

**Produksi Xilosa dari Xilan Limbah Ampas Singkong Menggunakan  
*Bacillus subtilis*, *Aureobasidium pullulans*, dan *Penicillium janczewskii***  
*Xylose Production from Xylan of Cassava Waste Using *Bacillus subtilis*, *Aureobasidium pullulans*, and *Penicillium janczewskii**

Fefpi Nur Afnifitri Wias Arianti<sup>1)</sup>, Anak Agung Istri Ratnadewi<sup>2)</sup>,  
Nurhayati Nurhayati<sup>3)</sup>, Jay Jayus<sup>1,3)\*</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Magister Bioteknologi, Program Pasca Sarjana Universitas Jember

<sup>2)</sup>Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Jember

<sup>3)</sup>Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember  
Jalan Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Jember 68121, Jawa Timur, Indonesia  
Korespondensi Penulis: jayus.ftp@unej.ac.id

Submisi: 11 Juli 2023, Review: 21 Juli 2023, Diterima (Accepted): 5 Desember 2023

**ABSTRACT**

*The demand for xylose as a xylitol raw material is increasing. The resource for this material can be explored from agricultural waste such as lignocellulosic material which is widely available in nature, cheap, and renewable. The bioconversion of lignocellulose waste into xylose can use microbes, either single culture or microbial consortia. The purpose of this research is to find out the ability of *Bacillus subtilis*, *Aureobasidium pullulans*, and *Penicillium janczewskii* to convert xylan of cassava waste to produce xylose, under both single individual culture and its consortia. The xylose release from the cultures were measured using DNS tests followed by HPLC determination. The results showed that the single microbial culture of *B. subtilis*, *A. pullulans*, and *P. janczewskii* was able to produce xylose released into the culture broth which was 75.06, 81.72, and 82.00 ppm respectively, indicating the xylanolytic enzymes activities from this microorganism which have the ability to convert xylan into xylose. Unexpectedly, all the mix culture of these microbial consortia were unable to produce higher xylose, the amount of xylose released were even lower became 63.11 ppm only when *B. subtilis*, *A. pullulans*, and *P. janczewskii* worked together in a simultaneous culture. This finding indicated that these three microorganisms might not be able to hydrolysed the xylan synergistically.*

**Keywords:** *bioconversion, lignocellulosic material, microbial consortia, xylanolytic enzyme*

**PENDAHULUAN**

Sebagai salah satu upaya mengurangi permasalahan lingkungan, ampas yang diperoleh dari limbah hasil olahan singkong banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku penghasil produk organik (Retnoningtyas *et al.*, 2013). Bahan limbah berlignoselulosa ampas singkong ini dapat dikonversi

menjadi xilosa menggunakan mikroorganisme (Richana, 2002; Rattanachomsri *et al.*, 2009). Lignoselulosa tersusun atas fraksi selulosa, hemiselulosa, lignin, dan beberapa bahan ekstraktif lainnya (Purnawan *et al.*, 2021). Hemiselulosa dalam ampas singkong sebagian berupa xilan yang dapat

dikonversi menjadi xilosa dan selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku produk xilitol (Isrami & Aminin, 2014).

Komponen xilan dari senyawa hemiselulosa dapat digunakan sebagai sumber karbon bagi mikroba pensintesis xylanase yang mampu mendegradasi xilan menjadi xilosa (Richana *et al.*, 2007; Retnoningtyas *et al.*, 2013). Enzim xylanase yang dihasilkan oleh mikroba berperan penting dalam proses degradasi xilan menjadi xilosa dan xilo-oligosakarida (Terrasan *et al.*, 2010). Beberapa xylanase dilaporkan dapat diproduksi oleh berbagai jenis mikroorganisme dari golongan bakteri, kapang, maupun khamir (Richana, 2002; Jayus *et al.*, 2005; Terrasan *et al.*, 2010). Xylanase ini dapat digunakan sebagai pendegradasi xilan yang terdapat dalam limbah pengolahan singkong terdegradasi menjadi beberapa xylooligosakarida dan xilosa (Ratnadewi *et al.*, 2016).

Upaya peningkatan produktivitas mikroorganisme dalam mengonversi xilan menjadi xylooligosakarida dilakukan baik menggunakan kultur tunggal (Ratnadewi *et al.*, 2016) maupun kultur campuran dengan memanfaatkan kerja enzim xylanase yang disekresi oleh mikroba-mikroba seperti bakteri, yeast, maupun kapang (Richana *et al.*, 2016). Hasil penggunaan mikroba konsorsia campuran dalam mengonversi bahan berlignoselulosa masih sangat bervariasi tergantung kombinasi mikroba yang digunakan (Jayus *et al.*, 2019). *B. subtilis* termasuk bakteri thermostabil yang mampu menghasilkan enzim xylanase enzim (Bansal *et al.*, 2014; Irfan *et al.* 2016). *A. pullulans* telah diakui sebagai salah satu mikroorganisme yang menghasilkan enzim pengurai xilan dengan

aktivitas xylanase dan  $\beta$ -xilosidase cukup tinggi, masing-masing 373,0 U/mL dan 10,0 U/mL (Manitchotpisit *et al.*, 2009; Bankeeree *et al.*, 2014). *P. janczewskii* mampu menghasilkan xylanase dan  $\beta$ -xilosidase secara bersama, multiplikasi ini merupakan strategi adaptif yang ditemukan oleh mikroorganisme (Terrasan *et al.*, 2016). Meskipun sama-sama memiliki kemampuan mensekresi enzim xylanase, tetapi pola hidrolisis xylanase dari *B. subtilis*, *A. pullulans*, dan *P. janczewskii* kemungkinan berbeda-beda, ada yang bersifat *endo-hydrolitic* atau *exo-hydrolitic*. Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan sinergi enzim-enzim xylanase dari *B. subtilis*, *A. pullulans*, dan *P. janczewskii* dalam mengonversi xilan ampas singkong menjadi xilosa.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan meliputi pH meter (Horiba Navi), *shaker incubator* (Stuart SI600), *waterbath* (Eyela SB-1300), *centrifuge* (Hitachi High Speed Refrigerated Centrifuge CR21GIII), oven (*Air Concept* Froilabo), spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2900), SEM (*scanning electron microscopy*) (Hitachi *Tabletop Microscope* TM3000), *cyanide semi-quantitative test strips color indicator*, HPLC (Hitachi *Chromaster*), dan peralatan gelas (*glassware*).

Bahan yang digunakan adalah ampas singkong yang diperoleh dari PT Intaf Lumajang, isolat *A. pullulans*, dan *P. janczewskii* diperoleh dari kultur koleksi FNCC (*Food and Nutrition Culture Collection*) Universitas Gadjah Mada,

sedangkan *B. subtilis* diperoleh dari kultur di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jember, xilan *birchwood* 1% (Sigma) sebagai media pertumbuhan mikroba, reagen DNS (*3,5-dinitrosalisilat*), buffer asetat pH 5, NaOH 10%, dan NaOCl 0,5%.

## Tahapan Penelitian

### Preparasi Ampas Singkong

Ampas singkong dibersihkan dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 80°C selama 16 jam (Fairus *et al.*, 2016). Ampas yang telah bersih dan kering, diperkecil ukurannya menjadi 100 mesh dan dilakukan analisis kadar sianida pada tepung secara kualitatif dan kuantitatif. Selanjutnya dilakukan pengamatan secara mikro pada tepung ampas singkong sebelum dan sesudah delignifikasi menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Analisis SEM dilakukan untuk mendapatkan gambaran yang jelas dari struktur lignoselulosa yang berkontribusi pada penghilangan lignin yang efisien (Bharathiraja *et al.*, 2014). Selanjutnya dilakukan penentuan komposisi lignoselulosa menggunakan metode Chesson-Datta (Datta, 1981) dan dilakukan delignifikasi serta ekstraksi menggunakan basa NaOH untuk memutuskan ikatan lignin dengan hemiselulosa pada sampel (Mosier *et al.*, 2005). Delignifikasi dilakukan dengan merendam 100 g tepung dalam NaOCl 0,5% sebanyak 250 mL selama 1 jam dan dibilas dengan aquades (Sun *et al.*, 2003; Ratnadewi *et al.*, 2016). Padatan basah hasil delignifikasi direndam dalam NaOH 10%, 24 jam, difiltrasi, dan dinetralkan hingga pH 7. Selanjutnya, ditambahkan alkohol 95%, disentrifugasi 30 menit, 8500 rpm, suhu ruang. Pelet dikeringkan dalam

oven 65°C hingga beratnya konstan. Pelet ditimbang, diserbukkan dalam mixer, disimpan pada suhu ruang untuk analisis lebih lanjut (Ratnadewi *et al.*, 2016).

### Preparasi Mikroba

Isolat murni masing-masing mikroba diregenerasi di agar miring. Media regenerasi *Aureobasidium pullulans* dan *Penicillium janczewskii* menggunakan PDA (*potato dextrose agar*) dan media regenerasi *Bacillus subtilis* menggunakan NA (*nutrient agar*). *Aureobasidium pullulans*, *Penicillium janczewskii*, dan *Bacillus subtilis* dari isolat murni diinokulasikan dengan cara menggesekkan jarum ose satu kali dan digoreskan secara zigzag di permukaan media regenerasi secara aseptik. Agar miring yang telah digores, diinkubasi di inkubator suhu 30°C, 2 hari. Xilosa diproduksi melalui fermentasi mikroba. Tinggi rendahnya kandungan xilosa dalam media fermentasi dipengaruhi oleh kemampuan mikroorganisme untuk mengonversi sumber karbon menjadi biomassa dan produk (Vilela *et al.*, 2015). Mikroba difermentasi di media adaptasi yang identik dengan media fermentasi untuk mempersingkat fase lag (Pangesti *et al.*, 2012; Arini *et al.*, 2021). Media fermentasi dibuat dari tepung ampas singkong dengan komposisi 2% (b/v). Biakan mikroba diinokulasikan secara aseptis sebanyak 10 mL inokulum dari media adaptasi dan diinkubasi menggunakan shaker 150 rpm, suhu ruang. Setelah inkubasi berakhir, dilakukan isolasi enzim xylanase untuk mendapatkan ekstrak kasar xylanase. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim xylanase (Sutrisno, 2006).

### Penentuan Biomassa

Inokulum *Aureobasidium pullulans*, *Penicillium janczewskii*, dan *Bacillus subtilis* difermentasi selama 96 jam. Pengukuran pertumbuhan mikroba dilakukan setiap 12 jam. Biomassa diukur berdasarkan berat kering sel. Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang sebelumnya telah ditimbang beratnya, kemudian disentrifugasi 6.000 rpm, 5 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang dan pelet yang tersisa dikeringkan dengan cara dioven 80°C selama 30 menit. Setelah itu pelet dalam tabung didinginkan di suhu ruang dan ditimbang berat keringnya (Nasution *et al.*, 2021).

### Pengukuran Aktivitas Xylanase

Pengukuran aktivitas xylanase dilakukan untuk mendeteksi xilosa yang terbentuk menggunakan metode DNS (asam 3,5-dinitro salisilat) yang telah dimodifikasi. Analisis xilosa dengan pereaksi DNS menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 550 nm, sebagai pembanding digunakan deret larutan standar xilosa (Richana *et al.*, 2016). Jika dalam suatu sampel mengandung gula reduksi, maka larutan DNS yang berwarna jingga akan bereaksi dengan gula reduksi dan menimbulkan warna merah kecokelatan (Kusmiati & Agustini, 2010). Semakin banyak molekul asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang terbentuk, maka semakin banyak pula kadar gula pereduksi yang terdapat dalam sampel sehingga nilai absorbansi sampel yang terukur pada spektrofotometer akan semakin tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim juga tinggi (Ruswandi *et al.*, 2018;

Solahuddin *et al.*, 2021). Fermentasi dihentikan setelah 48 jam dengan melakukan pemanasan 80°C, 10 menit, dan dilakukan sentrifugasi 15 menit, 4000 rpm, 4°C untuk memisahkan biomassa mikroba dari 1 mL filtrat kultur cair. Supernatan 0,5 mL dan 1 mL xilan *birchwood* ditambahkan dalam tabung reaksi dan dipanaskan dalam *waterbath* 15 menit, 60°C. Kemudian ditambahkan 1 mL buffer asetat pH 5 dan 1 mL aquades, diinkubasi 55 menit, 60°C. Inkubasi dihentikan dengan menambahkan 2 mL pereaksi DNS dan dididihkan 5 menit. Larutan didinginkan dan dimasukkan dalam erlenmeyer 25 mL. Aquades ditambahkan hingga tanda batas dan dihomogenasi. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebanyak 1 unit aktivitas xylanase dinyatakan sebagai banyaknya enzim yang diperlukan untuk menghasilkan 1  $\mu\text{mol}$  gula xilosa dari substrat xilan permenit pada kondisi optimum (Sutrisno, 2006; Murthy & Naidu, 2012; Susilowati *et al.*, 2013; Richana *et al.*, 2016).

### Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk melihat potensi beberapa mikroba *A. pullulans*, *B. subtilis*, dan *P. janczewskii* mengonversi xilan menjadi xilosa. Faktor yang digunakan adalah teknik inokulasi, membandingkan antara inokulasi tunggal atau campuran dari mikroba tersebut. Data yang disajikan dihasilkan dari ulangan sebanyak 3 kali. Data hasil pengamatan kuantitatif kadar xilosa disajikan secara deskriptif dalam grafik yang dilengkapi dengan *error bar*.

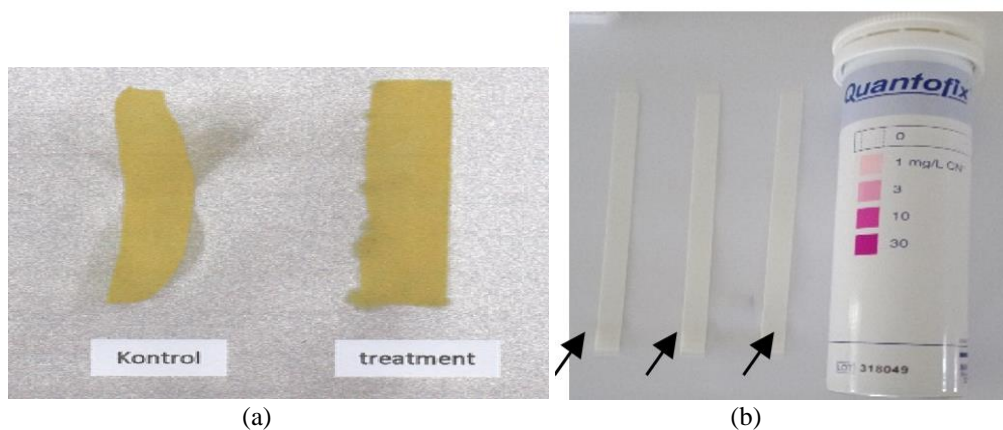
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pra-Perlakuan Ampas Singkong

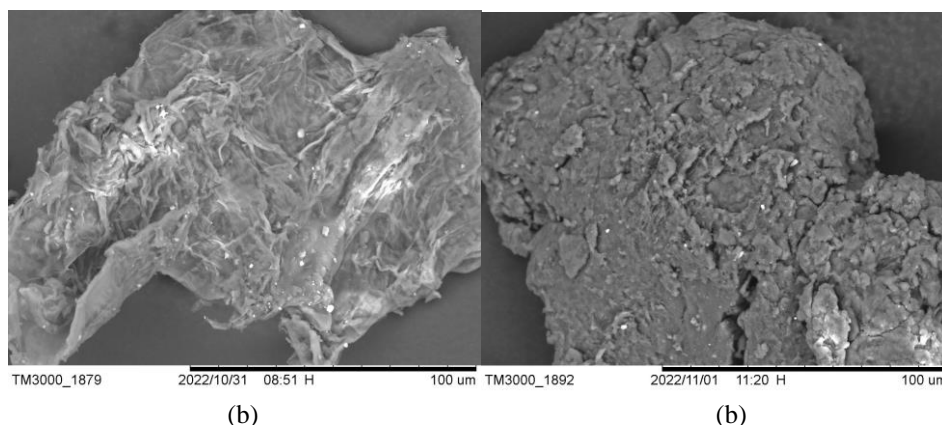
Pengamatan kadar sianida ampas singkong secara kualitatif menunjukkan bahwa tidak terdapat kandungan asam sianida karena tidak ada perubahan warna pada kertas pikrat yang telah diberi perlakuan (**Gambar 1a**). Perubahan warna pada kertas pikrat dari kuning menjadi merah bata menunjukkan adanya reaksi antara ion pikrat ( $\text{PO}^-$ ) dengan ion  $\text{H}^+$  dari sianida (Kurnia & Marwatoen, 2013). Analisis kuantitatif sianida menggunakan *cyanide semi-quantitative test strips color indicator* (**Gambar 1b**) menunjukkan bahwa strip tes berwarna putih dan sedikit berwarna peach, menandakan kadar sianida sampel berada pada rentang warna 0-1 mg/L  $\text{CN}^-$ . Asam sianida bersifat toksik dan batas aman konsumsi HCN menurut FAO adalah 50 ppm (Firdausa *et al.*, 2017). Hasil analisis sianida baik kualitatif maupun kuantitatif menunjukkan bahwa tidak ditemukan konsentrasi sianida yang tinggi dalam sampel sehingga proses selanjutnya dapat dilakukan tanpa harus melakukan perlakuan khusus guna menurunkan kadar sianida. Apakah rendahnya kadar sianida

dalam ampas singkong ini diakibatkan oleh proses pengolahan atau varietas singkong yang digunakan, masih belum diketahui. Kadar sianida pada singkong dapat diakibatkan oleh proses pengolahan seperti dilaporkan oleh Muawanah *et al.* (2020), tetapi juga ada varietas singkong yang kadar sianidanya memang rendah ketika masih dalam keadaan segar sebelum diolah (Ariani *et al.*, 2017).

Berdasarkan pengujian SEM, terjadi perubahan pada permukaan tepung ampas singkong sebelum dan setelah dilakukan delignifikasi. Sebelum dilakukan delignifikasi (**Gambar 2a**), ampas singkong memiliki struktur topologi yang memiliki hamparan luas dengan tekstur halus, teratur, dan solid. Selanjutnya setelah diberi perlakuan NaOH terlihat adanya degradasi struktur yang jelas pada morfologi permukaan (**Gambar 2b**). Terlihat banyak bagian permukaan tepung ampas singkong yang retak, longgar, dan berlubang (berpori mikro). Kerusakan pada permukaan tepung ampas singkong menunjukkan bahwa terjadi degradasi pada lapisan lignin sebagai akibat perlakuan alkali sehingga memudahkan bagian hemiselulosa (xilan) untuk dikonversi.



**Gambar 1.** Kadar sianida ampas singkong yang diamati secara kualitatif (a) dan kuantitatif (b)



**Gambar 2.** Kenampakan permukaan tepung ampas singkong sebelum delignifikasi (a) dan sesudah delignifikasi (b) berdasarkan uji SEM (*scanning electron microscopy*) pada perbesaran 1000×

Langkah pra-perlakuan basa dilakukan untuk merusak dinding sel tanaman (lignin dan ikatan-ikatan lainnya) sehingga mempermudah akses enzim pada proses fermentasi (Aniriani & Apriliani, 2017; Purnawan *et al.*, 2021).

Xilan yang berada di antara lignin dan kumpulan serat selulosa akan dikonversi oleh enzim xylanase menjadi xilosa dan xilo-oligosakarida (Fawzya *et al.*, 2013; Ardiansyah *et al.*, 2014; Aniriani, 2017). Rendemen xilan yang dihasilkan setelah proses delignifikasi dan ekstraksi dalam 100 g sampel sebesar 6,42%. Komposisi lignoselulosa pada tepung ampas singkong menunjukkan bahwa kandungan hemiselulosa pada ampas singkong memiliki persentase yang tinggi yaitu 39,6% (**Tabel 1**), dengan demikian ampas singkong tersebut berpotensi untuk digunakan sebagai sumber xilan.

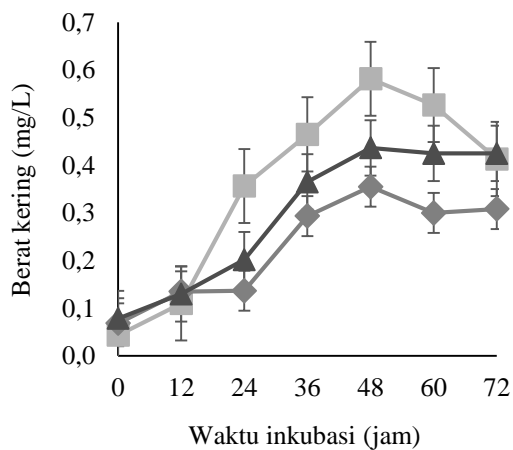
**Tabel 1.** Komposisi lignoselulosa pada ampas singkong

Komposisi	Persentase (%)
Kadar air	30,90
Hemiselulosa	39,60
Selulosa	11,95
Lignin	16,01
Abu	1,54

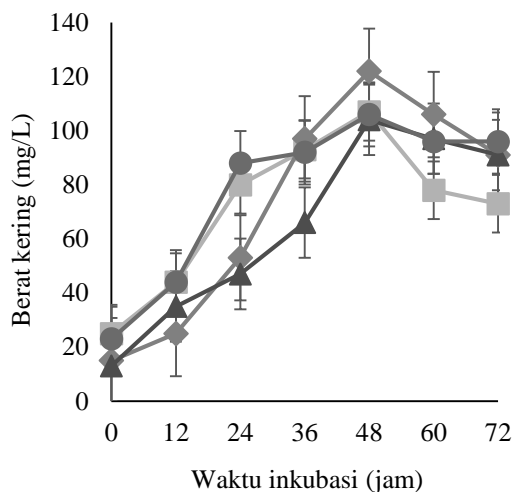
### Pertumbuhan Mikroba Tunggal dan Konsorsium

Pengamatan pertumbuhan pada mikroba tunggal (**Gambar 3**) menunjukkan bahwa pada *B. subtilis*, *A. pullulans*, dan *P. janczewskii* mengalami fase lag pada inkubasi 0 jam hingga inkubasi 12 jam. Selanjutnya terjadi fase eksponensial dengan pola pertumbuhan sel yang cepat hingga inkubasi 48 jam dengan berat kering berturut-turut sebesar 0,58 mg/l; 0,35 mg/L; dan 0,44 mg/L. Selanjutnya *B. subtilis*, *A. pullulans*, dan *P. janczewskii* mengalami fase stasioner karena semakin berkurangnya sumber karbon yang tersedia di media fermentasi. Pengamatan pertumbuhan konsorsium mikroba (**Gambar 4**) menunjukkan bahwa terjadi fase adaptasi mikroba di media fermentasi hingga inkubasi 12 jam. Selanjutnya terjadi fase eksponensial dengan pola pertumbuhan sel yang cepat hingga inkubasi 48 jam. Berat kering konsorsium *B. subtilis* dan *A. pullulans* sebesar 107 mg/L, konsorsium *B. subtilis* dan *P. janczewskii* sebesar 122 mg/L, konsorsium *A. pullulans* dan *P. janczewskii* sebesar 104 mg/L, dan pada konsorsium *B. subtilis*, *A. pullulans*, dan *P. janczewskii* sebesar 106

mg/L. Selanjutnya terjadi fase stasioner karena semakin berkurangnya sumber karbon yang tersedia di media fermentasi. Berdasarkan pengamatan, maka konsorsium mikroba diinokulasikan pada media produksi setelah inkubasi 36 jam, karena pada fase ini mikroba sudah mampu beradaptasi dengan media dan isolat memiliki kecepatan pertumbuhan yang konstan sehingga siap secara kuantitas (Listyawati, 2018).



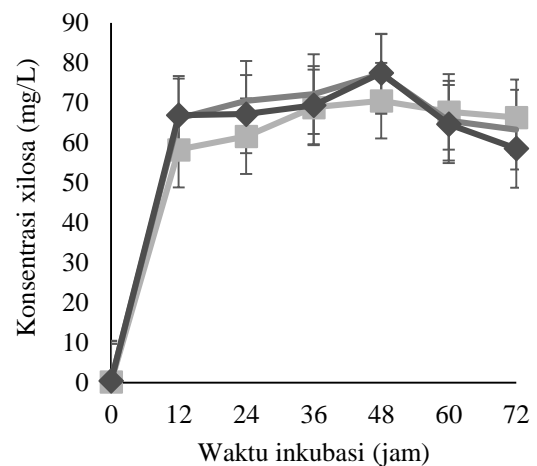
**Gambar 3.** Kurva pertumbuhan *B. subtilis* (■), *A. pullulans* (◆), dan *P. janczewskii* (▲)



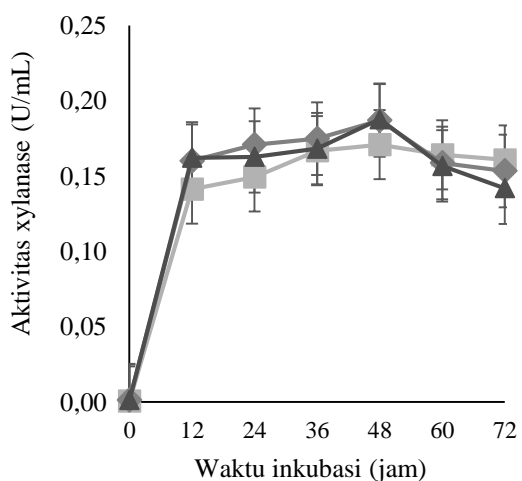
**Gambar 4.** Kurva pertumbuhan konsorsium *B. subtilis* + *A. pullulans* (■), *B. subtilis* + *P. janczewskii* (◆), *A. pullulans* + *P. janczewskii* (▲), *B. subtilis* + *A. pullulans* + *P. janczewskii* (●)

### Aktivitas Xylanase Mikroba Tunggal dan Konsorsium

Penentuan aktivitas xylanase dianalisis menggunakan metode DNS untuk mengidentifikasi terbentuknya xilosa sebagai akibat adanya aktivitas enzim (Raveendran *et al.*, 2018). Konsentrasi xilosa dan aktivitas xylanase tertinggi pada perlakuan fermentasi mikroba tunggal (**Gambar 5 dan 6**), secara berturut-turut pada *B. subtilis* yaitu 70,56 mg/L dan 0,17 U/mL diikuti oleh *A. pullulans* yaitu 77,22 mg/L dan 0,19 U/mL, dan *P. janczewskii* 77,50 mg/L dan 0,19 U/mL.

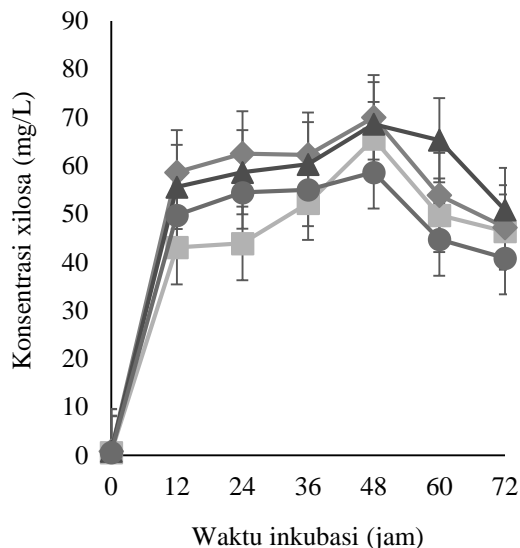


**Gambar 5.** Konsentrasi xilosa *B. subtilis* (■), *A. pullulans* (◆), dan *P. janczewskii* (▲)

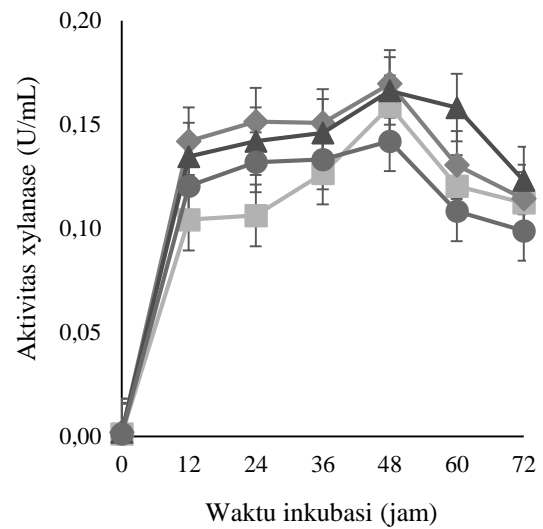


**Gambar 6.** Aktivitas xylanase *B. subtilis* (■), *A. pullulans* (◆), dan *P. janczewskii* (▲)

Pengamatan selanjutnya dilakukan pada mikroba konsorsia (**Gambar 7 dan 8**). Aktivitas tertinggi dicapai pada inkubasi 48 jam. Konsentrasi xilosa dan aktivitas xylanase tertinggi secara berturut-turut pada konsorsium *B. subtilis* dan *A. pullulans* sebesar 65,56 mg/L dan 0,16 U/mL, pada konsorsium *B. subtilis* dan *P. janczewskii* sebesar 70,00 mg/L dan 0,17 U/mL, pada konsorsium *A. pullulans* dan *P. janczewskii* sebesar 68,61 mg/L dan 0,17 U/mL, pada konsorsium *B. subtilis*, *A. pullulans*, dan *P. janczewskii* sebesar 58,61 mg/L dan 0,14 U/mL.



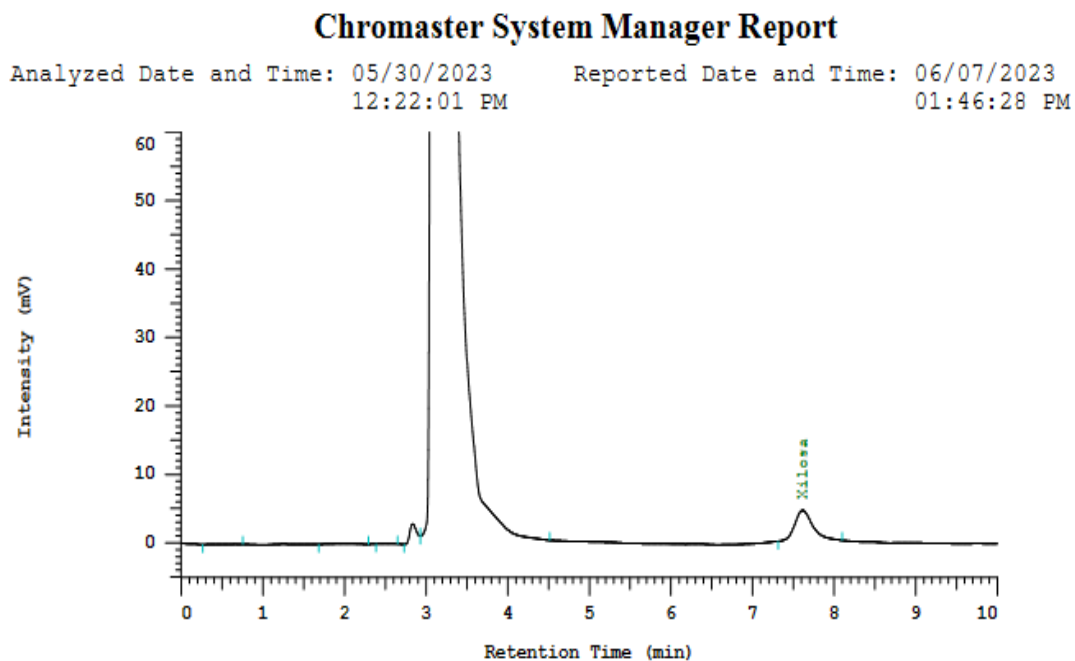
**Gambar 7.** Konsentrasi xilosa mikroba konsorsia antara lain konsorsia *B. subtilis* + *A. pullulans* (■), *B. subtilis* + *P. janczewskii* (◆), *A. pullulans* + *P. janczewskii* (▲), *B. subtilis* + *A. pullulans* + *P. janczewskii* (●)



**Gambar 8.** Aktivitas xylanase mikroba konsorsia antara lain konsorsia *B. subtilis* + *A. pullulans* (■), *B. subtilis* + *P. janczewskii* (◆), *A. pullulans* + *P. janczewskii* (▲), *B. subtilis* + *A. pullulans* + *P. janczewskii* (●)

Berdasarkan pengamatan, terjadi penurunan konsentrasi xilosa dan aktivitas enzim pada konsorsium mikroba. Hal ini terjadi karena konsorsium mikroba dapat memengaruhi produksi enzim xilanolitik yang berperan menghidrolisis xilan menjadi xilosa (Gautério *et al.*, 2018). Konsorsium mikroba juga memerlukan kondisi optimal khusus untuk memproduksi xilosa sehingga ketiadaan kondisi yang demikian menyebabkan rendahnya konsentrasi xilosa yang terbentuk. Xylanase yang berasal dari bakteri lebih aktif pada pH antara 5,0 hingga 8,0 serta suhu antara 50°C hingga 80°C, sedangkan xylanase yang berasal dari fungi umumnya lebih aktif pada pH 3,5 hingga 6,5 dan suhu antara 40°C hingga 60°C (Polizeli *et al.*, 2005).





**Gambar 9.** Analisis HPLC xilosa mikroba konsorsia *B. subtilis* dan *P. janczewskii*

Pengamatan selanjutnya dilakukan secara kuantitatif menggunakan HPLC pada sampel terbaik berdasarkan hasil uji DNS yaitu konsorsia *B. subtilis* dan *P. janczewskii*. Metode DNS relatif sederhana, hanya mampu menganalisis gula reduksi dalam bahan baku dan tidak menunjukkan spesifikasi jenis gula (Tihomirova *et al.*, 2016) sehingga perlu dilakukan analisis dengan HPLC untuk mengetahui keberadaan xilosa berikut kadar xilosa yang terkandung dalam bahan baku. Xilosa dianalisis menggunakan HPLC (Hitachi Chromaster), kolom Agilent Zorbax NH2 ( $4,6 \times 250$  mm,  $5\mu\text{m}$ ) dengan perbandingan eluen *acetonitrile* : aquades 75 : 25, laju alir 1 ml/menit secara isokratik dengan suhu oven  $30^\circ\text{C}$  dan detektor RI. Nilai xilosa berdasarkan analisis kuantitatif ditunjukkan pada **Gambar 9**. Puncak kromatogram xilosa diperoleh pada waktu retensi 7,613 menit dengan konsentrasi xilosa 9,1771 mg/L.

## KESIMPULAN

*B. subtilis*, *A. pullulans*, dan *P. janczewskii* dapat digunakan sebagai agen pengkonversi xilan ampas singkong menjadi xilosa. Konsentrasi xilosa tertinggi dihasilkan oleh mikroba tunggal *P. janczewskii* sebesar 82,0 ppm. Penggunaan konsorsium dari ketiga mikroba ini tidak menghasilkan xilosa yang lebih tinggi, yang mengindikasikan bahwa ketiga mikroba ini tidak dapat bekerja secara sinergis dalam kultur simultan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aniriani, G.W. (2017). Ekstraksi xilan dan delignifikasi bagas (limbah pabrik gula). *Jurnal Enviscience*, 1(1), 7. <https://doi.org/10.30736/jev.v1i1.91>
- Aniriani, G.W., & Apriliani, N.F. (2017). Comparison of yield balance mass result of pretreatment three types of lignoselulosa waste in producing polysaccharide using chemical engineering. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(2),

- 136–142.  
<https://doi.org/10.35799/jis.17.2.2017.17348>
- Ardiansyah, Y.T., Mulyani, N.S., & Sarjono, P.R. (2014). Isolasi dan karakterisasi enzim xilanase dari *Bacillus subtilis* pada media nutrient broth dengan penambahan xilan hasil isolasi jerami padi. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17(3), 95–99.  
<https://doi.org/10.14710/jksa.17.3.95-99>
- Ariani, L.N., Estiasih, T., & Martati, E. (2017). Karakteristik sifat fisiko kimia ubi kayu berbasis kadar sianida. *Jurnal Teknologi Pertanian* 18(2), 119–128.  
<https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2017.018.02.12>
- Arini, N., Rizka, M.E.P., Safira, N.F., & Syifa, K.N. (2021). ‘Tinjauan Literatur: Imobilisasi Sel Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Xylanase’, (2001), pp. 1217–1225.
- Bankeeree, W., Lotrakul, P., Prasongsuk, S., Chaiareekij, S., Eveleigh, D.E., Kim, S. W., & Punnapayak, H. (2014). Effect of polyols on thermostability of xylanase from a tropical isolate of *Aureobasidium pullulans* and its application in prebleaching of rice straw pulp. *SpringerPlus*, 3(1), 1–11.  
<https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-37>
- Bansal, N., Soni, R., Janveja, C., & Soni, S.K. (2014). Production of xylanase-cellulase complex by *Bacillus subtilis* NS7 For the biodegradation of agro waste residues. *Lignocellulose Journal*, 1(3), 196–209.
- Bharathiraja, B., Sudharsanaa, T., Bharghavi, A., Sri Sowmeya, G., & Gopika, B. (2014). Insights on lignocellulosic pretreatments for biofuel production-SEM and reduction of lignin analysis’, *International Journal of ChemTech Research*, 6(9), 4334–4444.
- Datta, R. (1981). Acidogenic fermentation of lignocellulose—acid yield and conversion of components. *Biotechnology and Bioengineering*, 23(9), 2167–2170.  
<https://doi.org/10.1002/bit.260230921>
- Fairus, S., Ronny, K., Ridho, T., & Adhytia, S.N. (2016). Kajian pembuatan xilitol dari tongkol jagung melalui proses fermentasi. *Al-Kauniah Jurnal Biologi*, 6(2), 91–100.  
<https://doi.org/10.15408/kauniah.v6i2.2750>.
- Fawzya, Y.N., Rani, E.P., Wibowo, M., Ifah, M., & Gintung, P. (2013). Produksi dan karakterisasi xilanase dari isolat bakteri M-13.2a asal air laut Manado. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 8(1), 55.  
<https://doi.org/10.15578/jpbkp.v8i1.53>
- Firdausa, F.K., Santoso, A.B., & Handayani, W. (2017). Ekstraksi xilan dari limbah ampas singkong dan pemanfaatannya sebagai substrat endo-B-1,4-D-xilanase. *Berkala Sainstek*, 5(1), 50–54.  
<https://doi.org/10.19184/bst.v5i1.5376>
- Gautério, V.G., Matheus, C.V., Larissa, da Silva, G.G., Tamires, H., Ana, V.L.S., & Susana, J.K. (2018). Production of xylanolytic enzymes and xylooligosaccharides by *Aureobasidium pullulans* CCT 1261 in submerged cultivation. *Industrial Crops and Products*, 125, 335–345.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.011>
- Irfan, M., Asghar, U., Nadeem, M., Nelofer, R., & Syed, Q. (2016). Optimization of process parameters for xylanase production by *Bacillus* sp. in submerged fermentation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(2), 139–147.  
<https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.10.008>

- Isrami, F., & Aminin, A.L.N. (2014). Aktivitas selulase dan xilanase dari kompleks enzim. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17(2), 17–22.
- Jayus, Oslan, J., Barbara M., & Robert, J.S. (2005). Synthesis of extracellular (1→3)- and (1→6)- $\beta$ -glucanase activities in carbon limiting chemostat culture by the fungus *Acremonium* sp. IMI 383068. *Enzyme and Microbial Technology*, 36(5–6), 680–686. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.12.010>
- Jayus, J., Nafi', A., & Hanifa, A.S. (2019). Degradasi komponen selulosa, hemiselulosa, dan pati tepung kulit ubi kayu menjadi gula reduksi oleh *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 383068. *Jurnal Agroteknologi*, 13(01), 34–41. <https://doi.org/10.19184/j-agt.v13i01.7868>
- Kurnia, N., & Marwatoen, F. (2013). Penentuan kadar sianida daun singkong dengan variasi umur daun dan waktu pemetikan. *Hydrogen: Jurnal Kependidikan Kimia*, 1(2), 117–121. <https://doi.org/10.33394/hjkk.v1i2.636>
- Kusmiati, & Agustini, N.W.S. (2010). Pemanfaatan limbah onggok untuk produksi asam sitrat dengan penambahan mineral Fe dan Mg pada Substrat menggunakan kapang. *Seminar Nasional Biologi*, (September), pp. 856–866.
- Listyawati, A.F. (2018). Pola pertumbuhan *Pseudomonas* sp. dengan menggunakan variasi konsentrasi d-glukosa dalam media pertumbuhan terhadap waktu inkubasi. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 5(2), 29–32. <https://doi.org/10.30742/jikw.v5i2.339>
- Manitchotpisit, P., Leathers, T.D., Peterson, S.W., Kurtzman, C.P., Li, X.L., Eveleigh, D.E., Lotrakul, P., Prasongsuk, S., Dunlap, C.A., Vermillion, K.E., & Punnapayak, H. (2009). Multilocus phylogenetic analyses, pullulan production and xylanase activity of tropical isolates of *Aureobasidium pullulans*. *Mycological Research*, 113(10), 1107–1120. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2009.07.008>
- Mosier, N., Charles, W., Bruce, D., Richard, E., Lee, Y.Y., Mark, H., & Michael, L. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96(6), 673–686. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.025>
- Murthy, P.S., & Naidu, M.M. (2012). Production and application of xylanase from *Penicillium* sp. utilizing coffee by-products. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 657–664. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0331-7>
- Muawanah, Anshar, M., & Lisaholet, M. (2020). Perbandingan kadar sianida sebelum dan sesudah pengolahan pada singkong. *Jurnal Medika: Media Ilmiah Analisis Kesehatan*, 5(1), 2540–2549. DOI: 10.53861/jmed.v5i1.173
- Nasution, M.N., Feliatra, F., & Effendi, I. (2021). Analisis pertumbuhan protein sel tunggal (PST) bakteri *Bacillus cereus* dengan media yang berbeda. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 26(1), 47–53. <https://doi.org/10.31258/jpk.26.1.47-53>
- Pangesti, N.W.I., Pangastuti, A., & Retnaningtyas, E. (2012). Pengaruh penambahan molase pada produksi enzim xilanase oleh fungi *Aspergillus niger* dengan substrat jerami padi. *Bioteknologi*, 9(2), 41–48. <https://doi.org/10.13057/biotek/c090202>
- Polizeli, M.L.T.M., Rizzatti, A.C.S., Monti, R., Terenzi, H.F., Jorge, J.A., & Amorim,

- D.S. (2005). Xylanases from fungi: Properties and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67(5), 577–591. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-1904-7>
- Purnawan, A., Ahmad, T., Lutfi, N.K., & Urip, P. (2021). Review hidrolisis biomasa lignoselulosa untuk xilitol. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 19(3), 485–496. <https://doi.org/10.14710/jil.19.3.485-496>
- Ratnadewi, A.A.I., Agung, B.S., Erma, S., & Wuryanti, H. (2016). Application of cassava peel and waste as raw materials for xylooligosaccharide production using endoxylanase from *Bacillus subtilis* of soil termite abdomen. *Procedia Chemistry*, 18, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2016.01.007>
- Rattanachomsri, U., Sutipa, T., Lily, E., & Verawat, C. (2009). Simultaneous non-thermal saccharification of cassava pulp by multi-enzyme activity and ethanol fermentation by *Candida tropicalis*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 107(5), 488–493. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2008.12.024>
- Raveendran, S., Binod, P., Sabeela, B.U., Amith, A., Anil, K.M., Aravind, M., Sharrel, R., & Ashok, P. (2018). Applications of microbial enzymes in food industry. *Food Technology and Biotechnology*, 56(1), 16–30. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.01.18.5491>
- Retnoningtyas, E.S., Antaresti, & Aylianawati. (2013). Aplikasi crude enzim selulase dari tongkol jagung (*Zea mays* L.) pada produksi etanol dengan metode simultaneous saccharification and fermentation (SSF). *Reaktor*, 14(4), 272–276.
- Richana, N. (2002). Produksi dan prospek enzim xilanase dalam pengembangan bioindustri di Indonesia. *Buletin AgroBio*, 5(1), 29–36.
- Richana, N., Irawadi, T.T., Anwar, M.N., Illah, S., Khaswar, S., & Yandra, A. (2007). Ekstraksi xilan dari tongkol jagung. *Indonesian Journal of Agricultural Postharvest Research*, 4(1), 38–43. <https://doi.org/10.21082/jpasca.v4n1.2007.38-43>
- Richana, N., Irawadi, T.T., Anwar, M.N., & Khaswar, S. (2016). Isolasi identifikasi bakteri penghasil xilanase serta karakterisasi enzimnya. *Jurnal AgroBiogen*, 4(1), 24–34. <https://doi.org/10.21082/jbio.v4n1.2008.p24-34>
- Ruswandi, Budhi, O., & Azhar, M. (2018). Penentuan kadar fruktosa hasil hidrolisis inulin dengan DNS sebagai pengoksidasi. *Eksakta*, 19(1), 4–23. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol19-iss01/102>
- Solahuddin, Nisa, I.H., Rizqa, F.D., & Handa, M. (2021). Isolasi dan uji aktivitas enzim selulase dari rumen sapi (*Bibos javanicus*). *Journal of Science, Technology, and Entrepreneurship*, 3(1), 3–9.
- Sun, X.F., Sun, R.C., Tomkinson, J., & Baird, M.S. (2003). Preparation of sugarcane bagasse hemicellulosic succinates using NBS as a catalyst. *Carbohydrate Polymers*, 53(4), 483–495. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00150-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00150-4)
- Susilowati, P.E., Supto, R., Desi, K., Rahmawati, R., Sumarlin, & Ardiansyah. (2013). Produksi xilanase dari isolat sumber air panas sonai, Sulawesi Tenggara, menggunakan limbah

- pertanian. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(3), 199–204.  
<https://doi.org/10.31258/jnat.14.3.199-204>
- Sutrisno. (2006). Isolasi dan karakterisasi ekstrak kasar enzim xilanase dari *Aspergillus niger*. *Jurnal Kimia*, 12, 75–77.
- Terrasan, C.R.F., Beatriz, T., Marta, C.T.D., & Eleonora, C.C. (2010). Production of xylanolytic enzymes by *Penicillium janczewskii*. *Bioresource Technology*, 101(11), 4139–4143.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.011>
- Tihomirova, K., Dalecka, B., & Mezule, L. (2016). Application of conventional HPLC RI technique for sugar analysis in hydrolysed hay. *Agronomy Research*, 14(5), 1713–1719.
- Vilela, L. de F., de Araujo, V., Paredes, R. de S., Bon, E.P. da S., Torres, F.A.G.N., Bianca, C.E., & Elis, C.A. (2015). Enhanced xylose fermentation and ethanol production by engineered *Saccharomyces cerevisiae* strain. *AMB Express*, 5(1), 1–7.  
<https://doi.org/10.1186/s13568-015-0102-y>