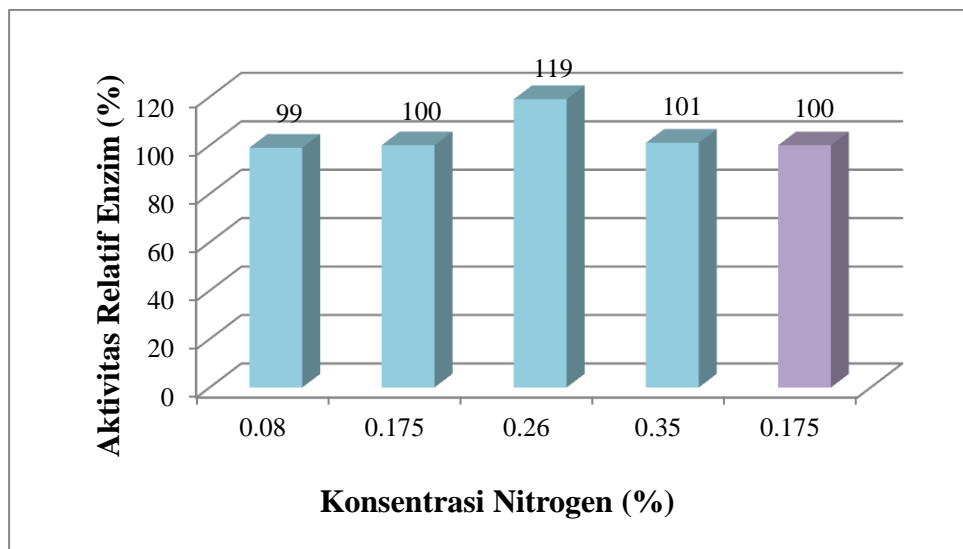
Penambahan amonium sulfat dalam media kultur menunjukkan aktivitas relatif enzim xilanase lebih rendah dari amonium klorida. Meskipun hasil penelitian (Zuhri dkk., 2013) menunjukkan bahwa amonium sulfat merupakan sumber nitrogen terbaik *Bacillus* sp M_{1.2.3} untuk produksi protease alkali sebesar 0,55 U/ml, namun ternyata 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 menunjukkan mikroorganisme yang sejenis berbeda kebutuhan nitrogen optimumnya. Penelitian Mulyani (2010) menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* optimum pada media dengan sumber nitrogen berupa (NH₄)₂SO₄ menghasilkan enzim xilanase sebesar 34,48 U/mg. Sedangkan hasil penelitian Peter (2015) *Aspergillus niger* optimum pada media dengan sumber nitrogen *tomato pomace* dan *yeast extract* dengan aktivitas enzim xilanase 2 U/mg (Tallapragada, 2011). Hasil penelitian Richana dkk. (2008) dan Habibie dkk. (2014) menjelaskan bahwa genus *Bacillus* optimum pada media dengan sumber nitrogen ekstrak

khamir, polipepton dan tripton dengan aktivitas enzim xilanase masing-masing 177,57 U/ml dan 3,95 U/ml. Namun berbeda dengan hasil penelitian Sharma dkk. (2015) yang menunjukkan *Bacillus lpuarvinder strain lpu002* optimum pada media dengan sumber nitrogen NH_4Cl dengan aktivitas enzim xilanasenya 30,76 IU/ml dan Guha dkk., (2013) *Bacillus* sp. optimum pada *yeast extract*, *beef extract*, dan *peptone* sebagai sumber nitrogen dengan aktivitas enzimnya 1,2 U/ml. Nilai aktivitas relatif enzim xilanase terendah yaitu media yang ditambahkan natrium nitrat.

4.7. Produksi Enzim Xilanase pada Berbagai Konsentrasi NH_4Cl

Berdasarkan hasil uji NH_4Cl merupakan sumber N terbaik untuk produksi enzim xilanase, dengan demikian dijadikan acuan untuk uji optimasi media tahapan selanjutnya yaitu menentukan variabel perbedaan konsentrasi NH_4Cl . Media yang digunakan untuk produksi enzim xilanase yaitu media Mendels yang dimodifikasi (xilan tongkol jagung 0,25%; *yeast extract* 0,35%; triptofan 0,35%; NaCl 0,2%; KH_2PO_4 0,245%; MgSO_4 0,035%, NH_4Cl). Konsentrasi NH_4Cl yang diujikan yaitu 0%, 0,08%, 0,175%, 0,26% dan 0,35%. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,175% digunakan sebagai kontrol positif. Hasil yang diperoleh menunjukkan konsentrasi NH_4Cl yang terbaik yaitu 0,26% dengan aktivitas relatif enzimnya 119%.



Gambar 11. Pengaruh Konsentrasi Nitrogen Terhadap Produksi Relatif Enzim Xilanase. ■ NH₄Cl. ■ (NH₄)₂SO₄ 0,175% Sebagai Kontrol Positif. Kultur dilakukan pada Media Mendels yang dimodifikasi (Xilan Tongkol Jagung 0,25%; *Yeast Extract* 0,35%; Triptofan 0,35%; NaCl 0,2%; KH₂PO₄ 0,245%; MgSO₄ 0,035%).

Nitrogen dibutuhkan dalam media pertumbuhan mikroorganisme. Jika konsentrasi nitrogen dalam substrat terlalu tinggi justru akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Gambar 11 menunjukkan bahwa media dengan konsentrasinya NH₄Cl paling tinggi (0,35%) menyebabkan aktivitas enzim xilanase lebih rendah dibandingkan dengan NH₄Cl 0,26%.

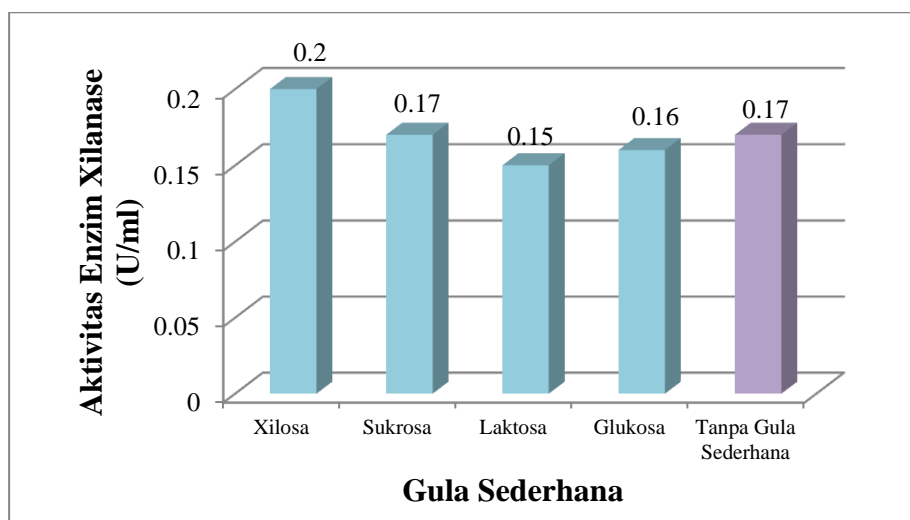
Sebaliknya, jika konsentrasi nitrogen terlalu rendah maka pertumbuhan mikroorganisme akan melambat (konsentrasi NH₄Cl < 0,26%).

4.8. Produksi Enzim Xilanase pada Berbagai Gula Sederhana

Berdasarkan hasil uji, 0,26% merupakan konsentrasi NH₄Cl terbaik untuk produksi enzim xilanase, dengan demikian dijadikan acuan untuk uji optimasi media tahapan selanjutnya yaitu penambahan berbagai gula

sederhana. Media yang digunakan untuk produksi enzim xilanase adalah media Mendels yang dimodifikasi (xilan tongkol jagung 0,25%; *yeast extract* 0,35%; triptofan 0,35%; NaCl 0,2%; KH_2PO_4 0,245%; MgSO_4 0,035%, NH_4Cl 0,26%). Tahapan ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh gula sederhana terhadap aktivitas enzim xilanase. Gula sederhana yang digunakan yaitu glukosa, sukrosa, laktosa, dan xilosa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa gula sederhana terbaik dalam meningkatkan aktivitas enzim xilanase adalah xilosa dengan nilai aktivitas enzimnya (0,2 U/ml) (Gambar 12). Xilosa merupakan induser yang baik dalam meningkatkan produksi enzim xilanase (Menon dkk., 2010).



Gambar 12. Pengaruh Berbagai Gula Sederhana Terhadap Produksi Enzim Xilanase. ■ Sebagai Kontrol Positif. Kultur dilakukan pada Media Mendels yang dimodifikasi (Xilan Tongkol Jagung 0,25%; *Yeast Extract* 0,35%; Triptofan 0,35%; NaCl 0,2%; KH_2PO_4 0,245%; MgSO_4 0,035%; NH_4Cl 0,26%).