

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI XILANOLITIK  
DARI TANAH PERKEBUNAN TEBU WAY KANAN**

**(SKRIPSI)**

**Oleh**

**Ayuni Mitra Sari**

**NPM 1917061012**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2023**

## **ABSTRAK**

### **ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI XILANOLITIK DARI TANAH PERKEBUNAN TEBU WAY KANAN**

**Oleh**

**Ayuni Mitra Sari**

Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman yang digunakan untuk produksi gula dengan hasil limbah berupa ampas dan daun tebu. Ampas dan daun tebu diketahui terdapat kandungan xilan yang berpotensi dijadikan bahan substrat kasar mikroorganisme penghasil xilanase. Tujuan dilakukan penelitian adalah mengisolasi bakteri xilanolitik dari lahan perkebunan tebu dan mengetahui karakteristik dari bakteri xilanolitik. Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2022- Februari 2023. Penelitian ini dibagi menjadi 2 bagian yaitu eksperimen dan observasi. Penelitian eksperimental berupa karakter biologi menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF). Faktor pertama adalah pH pada media yaitu pH 4, pH 5, dan pH 6. Faktor kedua adalah suhu yaitu menggunakan suhu 25° C dan suhu 45° C. Setiap perlakuan dilakukan dengan 3 kali ulangan. Untuk mengetahui karakteristik bakteri xilanolitik dilakukan penelitian observasi dengan melakukan uji hipersensitivitas serta mengamati morfologi makroskopis dan mikroskopis koloni bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH terbaik dalam bakteri menghasilkan indeks enzimatis adalah pada pH 4 dan suhu 25 °C. Uji hipersensitivitas menunjukkan bahwa semua isolat bersifat patogen.

**Kata Kunci:** Bakteri, Tanaman Tebu, Xilanase

## **ABSTRAK**

### **ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF XYLANOLYTIC BACTERIA FROM THE LAND OF SUGAR CANE PLANTATIONS WAY KANAN**

**By**

**Ayuni Mitra Sari**

Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) is a plant used for sugar production with waste products in the form of bagasse and sugarcane leaves. Sugarcane pulp and leaves are known to contain hemicellulose (xylan) which has the potential to be used as a rough substrate for xylanase-producing microorganisms. The aim of the research was to isolate xylanolytic bacteria from sugar cane plantations and to know the characteristics of xylanolytic bacteria. The research was conducted in December 2022- February 2023. This research was divided into 2 parts, namely experiment and observation. Experimental research in the form of biological characters using Completely Randomized Factorial Design (RALF). The first factor was the pH of the media, namely pH 4, pH 5, and pH 6. The second factor was temperature, using a temperature of 25° C and 45° C. Each treatment was carried out with 3 replications. To determine the characteristics of xylanolytic bacteria, an observational study was carried out by conducting a hypersensitivity test and observing the macroscopic and microscopic morphology of the bacterial colonies. The results showed that the best bacterial pH in producing the enzymatic index was at pH 4 and 25 °C. Hypersensitivity test showed that all isolates were pathogenic.

**Keywords:** Bacteria , Sugarcane Plants, Xylanase

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI XILANOLITIK  
DARI TANAH PERKEBUNAN TEBU WAY KANAN**

**Oleh  
Ayuni Mitra Sari**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2023**

Judul Skripsi : **ISOLASI DAN KARAKTERISASI  
BAKTERI XILANOLITIK DARI TANAH  
PERKEBUNAN TEBU WAY KANAN**

Nama Mahasiswa : *Ayuni Mitra Sari*

Nomor Pokok Mahasiswa : 1917061012

Program Studi : S1 Biologi Terapan

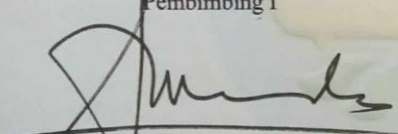
Fakultas : Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam

**MENYETUJUI**

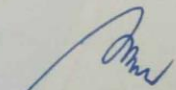
**1. Komisi Pembimbing**

Pembimbing I

Pembimbing II

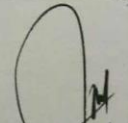


**Prof. Dr. Sumardi, M.Si.**  
NIP.196503251991031003



**Prof. Dr. Sri Yumnaini, M.Si.**  
NIP. 196305081988112001

**2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNILA**

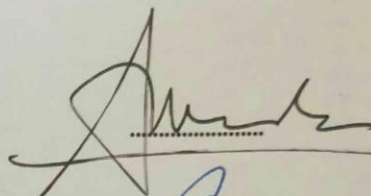


**Dr. Jani Mastet, S.Si., M.Si.**  
NIP.198301312008121001

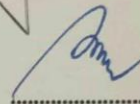
## MENGESAHKAN

## 1. Tim Penguji

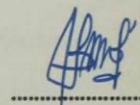
Ketua : Prof. Dr. Sumardi, M. Si.



Sekretaris : Prof. Dr. Sri Yusraini, M.Si.



Penguji : Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si.



## 2. Dekan Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam



LEMBERAN KEMENTERIAN KEBUDAYAAN DAN KEMERDEKAAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

**Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.**  
NIP 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 31 Juli 2023

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ayuni Mitra Sari  
NPM : 1917061012  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sejujurnya, bahwa karya ilmiah saya sebagai tugas akhir dalam bentuk skripsi yang berjudul:

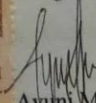
**“Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Xilanolitik Dari Tanah Perkebunan Tebu Way Kanan.”**

secara keseluruhan baik data, hasil analisis, maupun penelusuran kajian ilmiahnya adalah benar hasil karya orisinil dan usaha saya sendiri berdasarkan riset yang telah dilakukan dan arahan dari komisi pembimbing dan pembahas. Karya ilmiah ini saya susun mengikuti norma dan etika penulisan yang berlaku. Saya memastikan bahwa tidak terdapat duplikasi dari karya ilmiah orang lain, kecuali terdapat pendapat yang tertulis jelas sebagai acuan untuk mendukung ulasan dengan menuliskan nama penulis dan dicantumkan di daftar pustaka. Apabila kelak terbukti bahwa pernyataan yang saya buat ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum yang sedang berlaku.

Bandar Lampung, 14 Agustus 2023

Yang Menyatakan



  
Ayuni Mitra Sari  
1917061012

## RIWAYAT HIDUP



Ayuni Mitra Sari, lahir di Batang Harjo pada tanggal 01 Januari 2001. Penulis merupakan anak ke-1 dari 3 bersaudara, dari Bapak Jumadi dan Ibu Sri Yayuk Susilowati. Penulis mengawali pendidikannya sebagai murid di SD Negeri 1 Sidorejo dari tahun 2007-2013.

Kemudian penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 2 Gunung Pasir Jaya dari tahun 2013-2016, selanjutnya masuk ke jenjang Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 1 Bandar Sribhawono dari tahun 2016-2019.

Penulis masuk ke Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) di Perguruan Tinggi Negeri Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) Barat pada tahun 2019. Mengawali studi sebagai mahasiswa, penulis aktif di beberapa organisasi kemahasiswaan tingkat fakultas diantaranya yaitu sebagai anggota Dana Dan Usaha (Danus) Himpunan Mahasiswa Jurusan Biologi (Himbio) FMIPA Unila, anggota dinas hubungan luar (Hublu) Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA UNILA periode 2019-2021. Selain itu, penulis melakukan Kerja Praktik (KP) di BALAI VETERINER LAMPUNG Pada tahun 2022 dan menghasilkan karya ilmiah berupa laporan kerja praktik yang berjudul: **“Deteksi Cemaran *Salmonella* sp. Pada Sampel Daging Lampung Dan Daging Ayam Bengkulu Di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Balai Veteriner Lampung”**.



Penulis juga aktif menjadi asisten di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Unila pada praktikum beberapa mata kuliah yaitu mikrobiologi lingkungan, teknik pengujian mikroba, bioteknologi. Penulis juga aktif menjadi asisten di Laboratorium botani Jurusan Biologi FMIPA Unila pada praktikum beberapa mata kuliah yaitu PKDL dan fitopatologi.

## **PERSEMBAHAN**

Karya tulis ilmiah ini saya persembahkan sebagai salah satu bentuk pencapaian terbesar di dalam hidup saya untuk memenuhi tanggung jawab, amanah, dan harapan keluarga tercinta khususnya kepada kedua orang tua saya Bapak Jumadi dan Ibu Sri Yayuk Susilowati menyusul kedua adik saya Izhon Adhianto dan Ulva Nabilla Putri

*I Did Not Burden A Person, Unless Appropriate In The Ability*

(QS. Al-Baqarah : 286)

*Jangan Takut Jatuh, Karena Yang Tidak Pernah Memanjatlah Yang Tidak Pernah Jatuh. Jangan Takut Gagal, Karena Yang Tidak Pernah Gagal Hanyaah Orang-Orang Yang Tidak Pernah Melangkah. Jangan Takut Salah, Karena Dengan Kesalahan Yang Pertama Kita Dapat Menambah Pengetahuan Untuk Mencari Jalan Yang Benar Pada Langkah Yang Kedua.*

(Hamka)

## *MOTTO*

*Orang Yang Meraih Kesuksesan Tidak Selalu Orang Yang  
Pintar, Namun Orang Yang Selalu Meraih Kesuksesan  
Adalah Orang Yang Gigih Dan Pantang Menyerah.*

*Berpegang Teguhlah Pada Kebenaran Meskipun Kebeneran  
Itu Akan Membunuhmu  
(Umar Bin Khatab)*

## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah rabbilalamin, puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala ridho dan kesempatan-Nya, saya dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini yang berjudul **“Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Xilanolitik Dari Tanah Perkebunan Tebu Way Kanan.”** Salawat serta salam tak lupa tercurahkan kepada suri tauladan Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umatnya ke zaman yang penuh dengan ilmu pengetahuan.

Karya tulis ini ditujukan sebagai syarat dalam meraih gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Pada kesempatan ini, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua Orang Tua saya Bapak Jumadi dan Ibu Sri Yayuk Susilowati serta kedua adik saya Izhon Adhianto dan Ulva Nabilla Putri yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi;
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si.,M.Si. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung;
3. Bapak Dr. Jani Master, S.Si, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung;
4. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si selaku pembimbing I yang telah bersedia memberikan topik penelitian dan pendanaan selama penelitian, serta terimakasih telah memberikan bimbingan, arahan, dan masukkan dengan sangat baik selama penelitian dan penyusunan skripsi ini;
5. Ibu Prof. Dr. Sri Yusnaini, M.Si selaku pembimbing II yang telah memberikan masukkan dan arahan terkait penulisan dan pembahasan yang membangun penyusunan skripsi ini;

6. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si selaku pembahas yang telah memberikan masukan dan arahan terkait penulisan dan pembahasan yang membangun penyusunan skripsi ini;
7. Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Kepala Jurusan Biologi yang telah bersedia memberikan bimbingan, arahan, dan masukan dengan sangat baik selama penelitian dan penyusunan skripsi ini;
8. Ibu Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si. selaku Kepala Program Studi S1 Biologi Terapan yang telah bersedia memberikan bimbingan, arahan, dan masukan dengan sangat baik selama penelitian dan penyusunan skripsi ini;
9. Ibu Dr. Endang Nurcahyani selaku pembimbing akademik yang telah memberikan masukan dan arahan;
10. Terkhusus untuk Ibu Oni Mastuti, S. Si. selaku laboran Laboratorium Mikrobiologi yang selalu menemani selama penelitian, memberikan dukungan, dan kehangatan di Laboratorium Mikrobiologi;
11. Teman-teman Biologi Terapan angkatan 2019 yang selalu mengingatkan akan kebaikan, memberi semangat, dan motivasi.
12. Teman-teman selama penelitian di Lab. Mikrobiologi generasi 2019 Emilia, Mutia Sari, Jensa Yuswantoro, Rony Setiawan, Salimah Johariah, Syifa Riandani, Zikrina, Annisa Zahwa, Serta kakak- kakak angkatan 2018 (Milumoy) yang telah bersedia membantu dan memberikan arahan Serta ilmu selama penelitian di Lab Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung.
13. Kepada Semua pihak yang telah terlibat dan tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk membantu dalam pelaksanaan penelitian serta penyusunan skripsi ini.

Bandar Lampung, 14 Agustus 2023  
Penulis

**Ayuni Mitra Sari**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Kerangka Pikir .....	3
1.4 Hipotesis .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Tanaman Tebu ( <i>Saccharum Officinarum</i> L.).....	5
2.1.1 Morfologi Tanaman Tebu ( <i>Saccharum officinarum</i> L.) .....	6
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Tebu ( <i>Saccharum officinarum</i> L.).....	7
2.1.3 Bagas Tebu ( <i>Saccharum officinarum</i> L.).....	7
2.1.4 Daun Tebu.....	9
2.2. Pengertian Dekomposisi .....	9
2.3. Xilan.....	10
2.3.1. Struktur Xilan .....	10
2.3.2. Reaksi Pemecahan Struktur Xilan .....	12
2.3.3. Penghasil Xilanase .....	13
2.3.4. Aplikasi Mikroba Xilanase .....	13
2.4. Jenis - Jenis Bakteri Xilanolitik .....	15
2.4.1. <i>Bacillus</i> sp.....	15
2.3.2 Bakteri <i>Pseudomonas</i> sp. ....	17
2.4.2. Klasifikasi <i>Pseudomonas</i> sp. ....	18
2.4.3. Bakteri <i>Streptomyces</i> sp.....	18

2.5. Pengertian Tanah .....	19
2.6. Endospora .....	20
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
3.1. Waktu dan Tempat .....	21
3.2. Alat dan bahan .....	21
3.3. Rancangan Percobaan .....	22
3.4. Prosedur Penelitian .....	23
3.4.1. Pembuatan Tepung Xilan.....	23
3.4.2. Pengambilan Sampel Tanah .....	24
3.4.3. Pengayaan Bakteri ( <i>Enrichment</i> ) Dan Seleksi Bakteri Endospora.....	25
3.4.4. Isolasi Bakteri Xilanolitik .....	26
3.4.5 Uji Kuantitatif Kemampuan Xilanolitik .....	26
3.4.6 Karakterisasi Bakteri .....	28
3.4.8. Uji Hipersensitivitas Bakteri .....	30
3.4.9. Diagram Alir Penelitian .....	31
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
4.1. Hasil .....	33
4.1.1. Isolasi Bakteri Xilanolitik .....	33
4.1.2. Uji Kuantitatif Bakteri Xilanolitik.....	34
4.1.3. Karakteristik Bakteri Secara Makroskopis Dan Mikroskopis..	38
4.1.4. Uji Toleransi pH Dan Suhu .....	41
4.1.5. Uji Hipersensitivitas.....	43
4.2. Pembahasan.....	43
4.2.1. Isolasi Bakteri Xilanolitik.....	43
4.2.2. Uji Kuantitatif Enzim Xilanolitik .....	43
4.2.3. Uji Makroskopis Dan Mikroskopis Bakteri Xilanolitik .....	47
4.2.4. Uji Toleransi Terhadap pH Dan Suhu.....	49
4.2.5. Uji Hipersensitivitas .....	50
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>52</b>
5.1. Simpulan .....	52
5.2. Saran .....	52
DAFTAR PUSTAKA.....	53
LAMPIRAN.....	58

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Tebu ( <a href="http://darsatop.lecture.ub.ac.id">http://darsatop.lecture.ub.ac.id</a> ).....	5
2. Batang Tebu.....	6
3. Bagas Tebu (dok. Pribadi, 2022).....	7
4. Komponen Dinding Sel ( Astner , 2012).....	10
5. Struktur Xilan (Sharma <i>et al.</i> , 2013). ....	11
6. Proses Pemecahan Struktur Xilan Oleh Enzim Xilanase .....	12
7. Penampang Mikroskopis <i>Bacillus</i> sp.....	15
8. Penampang Mikroskopis Isolat.....	16
9. Struktur Endospora ( Pradhan, 2021) .....	20
10. Mekanisme Terbentuknya Endospora (Beskrovnaya, 2021).....	21
11. Area Sampling .....	25
12. Isolat Bakteri Xilanolitik .....	33
13. Perlakuan pH 4 suhu 25° C.....	34
14. Rata-Rata Nilai Enzimatik .....	41
15. Gejala Nekrosis Pada Daun Tanaman Tembakau .....	42
16. Endospora ( dokumen Pribadi) .....	48



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Xilan Pada Berbagai Jenis Limbah Agro Industri.....	8
2. Mikroorganisme Penghasil Xilan ( Burlacu, 2016).....	13
3. Rancangan Percobaan.....	22
4. Media <i>Enrichment</i> Sampel Tanah .....	23
5. Hasil Uji Statistik Anova antara jenis isolat dengan variasi pH pada Suhu 25° C.....	35
6. Indeks Enzimatik Beberapa Isolat Akibat Variasi pH Terhadap Jenis Isolat Pada Suhu 25° C .....	36
7. Hasil Uji Statistik Anova Antara Jenis Isolat Dengan Variasi pH pada Suhu 45° C.....	37
8. Indeks Enzimatik Beberapa Isolat Akibat Variasi pH Terhadap Jenis Isolat Pada Suhu 45° C .....	38
9. Karakteristik Bakteri Secara Makroskopis Dan Mikroskopis .....	39

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) diketahui sebagai salah satu tanaman yang dibudidayakan di daerah beriklim tropis. Tebu merupakan salah satu penghasil gula utama di Indonesia. Secara nasional dalam 6 (enam) tahun terakhir (2014-2019) terdapat tiga provinsi dengan kontribusi produksi gula tebu paling tinggi yaitu Jawa Timur (48,24 %), Lampung (30,48 %), dan Jawa Tengah (8,12 %). Pada tahun 2019 produksi gula Provinsi Jawa Timur mencapai 1,1 juta ton dan Provinsi Lampung sebesar 0,7 juta ton (Triakuntari dkk., 2020). Semakin meningkatnya produksi gula pasir menyebabkan meningkatnya produksi limbah tebu (bagas tebu) maupun daun tebu (dadhok).

Limbah bagas dan daun tebu diketahui sebagai limbah hasil dari proses awal pembuatan gula tebu. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hidayati dkk., (2016) sekitar 50 % ampas tebu yang dihasilkan di setiap pabrik gula dimanfaatkan sebagai bahan bakar boiler dan sisanya ditimbun sebagai buangan yang memiliki nilai ekonomi rendah. Sehingga akan berdampak pada pencemaran lingkungan. Bagas tebu mengandung polisakarida yang tersusun atas 50 %-55 % selulosa, 15 %-20 % xilan dan lignin sekitar 20 %-30 %, selain itu sisanya disebut senyawa abu (Samsuri *et al.*, 2009). Selain bagas tebu, limbah yang dihasilkan dalam proses awal pembuatan gula adalah daun tebu. Daun tebu (dadhok) memiliki serat yang pada umumnya mengandung polisakarida yang tersusun atas selulosa

sebanyak 36 %, 21 % xilan dan 16 % lignin (Moodly, 2017). Ketiga komponen dari bagas tebu maupun daun tebu sulit untuk didegradasi, sehingga diperlukan perlakuan khusus.

Salah satu komponen polisakarida dari bagas tebu maupun daun tebu adalah xilan. Kandungan xilan yang cukup tinggi pada bagas tebu dan daun tebu berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan substrat kasar mikroorganisme penghasil xilanase sebagai salah satu upaya untuk menghasilkan enzim xilanase. Enzim xilanase digunakan untuk memecah struktur dari xilan pada bagas tebu dan daun tebu. Mikroorganisme penghasil xilanase berasal dari kelompok fungi dan bakteri. Kelompok bakteri yang memiliki kemampuan xilanolitik adalah *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Streptomyces* sp. (Mandal, 2015). Bakteri paling banyak digunakan sebagai sumber produksi enzim karena pertumbuhannya yang cepat, mudah ditumbuhkan dan diatur produksinya, serta mudah direkayasa secara genetik (Fawzya dkk., 2013). Studi lain menyatakan bakteri penghasil xilanase yang telah dilaporkan oleh beberapa peneliti seperti *Bacillus safeensis*, *Bacillus subtilis*, dan *Streptomyces drozdowicii* (Sipriyadi dkk., 2021). Menurut Deka *et al.*, (2011), *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang banyak dimanfaatkan dalam bidang industri karena kemampuannya yang tinggi dalam produksi dan pengeluaran enzim ekstraseluler dalam jumlah yang besar, sehingga keberadaan bakteri *Bacillus* sp. sangat menguntungkan. Sedangkan kelompok fungi yang memiliki kemampuan xilanolitik adalah *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., dan *Penicillium* spp. (Burlacu *et al.*, 2016). Menurut Mandal (2015) fungi memiliki aktivitas xilanase paling tinggi dibandingkan dengan bakteri.

Keberadaan mikroorganisme yang tumbuh alami dari tempat asalnya dapat membantu mempercepat proses dekomposisi dari limbah tebu. Semakin tinggi populasi dan aktivitas bakteri yang tumbuh alami pada lahan

perkebunan tebu, maka proses dekomposisi limbah tebu akan semakin meningkat. Kondisi tanah pada lahan perkebunan tebu yang cenderung memiliki pH asam dan suhu lahan yang cukup tinggi dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi bakteri dari lahan perkebunan tebu yang tahan pada pH asam dan suhu lahan tinggi dengan menganalisis tanah dan limbah tebu sebagai habitat asli dari bakteri xilanolitik.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengisolasi bakteri xilanolitik dari lahan perkebunan tebu.
2. Mengetahui karakteristik dari bakteri xilanolitik yang mampu tumbuh pada keadaan pH asam, suhu tinggi, serta memiliki endospora.

## **1.3 Kerangka Pikir**

Limbah ampas tebu atau bagas tebu yang dihasilkan dari proses pembuatan gula di setiap tempat produksi gula hanya dimanfaatkan sebagai bahan bakar boiler dan sisanya ditimbun sebagai buangan yang memiliki nilai ekonomi rendah. Penimbunan bagas tebu dalam waktu tertentu akan menimbulkan permasalahan yang akan berdampak pada pencemaran lingkungan, dan menyita lahan yang luas sebagai tempat penyimpanannya. Sehingga limbah bagas tebu yang belum dimanfaatkan diperlukan penanganan secara serius untuk diolah kembali. Bagas tebu mengandung polisakarida yang tersusun atas 50 %-55 % selulosa, 15 % - 20 % xilan dan lignin sekitar 20 %-30 %, selain itu sisanya disebut senyawa abu (Samsuri *et al.*, 2009).

Selain bagas tebu, limbah yang dihasilkan dari perkebunan tebu yang belum dimanfaatkan secara optimal adalah daun tebu. Limbah daun tebu

yang dihasilkan biasanya tidak dimanfaatkan, hal tersebut dikarenakan limbah daun tebu memiliki kandungan unsur hara yang rendah. Padahal limbah daun tebu tersebut dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan kesuburan tanah apabila diolah dengan benar. Adapun kandungan dari daun tebu terdiri dari 36 %, selulosa, 21 % xilan dan 16 % lignin (Moodly, 2017)

Kandungan xilan yang cukup tinggi pada bagas tebu maupun daun tebu berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan substrat kasar mikroorganisme penghasil xilanase. Sehingga diperoleh isolat bakteri yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi xilan. Mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim xilanase adalah *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Streptomyces* sp. (Mandal, 2015). Selain memiliki kemampuan untuk mendegradasi xilan, isolat bakteri yang diperoleh diharapkan memiliki kemampuan untuk tumbuh pada pH asam dengan suhu ekstrem. Hal tersebut dikarenakan pH tanah provinsi lampung cenderung asam. Kondisi tersebut sesuai dengan penelitian Riniarti (2014) yang mengemukakan bahwa kondisi tanah menunjukkan bahwa tanah pada KPHL Batutegi memiliki kondisi cenderung asam. Suhu yang ekstrem dan pH yang asam cenderung sulit untuk bakteri tumbuh dengan baik. Sehingga diperlukan bakteri yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi xilan serta dapat tumbuh pada pH asam dan suhu yang ekstrem.

#### **1.4 Hipotesis**

Hipotesa dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Terdapat isolat bakteri xilanolitik dari lahan perkebunan tebu.
2. Terdapat isolat bakteri xilanolitik yang memiliki karakteristik dapat tumbuh pada pH asam, suhu tinggi dan memiliki endospora.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Tebu (*Saccharum Officinarum* L.)



**Gambar 1.** Tanaman Tebu ( <http://darsatop.lecture.ub.ac.id>).

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) dapat dengan mudah ditemui di Indonesia. Tanaman ini merupakan sumber bahan baku dalam produksi gula pasir dan menjadi salah satu penyumbang rasa manis pada banyak makanan dan minuman. Saat ini, tanaman tebu memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Tanaman ini mengandung nira yang dapat diolah menjadi kristal-kristal gula (Sukmadajaja, 2011). Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman perkebunan tahunan yang memiliki karakteristik unik karena mengandung zat gula di dalam

batangnya. Tebu termasuk dalam keluarga rumput-rumputan seperti padi, glagah, jagung, dan bambu (Tentrem, 2012).

### 2.1.1 Morfologi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.)



**Gambar 2.** Batang Tebu

(Sumber: <https://news.labsatu.com/tanaman-tebu-menyimpan-manfaat-dari-berbagai-sisi/>)

Tebu adalah tanaman yang memiliki beragam varietas yang dapat tumbuh dengan baik di dua jenis wilayah, yaitu daerah tropika basa dan daerah sub tropika. Tanaman ini juga mampu tumbuh baik di dataran tinggi maupun dataran rendah, dengan ketinggian hingga 1.400 m di atas permukaan laut (dpl). Batang tebu terdiri dari ruas-ruas dan dibatasi oleh buku-buku. Setiap buku memiliki mata tunas. Diameter batang berkisar antara 3-5 cm, dengan tinggi batang mencapai 2-5 m dan tidak memiliki cabang. Daun tebu memiliki bentuk seperti busur panah atau pita, dengan penyebaran yang bergantian antara kanan dan kiri. Daun tersebut memiliki pelepah yang mirip dengan daun jagung dan tidak memiliki tangkai. Tulang daun sejajar dan terdapat lekukan di tengahnya. Kadang-kadang tepi daun bergerigi dan terdapat rambut-rambut yang keras (Marlina, 2018).



### 2.1.2 Klasifikasi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.)

Menurut *United States Department of Agriculture* (2018), klasifikasi tanaman tebu adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Sub kelas	: Commelinidae
Ordo	: Cyperales
Famili	: Poaceae
Genus	: <i>Saccharum</i> L.
Spesies	: <i>Saccharum officinarum</i> L.

### 2.1.3 Bagas Tebu (*Saccharum officinarum* L.)

Limbah yang dihasilkan dari proses pembuatan gula tebu yaitu bagas tebu. Bagas tebu memiliki karakteristik berserat seperti yang terlihat pada Gambar 3. Limbah ini umumnya terdiri dari selulosa, xilan, dan lignin. Selulosa secara alami terikat oleh xilan dan dilindungi oleh lignin. Senyawa lignin yang merupakan senyawa pengikat menyebabkan sulit untuk menguraikan bahan xilan secara alami (Orchidea dkk., 2010).



**Gambar 3.** Bagas Tebu (dok. Pribadi, 2022)

Kandungan polisakarida dalam bagas tebu mencapai lebih dari 70 %, terdiri dari selulosa sekitar 50-55 %, xilan sekitar 15-20 %, dan lignin sekitar 20-30 % (Baarri dan Fawaid, 2013). Beberapa jenis limbah lignoselulosa dengan kandungan xilan dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Kandungan Xilan Pada Berbagai Jenis Limbah Agro Industri

Jenis Limbah	Kandungan Xilan %
Tongkol jagung	36 %
Bagas tebu	27,97 %
Serabut kelapa sawit	24 %
Jerami padi	22 %
Dedak padi	16,9 %
Kulit biji kapas	10,2 %

Sumber: Khasanah (2017)

Bagas tebu memiliki kandungan xilan sebesar 35 %, yang memiliki potensi sebagai sumber karbon dalam media fermentasi untuk menghasilkan enzim ekstraseluler yang disebut xilanase. Memanfaatkan bagas tebu sebagai sumber karbon dalam media produksi enzim xilanase dapat membantu mengurangi biaya produksi enzim (Fitriani dkk., 2013).

Bagas tebu memiliki komposisi antara lain: karbon (C) 23,7 %, hidrogen (H) 2 %, oksigen (O) 20 %, air (H<sub>2</sub>O) 50 % dan gula 3 %. Bagas tebu mengandung kadar air sekitar 46-52 %, kadar serat 43-52 % dan padatan terlarut sekitar 2-6 % (Andriyanti, 2012).

#### **2.1.4 Daun Tebu**

Daun tebu, yang dikenal sebagai dadhok dalam bahasa Jawa, adalah salah satu tanaman perkebunan musiman. Daun ini memiliki bentuk seperti busur panah atau pita, dengan penyebaran yang bergantian antara kanan dan kiri. Daun tebu memiliki pelepah yang mirip dengan daun jagung dan tidak memiliki tangkai. Tulang daun sejajar dan terdapat lekukan di tengahnya. Terkadang tepi daun bergerigi dan terdapat rambut-rambut yang keras. Saat proses pemanenan tebu, dihasilkan limbah berupa daun kering yang disebut klenthekan atau daduk, pucuk tebu, dan sogolan (pangkal tebu) (Khuluq, 2012). Daun tebu memiliki kandungan selulosa sekitar 36 %, xilan sekitar 21 %, dan lignin sekitar 16 % (Moodly, 2017).

### **1.2. Pengertian Dekomposisi**

Dekomposisi adalah proses penghancuran bahan organik yang berasal dari hewan dan tanaman yang berubah menjadi senyawa senyawa anorganik sederhana yang dilakukan oleh beberapa mikroorganisme seperti jamur, actinomycetes dan bakteri (Andriyany, 2018).

Menurut Saibi (2018) proses dekomposisi secara biologi dimulai dari proses penghancuran atau pemecahan struktur fisik yang dilakukan mikroba secara enzimatik terhadap partikel-partikel organik. Bakteri mengeluarkan enzim yang digunakan untuk menghancurkan molekul-molekul organik kompleks seperti protein dan karbohidrat dari tumbuhan yang telah mati. Terdapat 3 tahap proses dekomposisi serasah, yaitu:

1. Proses pelindihan (*leaching*), yaitu mekanisme hilangnya bahan-bahan yang terdapat pada serasah atau detritus akibat curah hujan atau aliran air.
2. Penghawaan (*wathering*), merupakan mekanisme pelapukan oleh faktor-faktor fisik seperti pengikisan oleh angin atau pergerakan molekul air.
3. Aktivitas biologi yang menghasilkan pecahan-pecahan organik oleh makhluk hidup yang melakukan dekomposisi.

Di dalam proses dekomposisi akan terjadi perubahan yang dilakukan oleh mikroorganisme yaitu berupa penguraian selulosa, xilan, lemak, serta bahan lainnya menjadi karbondioksida (CO<sub>2</sub>) dan air (Andriyany, 2018).

### 1.3. Xilan

Xilan merupakan komponen utama dalam dinding sel tanaman dan polisakarida yang paling banyak kedua setelah selulosa dan lignin. Pada tanaman terdiri dari rata-rata 23 % lignin, 40 % selulosa, dan 33 % xilan dari bobot kering (Bajapai, 2014).

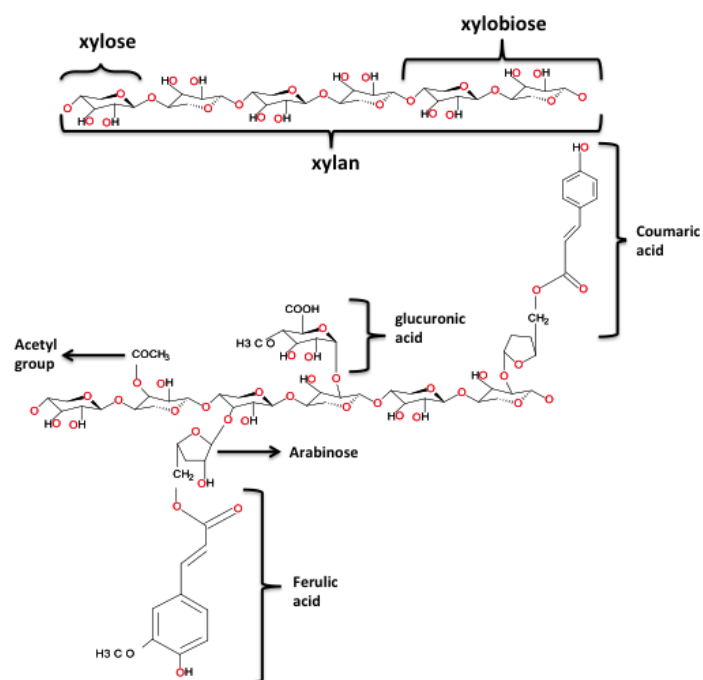


Gambar 4. Komponen Dinding Sel ( Astner , 2012)

#### 1.3.1. Struktur Xilan

Xilan mempunyai struktur yang tersusun atas kerangka dasar residu 1,4-D-xilopiranosil (gula pereduksi dengan lima atom karbon) dengan rantai samping yang tersubstitusi dengan gugus

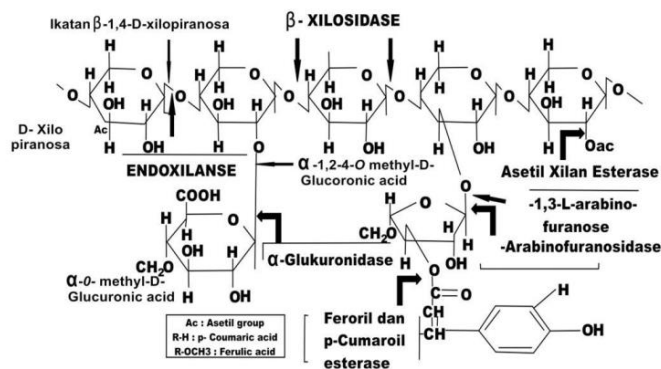
asetil, 4-O-metil-D-glukuronosil dan  $\alpha$ -arabinofuranosil (Kurrataa'yun, 2014). Xilan dapat berikatan dengan selulosa dan rantai xilan lainnya dan hemiselulosa dengan ikatan kovalen dan non-kovalen, ikatan hidrogen dan gaya Van der Waals, dengan lignin dan ikatan kovalen dari kedua jenis dengan asam kumarat dan asam ferulat yang diesterifikasi menjadi residu arabinosa (glucuronoarabinoxylan dan arabinoxylans) dan hubungan ester dengan asam 4-O-methylglucuronic (glucuronoxylan dan glucurono arabinoxylan). Rantai (glucurono) arabinoxylans dan arabinoxylans dapat dihubungkan bersama dan dengan hemiselulosa lain dan lignin melalui pembentukan diferulat (dua residu asam ferulat yang dihubungkan oleh ikatan kovalen) seperti yang tertera pada Gambar 5 (Alvarez, 2016).



Gambar 5. Struktur Xilan (Sharma *et al.*, 2013).

### 1.3.2. Reaksi Pemecahan Struktur Xilan

Xilan merupakan senyawa kimia yang kompleks dengan sifat yang beragam. Oleh karena itu, dalam proses penguraiannya diperlukan bantuan enzim untuk memecahkan struktur kompleks xilan tersebut. Enzim yang digunakan untuk memecahkan struktur xilan yang kompleks termasuk  $\beta$ -1,4-endoXilanase,  $\beta$ -xylosidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\beta$ -L-arabinofuranosidase, acetyl Xilan esterase, dan phenolic acid (ferulic dan p-coumaric acid) esterase (Motta *et al.*, 2013). Proses pemecahan struktur xilan dengan menggunakan bantuan enzim dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Proses Pemecahan Struktur Xilan Oleh Enzim Xilanase (Beg *et al.*, 2001)

Dari beberapa enzim yang terlibat dalam proses pemecahan struktur xilan, endoxilanase dan  $\beta$ -xylosidase memiliki peran yang sangat penting dalam mengubah molekul xilan menjadi unit pentosa monomer. Endoxilanase bertanggung jawab dalam memotong ikatan glikosidik dan melepaskan xylooligosakarida pendek, sementara  $\beta$ -xylosidase berperan dalam membebaskan residu xylose dari ujung xylooligosakarida yang tidak mereduksi (Motta *et al.*, 2013). Di sisi lain, acetyl esterase, ferulic esterase, glucuronidase, dan arabinosidase diperlukan untuk melepaskan

rantai samping yang berbeda dari tulang punggung xilan (Burlacu, 2016).

### 1.3.3. Penghasil Xilanase

Xilanase adalah enzim yang digunakan untuk memecah struktur dari Xilan. Xilanase dihasilkan oleh kelompok bakteri, *actinomycetes* dan jamur seperti yang tertera pada Tabel 2 (Mandal, 2015).

**Tabel 2. Mikroorganisme Penghasil Xilan (Burlacu, 2016)**

Mikroorganisme Penghasil Xilan
<i>Bacillus pumilus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
<i>Bacillus cereus</i>
<i>Bacillus circulans</i>
<i>Bacillus megatorium</i>
<i>Bacillus licheniformis</i>
<i>Bacillus stearothermophilus</i>
<i>Streptomyces</i> sp.
<i>Streptomyces roseiscleroticus</i>
<i>Streptomyces cuspidosporus</i>
<i>Streptomyces actuosus</i>
<i>Pseudonomas</i> sp.
<i>Clostridium absonum</i>
<i>Thermoactinomyces thalophilus</i>

### 1.3.4. Aplikasi Mikroba Xilanase

Penggunaan xilanase telah menarik perhatian yang signifikan karena memiliki potensi dalam berbagai industri seperti industri makanan, pakan, dan *pulp* dan kertas, sehingga dianggap sebagai enzim yang sangat penting dalam bidang industri.

### 1. Industri Makanan

Dalam industri makanan, xilanase, bersama dengan selulase dan pektinase, dapat digunakan dalam pembuatan dekstran yang berfungsi sebagai pengental makanan. Selain itu, xilanase juga berperan sebagai agen pengembang dalam pembuatan roti untuk meningkatkan volume roti (Mandal, 2015).

### 2. Pakan

Xilanase digunakan dalam perombakan tanaman hijau untuk meningkatkan pencernaan pakan ruminansia dan membantu pengomposan bersama dengan enzim lain seperti glukukanase, pektinase, selulase, protease, amilase, fitase, galaktosidase, dan lipase. Xilanase juga dapat mengurangi viskositas dan meningkatkan penyerapan dengan memecah polisakarida pati dalam pakan berbasis gandum dan jelai yang tinggi serat. Penambahan kombinasi xilanase pada diet broiler juga meningkatkan pertumbuhan dan penambahan berat badan (Cheng *et al.*, 2013).

### 3. *Pulp* dan Kertas

Dalam industri pulp dan kertas, digunakan bahan kimia pemutih yang dapat merusak komponen dan menghasilkan kertas dan pulp yang kurang berkualitas. Oleh karena itu, dalam teknik ini, pulp biasanya diolah dengan xilanase sebelum proses pemutihan kimia. Xilan yang terendapkan dapat dihidrolisis dengan bantuan xilanase, yang



memfasilitasi pemutihan pulp dan mengurangi konsumsi bahan kimia. Dengan demikian, teknik ini membantu mengurangi pembuangan senyawa beracun ke lingkungan (Martin-Sampedro *et al.*, 2012; Cheng *et al.*, 2013).

#### 1.4. Jenis - Jenis Bakteri Xilanolitik

##### 1.4.1. *Bacillus* sp.



**Gambar 7.** Penampang Mikroskopis *Bacillus* sp.  
(Sumber: <https://www.researchgate.net>)

*Bacillus* sp. merupakan genus bakteri Gram positif yang memiliki bentuk batang dan termasuk dalam filum Firmicutes. Spesies *Bacillus* sp. dapat berupa aerob obligat (bergantung pada oksigen) atau anaerob fakultatif (mempunyai kemampuan aerobik atau anaerobik) (Ponnuswamy *et al.*, 2015).

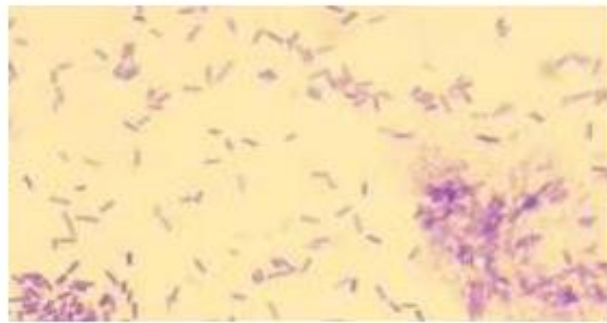
Salah satu kemampuan *Bacillus* sp. adalah menghasilkan berbagai enzim, termasuk enzim xilanase (Maftukhah, 2020). Menurut Sadhu *et al.*, (2013), *Bacillus* sp. termasuk salah satu jenis bakteri yang dapat menghasilkan enzim selulase. Bakteri ini digunakan sebagai dekomposer, sehingga dapat digunakan sebagai pupuk hayati sekaligus agen biokontrol terhadap patogen.

### 2.3.1.1 Klasifikasi *Bacillus* sp.

*Bacillus* sp. merupakan genus bakteri dari famili *Bacillaceae*, termasuk ke dalam filum *Firmicutes*, dan memiliki lebih dari 200 spesies yang telah teridentifikasi (Shu and Yang, 2017). Berikut klasifikasi *Bacillus* sp. berdasarkan “*Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*” Edisi ke-2 (2004).

Kerajaan : Bacteria  
Filum : Firmicutes  
Kelas : Bacilli  
Ordo : Bacillales  
Famili : Bacillaceae  
Genus : *Bacillus*  
Spesies : *Bacillus* spp.

### 2.3.1.2 Morfologi *Bacillus* sp.



**Gambar 8.** Penampang Mikroskopis Isolat *Bacillus* sp. perbesaran 1000x

Dilihat dari morfologi mikroskopik, *Bacillus* memiliki bentuk sel batang (*rod*) dan memiliki sifat Gram positif. Ukuran sel *Bacillus* sp. berkisar antara  $0,5-2,5 \mu\text{m} \times 1,2-$

10 µm dan sering terbentuk dalam pasangan yang membentuk rantai dengan ujung yang bundar atau persegi (Napitupulu *et al.*, 2019). Berdasarkan kunci identifikasi bakteri yang mencakup ciri-ciri seperti Gram positif, bentuk batang, dan memiliki endospora, *Bacillus* sp. diyakini termasuk dalam genus *Bacillus* (Lu *et al.*, 2018).

*Bacillus* termasuk dalam kelompok bakteri saprofit yang memiliki endospora, yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan sel. Keberadaan endospora ini merupakan keunikan yang dimiliki oleh *Bacillus*, yang memungkinkannya untuk hidup dalam berbagai kondisi lingkungan (Wiyada, 2012). Endospora merupakan struktur yang terdapat di dalam sel *Bacillus*, berperan dalam melindungi sel dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhannya (Shu dan Yang, 2017).

## **2.3.2 Bakteri *Pseudomonas* sp.**

### **2.3.2.1. Morfologi Bakteri *Pseudomonas* sp.**

Bakteri *Pseudomonas* sp. memiliki karakteristik seperti Gram negatif, berbentuk batang (*rods*) atau kokus (*coccus*), aerob obligat, motil mempunyai flagel polar. Bakteri ini oksidase positif, katalase positif, nonfermenter dan tumbuh dengan baik pada suhu 4° C atau dibawah 43° C ( Rahmadian, 2018).

#### 1.4.2. Klasifikasi *Pseudomonas* sp.

Klasifikasi bakteri *Pseudomonas* sp., Menurut Tamba (2021) adalah sebagai berikut:

Filum : Proteobacteria  
Kelas : Gamma  
Ordo : Pseudomonadales  
Famili : Pseudomonadaceae  
Genus : *Pseudomonas*  
Spesies : *Pseudomonas* sp.

#### 1.4.3. Bakteri *Streptomyces* sp.

*Streptomyces* adalah jenis bakteri yang termasuk dalam kelas *Actinomycetes* dan dapat ditemukan secara luas di lingkungan alami. *Streptomyces* memiliki peran yang signifikan dalam kehidupan manusia dan tanaman, terutama dalam menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki manfaat dalam bidang pertanian dan kesehatan (Firdiyanti *et al.*, 2021). Bakteri *Streptomyces* juga memiliki aktivitas antimikroba dan antifungi, serta mampu memproduksi enzim xilanase (Sipriyadi *et al.*, 2016).

##### 1.4.3.1. Morfologi *Streptomyces* sp.

Bakteri Gram positif dari kelas *actinomycetes* yang memiliki ciri-ciri ukuran koloni kecil (sekitar 1-10 nm), tumbuh optimum pada suhu 25-35° C, pH 6,5-8,0 dan memiliki warna pada spora adalah *streptomyces*. Spora yang dimiliki *streptomyces* berwarna putih, abu-abu, kuning, merah, biru, hijau maupun violet.

#### 1.4.3.2. Klasifikasi *Streptomyces* sp.

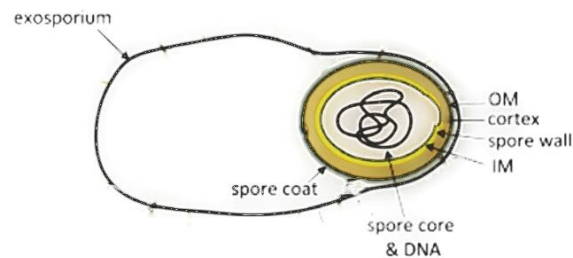
*Streptomyces* merupakan genus dari divisio *actinomycetes* yang diketahui sebagai organisme peralihan antara jamur dan bakteri. Menurut Waksman (1959) klasifikasi *Streptomyces* sebagai berikut:

Divisi : Actinomyces  
Kelas : Actinomycetes  
Ordo : Actinomycetales  
Famiii : Streptomycetae  
Genus : *Streptomyces*

#### 1.5. Pengertian Tanah

Tanah merupakan lingkungan hidup bagi mikroorganisme seperti bakteri, jamur, protozoa, dan *actinomycetes* karena mengandung berbagai bahan organik, anorganik, dan mineral. Tanah terdiri dari beberapa lapisan, dimana lapisan atasnya umumnya memiliki warna yang gelap akibat kandungan bahan organik yang tinggi. Lapisan atas tanah ini dikenal sebagai tanah *top soil*, yang memiliki kedalaman 0-30 cm dari permukaan bumi. Tanah *top soil* memiliki kesuburan yang baik karena kandungan bahan organiknya yang tinggi, sehingga memiliki struktur yang remah, konsistensi yang gembur, dan memfasilitasi penetrasi dan pertumbuhan akar dengan baik. Hal ini memungkinkan tanah untuk menyerap air dan unsur hara serta memberikan sirkulasi udara yang baik (Pratama *et al.*, 2022). Secara umum, tanah *top soil* memiliki warna hitam dan mengandung unsur hara yang berasal dari proses dekomposisi dedaunan yang telah terurai (Purnomo, 2019).

## 1.6. Endospora

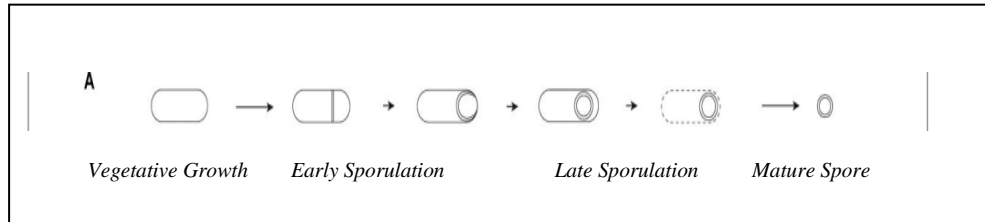


**Gambar 9. Struktur Endospora ( Pradhan, 2021)**

Bakteri merupakan mikroorganisme yang tersebar luas di alam. Beberapa jenis bakteri memiliki kemampuan untuk membentuk endospora. Endospora berperan sebagai mekanisme pertahanan hidup terhadap kondisi lingkungan yang ekstrem, seperti kekurangan nutrisi, komposisi mineral yang tinggi, perubahan pH, suhu ekstrem, dan kepadatan sel yang tinggi. Endospora dapat bertahan dalam suhu ekstrim karena adanya faktor resistensi seperti protein asam larut kecil yang melindungi DNA endospora, akumulasi kation divalen di dalam inti endospora, dehidrasi inti endospora, dan keberadaan asam dipicolinic (DPA) (Apriliani, 2021). Struktur endospora terdiri dari tiga lapisan pelindung (luar, tengah, dan dalam), korteks, membran protoplasma, dan protoplasma (inti spora) (Pradhan, 2021).

Pembentukan endospora ditandai oleh pembelahan sel yang tidak simetris dari sel induk, menghasilkan pembentukan kompartemen yang lebih kecil yang disebut prespora atau forespora, yang kemudian ditelan melalui fagositosis (Tan dan Ramamurthi, 2014). Prespora mengalami pematangan lebih lanjut melalui modifikasi dalam selubung sel dan secara bertahap menghentikan metabolisme, kemudian akhirnya dilepaskan ke lingkungan melalui lisis sel induk seperti yang tertera pada Gambar 10. Endospora merupakan bentuk kehidupan tidak aktif yang sangat kuat dan mampu bertahan terhadap paparan panas ekstrem,

kekeringan, radiasi ultraviolet, dan faktor lingkungan lainnya, yang menunjukkan pentingnya dalam patogenesis (Beskrovnaya, 2021).



**Gambar 10. Mekanisme Terbentuknya Endospora (Beskrovnaya, 2021)**

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022 – Januari 2023. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung.

#### 3.2. Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain *centrifuge*, batang pengaduk, spatula, blender, cawan petri, tabung reaksi, labu erlenmeyer, pH meter, gelas ukur, *beaker glass*, pipet volume, jarum ose, mikropipet, *hot plate stirrer*, neraca analitik, *shaker*, bunsen, inkubator, LAF, autoklaf, mikroskop, kertas label.

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain sampel bagas tebu, sampel tanah tebu, Daun tebu, NaOCl 0,5 %, NaOH 10 %, HCl 6N, Ethanol 95 %, alkohol 70 %, media MSM (*Minimum Salt Medium*) dengan komposisi:  $K_2HPO_4$  (1,55 g),  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  (0,85 g),  $(NH_4)_2SO_4$  (2 g),  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  (0,1 g), EDTA (10 mg),  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  (2 mg),  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  (1 mg),  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  (5 mg),  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  (0,2 mg),  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  (0,2 mg),  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  (0,4 mg),  $MnCl_2 \cdot 2H_2O$  (1 mg), aquades, *congo red* 0,1 %, NaCl 1 %, *kristal violet*, *iodine*, *Alkohol Aseton*, *safranin*, *malachite green*, *tissue*, kapas steril, kasa.



### 3.3. Rancangan Percobaan

Pada penelitian ini menggunakan metode deskriptif kualitatif dan Rancangan Acak Lengkap Faktorial ( RALF) yang terdiri dari dua faktor. Faktor yang pertama yaitu suhu yang terdiri dari suhu 25° C dan suhu 45° C. Faktor yang kedua adalah pH yang terdiri dari pH 4, 5, dan 6. Dengan demikian diperoleh 18 unit perlakuan dan setiap unit perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Rancangan percobaan dapat dilihat pada Tabel 3. Proses pengambilan sampel tanah menggunakan metode *purposive sampling* di area lahan perkebunan tebu. Isolat yang digunakan dalam proses penelitian diperoleh dari hasil *enrichment* sampel tanah seperti yang tertera pada Tabel 4. Sampel tanah di isolasi pada media MSM ( *Minimum Salt Medium* ) + xilan dengan metode *spread plate*. Skrining bakteri xilanolitik menggunakan pewarna *congo red* dengan indikasi terbentuknya zona bening pada media MSMX. Selanjutnya Uji karakteristik morfologi koloni bakteri yang berbeda dengan mengamati bentuk, tepian, permukaan, dan warna koloni serta uji pewarnaan Gram pewarnaan spora dan uji hipersensitivitas. Uji pH dan suhu dilakukan dengan cara mengkultur bakteri pada media MSMX ( *minimum salt medium xilan* ) dengan variasi pH 4, pH 5 dan pH 6 serta suhu 25 ° C dan suhu 45 ° C.

**Tabel 3.** Rancangan Percobaan

Faktor Suhu	Faktor pH		
25° C (a)	A1a1	C3a3	C2a2
	C1a1	B1a1	A3a3
	A2a2	B2a2	B3a3
45° C (b)	A1b1	B1b1	B2b2
	B3b3	A2b2	C2b2
	A3b3	C1b1	C3b3

Keterangan:

1. Kode A,B,C merupakan perlakuan dari faktor pH
2. Kode a dan b merupakan perlakuan dari faktor suhu

**Tabel 4.** Media *Enrichment* Sampel Tanah

Kode Sampel Tanah	Media <i>Enrichment</i>
BT 1	Tanah 1 + Bagas Tebu + Mineral medium
BT 2	Tanah 2 + Bagas Tebu + Mineral medium
BT 3	Tanah 3 + Bagas Tebu + Mineral medium
BT 4	Tanah 4 + Bagas Tebu + Mineral medium
BT 5	Tanah 5 + Bagas Tebu + Mineral medium
DT 1	Tanah 1 + Daun Tebu + Mineral medium
DT 2	Tanah 2 + Daun Tebu + Mineral medium
DT 3	Tanah 3 + Daun Tebu + Mineral medium
DT 4	Tanah 4 + Daun Tebu + Mineral medium
DT 5	Tanah 5 + Daun Tebu + Mineral medium

### 3.4. Prosedur Penelitian

#### 3.4.1. Pembuatan Tepung Xilan

Dalam proses pembuatan tepung xilan, limbah bagas tebu dikeringkan terlebih dahulu dan dihaluskan hingga memperoleh serbuk halus. Serbuk halus yang dihasilkan ditimbang sebanyak 20 g dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* untuk didelignifikasi dengan menggunakan NaOCl 0,5 % sebanyak 200 ml selama 5

jam dan disentrifugasi selama 15 menit. Endapan yang diperoleh dipisahkan dari supernatan-nya dan dikeringkan selama 24 jam. Endapan yang sudah kering direndam dengan NaOH 10 % sebanyak 200 ml selama 24 jam. Hasil yang diperoleh dari rendaman disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Filtrat yang dihasilkan diukur pH-nya dan dinetralkan dengan menambahkan HCl 6N. Xilan yang larut dalam larutan yang sudah dinetralkan dipisahkan dengan menambahkan *ethanol* 95 % dengan perbandingan ethanol dan supernatan (1:3), kemudian disentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit. Endapan yang dihasilkan adalah xilan. Xilan yang diperoleh kemudian dikeringkan dan dihaluskan sehingga diperoleh bubuk xilan ( Richana, 2007).

#### **3.4.2. Pengambilan Sampel Tanah**

Sampel tanah diperoleh dari areal perkebunan tebu dengan titik koordinat 4°16,59.17”S, 104°44,27. 82” E. seperti yang tertera pada Gambar 11 dengan menggunakan metode *purposive sampling* dengan kedalaman 5-30 cm. Sampel tanah yang digunakan adalah tanah bagian atas (*Top soil*).



Gambar 11. Area Sampling

### 3.4.3. Pengayaan Bakteri ( *Enrichment* ) Dan Seleksi Bakteri Endospora

Dalam proses *enrichment* dan seleksi bakteri endospora dilakukan dengan menimbang sampel tanah, serasah tebu, bagas tebu masing-masing sebanyak 5 g dan masukkan ke dalam erlenmeyer dengan urutan sampel yang berbeda seperti pada Tabel 4. Adapun Komposisi *mineral medium* (per liter aquades) meliputi:  $K_2HPO_4$  (1,55 g),  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  (0,85 g),  $(NH_4)_2SO_4$  (2 g),  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  (0,1 g), EDTA (10 mg),  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  (2 mg),  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  (1 mg),  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  (5 mg),  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  (0,2 mg),  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  (0,2 mg),  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  (0,4 mg),  $MnCl_2 \cdot 2H_2O$  (1 mg). Media yang berisi sampel dipanaskan pada suhu  $80^\circ C$  selama 20 menit pada *waterbath* dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu  $30^\circ C$  dengan menggunakan *shaker incubator* pada kecepatan 200 rpm (Bakry, 2022).

#### 3.4.4. Isolasi Bakteri Xilanolitik

Dalam tahap isolasi bakteri xilanolitik, sampel hasil dari *enrichment* diisolasi dengan teknik *spread plate* pada media *Minimal Salt Medium Xilan* (MSMX) dengan pH 5 yang mengandung 0,5 % ekstrak xilan dan diinkubasi pada suhu 25° C selama 48 jam. Proses pembuatan media MSMX dilakukan dengan cara menggabungkan seluruh Komposisi media *Minimal Salt Medium Xilan* (MSMX) yang meliputi K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 4,55 g; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 5 g; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0,5 g; CaCl<sub>2</sub>, 0.01 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,53 g; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 2,2 g; Mn asetat, 0,5 g; FeCl<sub>3</sub>, 0,5 g; CuSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O, 0.16 g; Molybdic Acid, 0.11 g; Na<sub>2</sub> EDTA 5 g; agar-agar, 17 g; air suling 1 L dan tepung xilan 0,5 % (Bakry, 2022). Kemudian dipanaskan selama ± 1 jam dan disterilisasi selama 15 menit.

#### 3.4.5 Uji Kuantitatif Kemampuan Xilanolitik

Isolat bakteri yang diperoleh dari tahapan isolasi, kemudian dikulturkan dengan cara masing-masing isolat bakteri yang diperoleh dikultur dengan cara dititik pada media *Minimum Salt Medium Xilan* (MSMX) steril dengan variasi pH. Variasi pH media *Minimum Salt Medium Xilan* (MSMX) meliputi pH 4,5 dan 6. Variasi pH dilakukan dengan menambahkan HCL 0,1 M untuk menurunkan pH dan NaOH 0,1 M untuk menaikkan pH (Oktavia dkk, 2022). Dalam proses pengkulturan menggunakan metode *replika plating*. *Replika plating* merupakan metode untuk menggandakan isolat bakteri dengan cara memberi nomor pada isolat yang akan digandakan pada masing-masing cawan petri. Isolat bakteri yang telah diinokulasi pada media *Minimum Salt Medium Xilan* (MSMX) diinkubasi selama 48 jam dengan variasi

suhu yaitu pada suhu 25° C dan 45° C. Setelah isolat bakteri diinkubasi selama 48 jam, kemudian dilakukan proses skrining isolat bakteri penghasil xilanase yang dilakukan dengan menggunakan larutan indikator *congo red* 0,5 % dengan cara merendam isolat bakteri dengan pewarna *congo red* 0,5 % selama 15 menit dan dilakukan pembilasan zat warna *congo red* dengan menggunakan NaCl 1 M (Sipriyadi, 2019). Setelah zona bening terlihat di sekitar koloni bakteri, dilanjutkan dengan menghitung luas zona bening dan luas koloni bakteri.

Menurut Irwan (2017) Luas setiap koloni dan luas zona bening dapat dihitung dengan menggunakan metode gravimetri, dengan cara sebagai berikut:

1. Gambar pola koloni pada plastik mika bening
2. Replika koloni ditimbang pada timbangan analitik
3. Membuat potongan plastik mika dengan ukuran 1 x 1 cm
4. Menghitung luas koloni menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Luas koloni} = \frac{\text{Bobot Replika Koloni}}{\text{Bobot Plastik berukuran } 1 \times 1 \text{ cm}^2} \times 1 \text{ cm}^2$$

Setelah diperoleh nilai luas koloni, selanjutnya di hitung indeks potensial xilanase. Menurut Sipriyadi (2019) Indeks potensial xilanase diukur menggunakan rumus berikut:

$$\text{Indeks Potensial Xilanase} = \frac{\text{Zona Bening} - \text{Koloni Bakteri}}{\text{Koloni Bakteri}}$$

Data hasil pengamatan perhitungan indeks enzimatis dianalisis menggunakan *Analysis of variance* (ANOVA) dan apabila hasil yang diperoleh menunjukkan nilai ( $p < 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey dengan taraf 5%.

### **3.4.6 Karakterisasi Bakteri**

#### **3.4.4.1 Morfologi Koloni Secara Makroskopik**

Pengamatan morfologi koloni secara makroskopik meliputi ukuran koloni bakteri, bentuk koloni bakteri, bentuk bagian tepian koloni, dan warna koloni bakteri (Lenni, 2011).

#### **3.4.4.2 Morfologi Koloni Secara Mikroskopik**

##### **a. Pewarnaan Gram**

Uji pewarnaan Gram dilakukan dengan langkah-langkah berikut. Pertama, kaca preparat diambil dan disterilkan menggunakan alkohol, kemudian difiksasi di atas nyala api Bunsen. Selanjutnya, aquades diteteskan ke kaca preparat yang berisi 1 ose suspensi bakteri xilanolitik, kemudian di ratakan dan difiksasi di atas nyala api bunsen. Kaca preparat yang berisi isolat bakteri kemudian ditetesi dengan 2 tetes cat kristal violet dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan aquades. Pewarnaan tahap dua dilakukan dengan meneteskan 2 tetes larutan lugol dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan aquades. Pewarnaan tahap tiga dilakukan dengan meneteskan larutan alkohol aseton selama 30 detik untuk melunturkan warna. Pewarnaan tahap empat dilakukan dengan meneteskan pewarna safranin, lalu ditunggu selama 1 menit, dan dicuci menggunakan aquades. Selanjutnya, kaca preparat yang berisi bakteri dikeringkan dan minyak imersi ditambahkan ke kaca preparat, kemudian dilakukan

pengamatan menggunakan mikroskop. Jika hasil pewarnaan menunjukkan bahwa sel bakteri berwarna merah, maka bakteri tersebut diklasifikasikan sebagai Gram negatif. Sebaliknya, jika sel bakteri berwarna ungu, maka bakteri tersebut diklasifikasikan sebagai Gram positif (Fitri dan Yekki, 2011).

#### **b. Pewarnaan Endospora**

Dalam melakukan uji pewarnaan endospora, langkah-langkah yang dilakukan sebagai berikut. Pertama, kaca preparat diambil dan disterilkan menggunakan alkohol, kemudian difiksasi di atas api Bunsen. Isolat bakteri yang telah berumur 7 hari diambil sebanyak 1 ose dan diratakan di atas kaca preparat, lalu ditetaskan pewarna *malachit green*. Selanjutnya, kaca preparat dipanaskan di atas air mendidih selama 5 menit, kemudian didinginkan dan dicuci menggunakan aquades steril serta dikeringkan. Tahap berikutnya, kaca preparat yang telah dikeringkan ditambahkan dengan pewarna safranin selama 1 menit dan dibilas dengan aquades steril. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x dengan penambahan minyak emersi (Fauzaan, 2022).

#### **3.4.7. Uji Toleransi Bakteri Terhadap pH Dan Suhu**

Pada tahap uji toleransi pH dan suhu isolat bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi diinokulasikan ke media MSMX dengan metode titik. Selanjutnya isolat yang telah diinokulasikan pada media MSMX diinkubasi selama 48 jam dengan variasi pH dan suhu yang berbeda yaitu pada pH 4,5,6 serta suhu 25° C dan 45° C

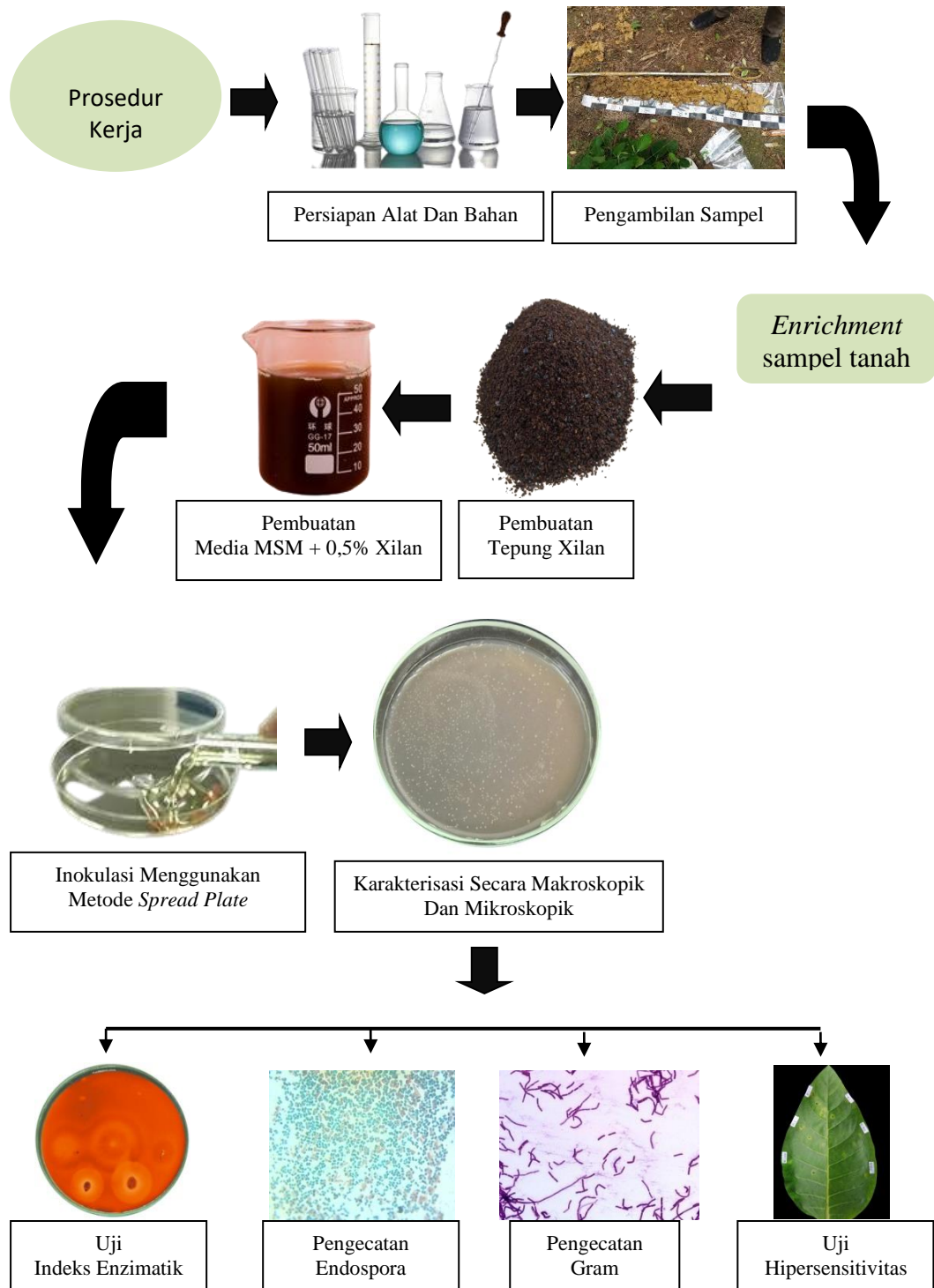


Setelah 48 jam masa inkubasi dilanjutkan dengan melakukan pengamatan terhadap zona bening yang terbentuk disekitar koloni.

#### **3.4.8. Uji Hipersensitivitas Bakteri**

Uji hipersensitivitas isolat pada daun tanaman tembakau dilakukan dengan metode berikut. Isolat bakteri dibiakkan pada media NB dan diletakkan pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah itu, sejumlah 1 ml isolat disuntikkan ke daun tembakau menggunakan jarum suntik 3 ml. Titik injeksi diberi label sesuai dengan kode isolat yang digunakan. Pengamatan dilakukan setelah 48 jam masa inkubasi (Rahmayuni, 2018).

### 3.4.9. Diagram Alir Penelitian



## **V. SIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1. Simpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa:

1. Terdapat 13 jenis isolat bakteri dari hasil isolasi tanah perkebunan tebu.
2. Terdapat isolat bakteri yang memiliki karakteristik diantaranya Keseluruhan isolat memiliki endospora serta 6 isolat diantaranya memiliki kemampuan Xilanolitik yang mampu tumbuh pada pH 4 (pH asam) serta mampu tumbuh pada suhu 45 °C.

### **5.2. Saran**

Perlu dilakukan beberapa penelitian lanjutan untuk menambah informasi terkait genus dari isolat bakteri hasil isolasi tanah perkebunan tebu yang berpotensi dalam menghasilkan enzim xilanolitik. Selain itu perlu dilakukan pengujian kadar Xilan agar menambah informasi terkait kadar Xilan yang terkandung pada bagas tebu.

# DAFTAR PUSTAKA

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, N., E.N N. Asih., A.G.D. Kartika. 2022. Jenis Gram dan Morfologi Koloni Bakteri Air Baku Garam. *Jurnal Ilmu Kelautan Lesser Sunda*, 2(1):1-8.
- Andriyanti, W. 2012. Pembuatan Dan Karakterisasi Polimer Superabsorben Dari Ampas Tebu. *Prosiding pertemuan dan presentasi ilmiah teknologi akselerator dan aplikasinya*,13:1-7.
- Andriany, Fahrudin, A. Abdullah. 2018. Pengaruh Jenis Bioaktivator Terhadap Laju Dekomposisi Seresah Daun Jati (*Tectona Grandis* L.F.) Di Wilayah Kampus Unhas Tamalanrea. *Jurnal Biologi Makassar*,3(2): 31-42.
- Apriliani, D., E. Zulaika. 2021. Viability And Production Calcifying Bacterial Endospore On Sand-Cement Carrier. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*,8(1):8-13.
- Astner, A. F. 2012. Lignin Yield Maximization of Lignocellulosic Biomass by Taguchi Robust Product Design using Organosolv Fractionation. *Tesis*. University of Tennessee, Knoxville.
- Baarri, A.N.A., M.T. Fawaid. 2013. Profil Produksi Alkohol Dari Fermentasi Whey Dan Ampas Tebu. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 2(1):48-51.
- Baharuddin, Maswati, A. R. Patong., A. Ahmad., N.L. Nafie. 2014. Pengaruh Suhu Dan pH Terhadap Hidrolisis CMC Oleh Enzim Selulase Dari Isolat Bakteri Larva Kupu-Kupu (*Cossus Cossus*). *Jurnal teknosains*,8(3).
- Bajapai, P. 2014. *Enzyme Xylanolytic*. Inggris. Elsevier Inc.
- Bakry,M. M., S.S.Salem., H.M.Atta., M.S.El-Gamal., A. Fouda. 2022. Xylanase From Thermotolerant *Bacillus Haynesii* Strain, Synthesis,

Characterization, Optimization Using Box- Behnken Design And Biobleaching Activity. *Biomass conversion and biorefinery*.  
<https://doi.org/10.1007/s13399-022-03043-6>.

- Basri, A. 2012. Diversity And Morphology Of Bacterial Community Characterized In *Topsoil* Samples From The Gaza Strip Palestine. *Journal of microbiology*, 7(6): 309-318.
- Beg, Q.K., M. Kapoor., L. Mahajan., G.S. Hondal. 2001. Microbial Xilanases and Their Industrial Applications : A Review. *Applied Microbiology Biotechnology*,56: 326-338.
- Beskrovnaya, P., D.L.Sexton., M., Golmohammadzadeh., A. Hashimi., E.L. Tocheva. 2021. Structural, Metabolic and Evolutionary Comparison of Bacterial Endospore and Exospore Formation. *Frontiers in Microbiology*, 12:630573.
- Burlacu, A.,C. P. Cornea., F. I. Roming. 2016. Microbial Xilanase: A Review. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, 20:335-342.
- Cheng, X., Chen G., Huang S., Liang Z., 2013. Biobleaching effects of crude Xilanase from *Streptomyces griseorubens* LH-3 on Eucalyptus kraft pulp. *BioResources*, 8(4):6424-6433.
- Cote, C. K., J.D., Heffron, J A., Bozue. and S L.Welkos. 2015. *Molecular Medical Microbiology*. Volume Ketiga. Frederick, Maryland, USA: Academic Press.
- Deka, D., P.Bhargavi., A. Sharma., D. Goyal., M. Jawed, A. Goyal. 2011. Enhancement of Cellulase Activity from a New Strain of *Bacillus subtilis* by Medium Optimization and Analysis with Various Cellulosic Substrates. *Enzyme Research*. Hal 8. Doi:10.4061/2011/151656.
- Hidayati, D. S. N., S. Kurniawan., N. W. Restu., B. Ismuyanto, 2016. Potensi Ampas Tebu Sebagai Alternatif Bahan Baku Pembuatan Karbon Aktif. *Jurnal Natural B*,3(4):311-317.
- Fajarfika, R., T. Hilmany., H.H. Nafi'ah., N. Sativa., J. Supriatna. 2022. Isolasi *Pseudomonas* sp. untuk Pengendalian Biologi terhadap Layu Bakteri. *Journal of Agrotechnonogy and Science*,6(2):106-114.
- Fauzaan , M. F., Wijanarka, E. Kusdiyantini., A. Budiharjo., R. S., Ferniah. 2022. Potensi Rizobakteri Pembentuk Endospora Dari Brokoli (*Brassica*

*Oleracea Var. Italica*) Sebagai Agen Biokontrol *Ralstonia Solanacearum* Serta Biofertilizer. *Bioma*, 24(2):138-146

- Fawzya, Y. N., R. E. Prima., W. Mangunwardoyo., I. Munifah., G. Patantis. 2013. Produksi Dan Karakterisasi Xilanase Dari Isolat Bakteri M-13.2A Asal Air Laut Manado. *JPB Kelautan Dan Perikanan*, 8(1):55-64.
- Fiantis, D. 2017. *Morfologi dan Klasifikasi Tanah*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi. Sumatera Barat.
- Firdiyanti, R., Kasrina, H. Bustaman. 2021. Ragam Jenis *Streptomyces* sp. Pada Rizosfer Tanaman Suku Liliacea Di Kawasan Desa Sumber Bening, Rejang Lebong, Bengkulu. *Jurnal Konservasi Hayati*, 17(1):29-34.
- Fitri, L., Y. Yasmin. 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 3(2):20-25.
- Fitriani, S. Bahri., Nurhaeni. 2013. Produksi Bioetanol Tongkol Jagung (*Zea Mays*) Dari Hasil Proses Delignifikasi. *Online Journal Of Natural Science*. 2(3):66-74.
- Guo, X., S.W. Wang., Z. Yan., L. Zhongyng. 2011. Catalytic Pyrolysis of Xilan-Based Hemicellulose Over Zeolites. *Recent Research in Energy and Environment*. Hal: 137-142.
- Herdiantoro, D., M. R. Setiawati., T. Simarmata. 2022. Reaksi Hipersensitif Daun Tembakau oleh Isolat Bakteri Pelarut Kalium pada Praformulasi Pupuk Hayati. *Soilrens*, 20(2):72-77.
- Kasake, Z. M., K. Okaiyeto., U.U. Nwodo., L.V. Mabinya., A.I. Okoh. 2016. Optimization of Cellulase and Xylanase Production by *Micrococcus* Species under Submerged Fermentation. *Sustainability*, 8(11):1168. Doi:10.3390/su8111168.
- Khasanah, Umdatul. 2017. Pengaruh Lama Inkubasi Dan Konsentrasi Substrat Bagas Tebu (*Saccharum Officinarum*) Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase Yang Diproduksi oleh *Bacillus subtilis*. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khuluq, A. D. 2012. *Potensi Pemanfaatan Limbah Tebu Sebagai Pakan Fermentasi Probiotik*. Buletin Tanaman Tembakau, Serat Dan Minyak Industri. Malang.
- Kurrataa'yun. 2014. Pencirian Xilanase dari Xilanolitik XJ18 yang Menghasilkan Xilobiosa dari Xilan Tongkol Jagung. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.

- Kurniawan C. A., Gusmawartati. 2021. Uji Isolat Bakteri Selulolitik Sebagai Dekomposer Pada Dekomposisi Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Journal Of Biological Science*, 5(1):253-259.
- Lenni F., Y. Yasmin. 2011. Isolasi Dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*,3(2):20-25.
- Lestariningsih, A. 2012. Meramu Media Tanam Untuk Pembibitan. Cahaya Atma Pustaka. Yogyakarta.
- Lu, Z., W. Guo., C. Liu. (2018). Isolation, Identification and Characterization of novel *Bacillus subtilis*. *Veterinary Medical Science*, 80(3):427-433.
- Maftukhah, S. 2020. Aplikasi *Bacillus* sp Pada Produksi Enzim Menggunakan Metode Fermentasi Padat. *Jurnal Pendidikan dan Aplikasi Industri*,7(1):6-9.
- Marlina, P. Wulandari. 2018. Teknik Pemanfaatan Limbah Pucuk Daun Tebu (*Saccharum officinarum* L.) untuk Pembuatan Pupuk Organik Cair. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal*. Hal : 431.
- Martin-Sampedro, R., A.Rodriguez., A.Ferrer., L.L Garcia Fuentesvilla., M.E., Eugenio .2012. Biobleaching Of Pulp From Oil Palm Empty Fruit Bunches With Laccase And Xilanase. *Bioresource Technology*, 110:371-378.
- Martin, A., M. Bram., W. Same., Indrawati. 2015. Pengaruh Media Pembibitan pada Pertumbuhan Setek Lada (*Piper nigrum* L.). *Jurnal Agro Industri Perkebunan*,3(2):94-107.
- Mandal. A. 2015. Review On Microbial Xilanases And Their Applications. *International Journal of Life Sciences*,4(3):178-187.
- Manalu, R. T. 2017. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Asal Indonesia. *Sainstech farma*, 10(2).
- Mukamto, S., W. Ulfah., A. Mahalina., L. Syauqi., G. Istiqfaroh., Trimulyono. 2015. Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Pelarut Fosfat dari Rhizosfer Tanaman Leguminosae. *Jurnal sains dan matematika*, 3(2): 62-68.
- Murni, Andrias Makka. 2015. Hubungan Antara Karakteristik Agroekologi Perkebunan Karet (*Hevea Brassiliansis* L) Dengan Hasil Karet Di Lampung. *Jurnal Tanah Lingk*, 17 (1): 16-24.
- Moodley, P., E.B. G. Kana. 2017. Comparative study of three



optimized acid-based pretreatments for sugar recovery from sugarcane leaf waste: A sustainable feedstock for biohydrogen production. *Engineering Science and Technology, an International Journal*, 30.

- Motta F.L., .C.P. Andrade., M.H.A. Santana. 2013. *A review of Xylanase production by the fermentation of Xilan: classification, characterization and applications. In: Chandel A.K., da Silva S.S. (Eds) Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass- Techniques, Applications and Commercialization. InTech. Croatia.*
- Napitupulu, H G., I F M. Rumeaga., Wullur, S. 2019. *Bacillus* sp. Sebagai Agensia dalam Pemeliharaan *Brachionus rotundiformis* yang Menggunakan Ikan Mentah Sebagai Sumber Nutrisi. *Jurnal Ilmiah Platax*. 7(1): 158-169.
- Nareswari, A. 2007. Enzim Xilanase *Bacillus licheniformis* AQ1: Pemekatan, Studi Termostabilitas dan ZimoGram. *Skripsi. Institut Pertanian Bogor.*
- Nugraha, A.W., Supriyanto, Agus, dan Ni'matuzahroh. 2012. Isolasi dan Biodegradasi Limbah Daduk oleh Kapang Selulolitik dan Perkebunan Tebu. Surabaya. *Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Airlangga.*
- Nugraha R., T. Ardyati., Suharjo. 2014. Eksplorasi Bakteri Selulolitik yang Berpotensi Sebagai Agen Biofertilizer dari Tanah Perkebunan Apel Kota Batu, Jawa Timur. *Jurnal Biotropika*, 2(3).
- Oktari, A., Y. Supriatin., M. Kamal, H. Syafrullah. 2017. The Bacterial Endospore Stain on Schaeffer Fulton using Variation of Methylene Blue Solution. *Journal of Physics: Conf. Series* 812: 012066.
- Oktavia, H. F., U. T. Santoso., U. B. L. Utami. Uji Kemampuan Adsorpsi Komposit Keratin Bulu Itik-Polietilen Terhadap Ion Besi(III). *Jurnal Natural Scientiae*, 2(2): 1-7.
- Orchidea, R., K.W. Andi., R.P. Dedy., F.S.Lisa., L.Khoir., P.Reza., D.M. Cakra. 2010. Pengaruh Metode *Pretreatment* pada Bahan Lignosellulosa terhadap Kualitas Hidrolisat yang Dihasilkan. *Makalah Seminar Nasional Teknik Kimia Soebardjo Brotohardjono.*
- Purnomo,W., H. Nurlaila., Suparto. 2019. Komposisi Perbandingan *Sub Soil* Dan Kompos Pengganti *Top soil* Sebagai Media Tanam Pada Pertumbuhan Bibit Karet Setelah Transplanting. *Jurnal Agriment*, 4(1):6-12.

- Pradhan, B., J.Liedtke., M. Sleutel., T, Lindback., E.D.,Zegeye., K.O. Sullivan., A.K. Llarena., O.Brynildsrud., S. Aspholm., H. Remaut. 2021. Endospore Appendages: a novel pilus superfamily from the endospores of pathogenic Bacilli. *The EMBO Journal*. 40: e106887.
- Pratama J., S. M. Rohmiyati., E. R. Setyawati. 2022. Pengaruh Dosis Solid Pada Lapisan Tanah Yang Berbeda Sebagai Media Tanam Terhadap Pertumbuhan Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis Jacq*) Di Pre Nursery. *Jurnal Pertanian Agros*.24(3): 1292-1302.
- Ponnuswamy, V., M. Kalaiyarasi., G. P. V. Samuel.2015. Cow Dung is an Ideal Fermentation Medium for Amylase Production in Solid-state Fermentation by *Bacillus cereus*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 13:111– 117.
- Waluyo, L. 2012. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press, Malang, 344.
- Rahmadian, C. A., Ismail, M. Abrar., Erina, Rastina, Y. Fahrimal. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri *Pseudomonas* sp Pada Ikan Asin Di Tempat Pelelangan Ikan Labuhan haji Aceh Selatan. *JIMVET*. 2(4):493-502.
- Rahmayuni, E., S. Ismiani., D.H. Muslimah., E.D.I. Wilujeng., M.N. Rizqulloh. 2018. Karakterisasi Dan Viabilitas Isolat Bakteri Pelarut Fosfat Dalam Bahan Pembawa Kompos Dan Zeolit. *Jurnal Agrosains dan Teknologi*,3 (1): 31-38.
- Richana, N., T.T. Irawadi., M.A.Nur., I.Sailah, K. Syamsu., Y. Arkenan. 2007. Ekstraksi Xilan Dari Tongkol Jagung . *Jurnal Pasca Panen*. 4(1):38-43.
- Riniarti M., A.,Setiawan. 2014. Status Kesuburan Tanah Pada Dua Tutupan Lahan Di Kesatuan Pengelolaan Hutan Lindung (Kphl) Batutegi Lampung. *Jurnal Sylva Lestari* . 2 (2):99-104.
- Sadhu, S., , P.Saha., S.K. Sen., S.Mayilraj., T. Miti. 2013. Production, Purification and Characterization of Novel Thermotolerant Endoglucanase (CMCase) from *Bacillus* Strain Isolated from Cow Dung. *Springerplus Jurnal*. 2 (1): 2-10.
- Safrida, Y.D., C. Yulvizar., C, Nanda. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Berpotensi Probiotik pada Ikan Kembung (*Rastrelliger* sp.). *Depik*.1 (3): 200-203.
- Sharma M, Kumar A. 2013 – Xylanases: An overview. *Journal British Biotechnology*. 3: 1–28.

- Saibi Ningsih, A.R. Tolangara. 2018. Dekomposisi Serasah *Avecennia lanata* pada Berbagai Tingkat Kedalaman Tanah. *Jurnal Techno*, 6(1): 55-60.
- Samsuri, M., M. Gozan., A. Wijanarko., H. Hermansyah, PPDK. Wulan., S. Dianur., M. Nasikin., B. Prasetya, 2009, Hydrolysis Of Bagas By Cellulase And Xylanase For Bioethanol Production In Simultaneous Saccharification & Fermentation. *Journal of Applied and Industrial Biotechnology*. 2(2):1979- 9784.
- Sipriyadi, W. Darwis, R.H. Wibowo., E. Farestiani. 2019. Skrining Dan Identifikasi Bakteri Penghasil Xilanase Dari Substrat Lamun Pantai Banjar Sari Pulau Enggano. *Prosiding*.
- Sipriyadi, Y. Lestari., A.T.Wahyudi., A.Meryandini., M.T. Suhartono. 2016. Exploration of Potential *Actinomycetes* from CIFOR Forest Origin as Antimicrobial, Antifungus, and Producing Extracellular Xilanase. *Biosaintifika*, 8(1): 96-104.
- Sukmadjaja, D. dan A. Mulyana. 2011. Regenerasi dan Pertumbuhan Beberapa Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) secara In Vitro. *Jurnal AgroBiogen*.7(2): 106—118.
- Sumardi, D. Lengkana. 2010. Isolasi *Bacillus* Penghasil Protease Dari Saluran Encernaan Ayam Kampung. *FMIPA Universitas Lampung*. Hal. 5.
- Susilowati, P., E. Sapto., R.Desi., K. Rahmawati., R.Sumarlin., Ardiansyah . 2012. Produksi Xilanase dari Isolat Sumber Air Panas Sonai, Sulawesi Tenggara Menggunakan Limbah Pertanian. *Jurnal Natur Indonesia*.14(3): 199-204.
- Shu, L. J., Y L. Yang. 2017. *Bacillus* Classification Based on Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry-Effects of Culture Conditions. *Scientific Reports*. 7: 1-10.
- Seo. J. K., T. S. Park., I. H. Kwon., M. Y. Piao., C. H. Lee., J.K. Ha. 2013. Characterization Of Cellulolytic And Xylanolytic Enzymes Of *Bacillus Licheniformis* JK7 Isolated From The Rumen Of A Native Korean Goat. *Asian-Aust. Jurnal Anim.Sci*. 26: 50-58.
- Sonia N.M.O., J.Kusnadi . 2015. Isolasi dan Karakterisasi Parsial Enzim Selulase dari Isolat Bakteri OS-16 Asal Padang Pasir Tengger-Bromo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*.3 (4):11-19.
- Sousa, A.M., M. Idalina., N.Ana., O.P. Maria. 2013. Improvements On Colony Morphology Identification Towards Bacterial Profiling. *Journal of Microbiological Methods*. 95:327-335.

- Tan, I.S., K. S. Ramamurthi., 2014. Pembentukan spora pada *Bacillus subtilis*. Mengepung. *Mikrobiol.*6: 212–225.
- Tentrem. 2012. Evaluasi Kesesuaian Lahan Untuk Tanaman Tebu (*Saccarum Officinarum*) Di Kecamatan Jatinom Kabupaten Klaten. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Trikuntari, D., D. Permadhi., L. K. Putra., 2020. Analisis kinerja dan prospek komoditas gula. *Opini dan Analisis Perkebunan*. 1(1): 1-10.
- Tuntun M., M. Huda. 2014. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Way Panas Bumi Natar Lampung Selatan. *Jurnal Analisis Kesehatan*: 3(1): 297-304.
- Utami , D. N. 2019. Analisis Kualitas Lahan Di Kabupaten Pesisir Barat Provinsi Lampung. *Jurnal Sains dan Teknologi Mitigasi Bencana*. 14(2):94-104.
- Wiyada, Mongkolthanaruk. 2012. Classification of *Bacillus* Beneficial Substances Related to Plants, Humans and Animals. *Journal Microbiol Biotechnol*. 22(12):1597–1604.
- Wenzl, H K.J. 1990. *The Chemical Technology of Wood*. London: Academic Press Inc.
- Waksman, S. A. 1959. *The Actinonrycd.es, Vol. L Nature, Occurrence, and Activities*. The Williams and Wilkins Company. Baltimore, 322.
- Yoon, J.H., J.E. Park, , D.Y. Suh., S.B.Hong., S.J. Ko., S.H. Kim., 2007. Comparison of dyes for easy detection of extracellular cellulases in fungi. *Mycobiology*. 35(1):21 24.