

Pemanfaatan Biokatalisis Tongkol Jagung Menjadi Kandidat Prebiotik Xilo-Oligosakarida *Utilization of Corncob Bio-catalysis for Xylo-Oligosaccharide Prebiotic Candidate*

Utilization of Corn Cob Bioaclyalysis Becomes Prebiotic Candidate Xilo-Oligosaccharide Utilization of Corncob Bio-catalysis for Xylo-Oligosaccharide Prebiotic Candidate

Mamik Damayanti¹, Lailatul Fithri¹, Fatiha Khairunnisa^{1,2}, Shindy Purnamasari², Kartika Dwi Asni Putri¹, Frederick Budiman¹, Ni Nyoman Tri Puspaningsih^{1,2,*})

¹Proteomic Laboratory, University-CoE-Research Center for Bio-Molecule Engineering

²Departement of Chemistry, Faculty of Science and Technology Universitas Airlangga, Surabaya, 60115, Indonesia ¹

Abstrak Pembangunan Berkelanjutan/*Sustainable Development Goals* (SDGs) merupakan salah satu pembangunan yang menjaga kualitas lingkungan hidup, salah satunya adalah pemanfaatan biokatalisis tongkol jagung dalam biokonversi limbah berlignoselulosa. Hemiselulosa merupakan suatu heteropolimer yang jika terhidrolisis pada kondisi tertentu akan menghasilkan oligomernya yaitu oligosakarida. Beberapa oligosakarida dapat digunakan secara selektif sebagai probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan xilo-oligosakarida (XOS) dari tongkol jagung sebagai prebiotik dan memurnikan xilo-oligosakarida menggunakan *Candida guilliermondii*. XOS diperoleh dari hidrolisis tongkol jagung secara enzimatis menggunakan endo β -xilanase. Produk hidrolisis tongkol jagung dianalisis menggunakan KLT dan HPLC. XOS tongkol jagung kemudian dimurnikan dari monomer-monomernya menggunakan *Candida guilliermondii*. Hasil analisis menunjukkan bahwa hemiselulosa B memiliki kandungan xilo oligosakarida lebih besar daripada hemiselulosa A. 5% XOS yang diperoleh kemudian ditambahkan pada media tumbuh *Lactobacillus casei*. Media yang ditambahkan XOS menunjukkan peningkatan pertumbuhan yang signifikan dibandingkan medium tanpa XOS. Hal ini menunjukkan bahwa XOS berhasil difermentasi oleh *Lactobacillus casei* menghasilkan asam laktat dan SCFA (Short-Chain Fatty Acid). Hasil fermentasi dianalisis menggunakan GC untuk waktu pertumbuhan 12, 18, dan 24 jam. Konsentrasi Asam asetat, asam propionat dan asam butirat diperoleh masing masing sebesar 9,3229, 0,4039, dan 1,0769 mmol untuk XOS tongkol jagung.

Kata Kunci : *Hemiselulosa Tongkol Jagung, Xilo-oligosakarida, Prebiotik, Lactobacillus casei, Candida guilliermondii, KLT, HPLC.*

Abstract Sustainable Development Goals (SDGs) is a development goal that sustain environmental quality, i.e. utilization of corncob bio-catalysis in bio-conversion of lignocellulosic waste. Hemicellulose is a heteropolysaccharides that can be hydrolyzed, in such condition, to obtain its oligosaccharides. Some of oligosaccharides can be used selectively as prebiotic. This research aims to determine the ability of xylo-oligosaccharides from corn cobs as prebiotic and purify xylo-oligosaccharides using *Candida guilliermondii*. XOS is obtained

¹*Corresponding Author : ni-nyoman-t-p@fst.unair.ac.id

from enzymatic hydrolysis of corn cobs using endo- β xylanase. Corn cob hydrolysis products were analyzed using TLC and HPLC. XOS corn cobs is then purified from its monomers using *Candida guilliermondii*. The results shows that hemicellulose B has more xylo-oligosaccharides than hemicellulose A. Around 5% of XOS obtained is then added to *Lactobacillus casei* growth media. The modified media shows significant increasing of bacterial growth than the control media. This shows that XOS is successfully fermented by *Lactobacillus casei* and producing lactic acid and SCFA (short-Chain Fatty Acid). Fermented product is analyzed using GC method in growth period of 12, 18, and 24 hours. Acetic acid, Propionic acid and butyric acid concentration is 9,3229, 0,4039, and 1,0769 mmol from XOS corn cobs source.

Keywords : *Hemicellulose from corncob, endo- β -xylanase, Xilo-oligosaccharide, Prebiotic, Lactobacillus casei, Candida guilliermondii, TLC, HPLC.*

I. PENDAHULUAN

Sustainable Development Goals (SDGs)/Pembangunan Berkelanjutan merupakan suatu rencana aksi global yang disepakati oleh pemimpin-pemimpin di dunia, termasuk Indonesia. Sustainable Development Goals (SDGs) memiliki 17 tujuan yang salah satunya yakni menjaga kualitas lingkungan hidup. Permasalahan lingkungan hidup yang sering terjadi di Indonesia adalah kurangnya pemanfaatan hasil samping pertanian. Dewasa ini banyak berkembang industri pengolahan pangan yang berbasis pada komoditas lokal hasil pertanian selain padi, diantaranya gandum, jagung, pisang, kelapa sawit, singkong, ubi jalar dan sagu. Seiring berkembangnya industri tersebut maka jumlah limbah pertanian yang dihasilkan juga semakin meningkat. Limbah pertanian ini antara lain berupa jerami padi (54,66 juta ton), tandan kelapa sawit (100 juta ton), daun jagung, batang jagung, tongkol jagung (12,14 juta ton), daun kedelai (781 ribu ton), daun kacang tanah (18.541 ton), dan ubi kayu (468.950 ton) yang masih kaya akan kandungan lignoselulosa.

Setiap tahunnya limbah lignoselulosa yang dihasilkan sangat berlimpah mencapai 169 juta ton dan

kurang dimanfaatkan secara optimal. Sebagian besar limbah tersebut hanya dimusnahkan dengan pembakaran. Proses pembakaran yang berkelanjutan dapat mengakibatkan terakumulasinya CO₂ di udara yang berdampak pada pemanasan global. Jika dikaji lebih dalam, limbah lignoselulosa tersusun atas hemiselulosa, selulosa dan lignin memiliki potensi besar sebagai bahan baku berbagai industri. Disamping itu, fraksinasi limbah ini menjadi komponen penyusunnya akan meningkatkan pendayagunaan dalam berbagai industri. Diantara limbah lignoselulosa tersebut, yang belum dimanfaatkan secara optimal adalah tongkol jagung. Salah satu sasaran dalam pengembangan bioteknologi adalah merintis pemanfaatan mikroorganisme dalam biokonversi limbah salah satunya adalah pemanfaatan biokatalisis tongkol jagung dalam biokonversi limbah berlignoselulosa. Pemanfaatan limbah berlignoselulosa dengan menggunakan mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim ekstraseluler untuk mendegradasi bahan berlignoselulosa menjadi fraksi penyusunnya, misalkan enzim xilanase dapat menghidrolisis hemiselulosa menjadi xilosa dan xilooligosakarida, proses ini dapat diaplikasikan ke beberapa proses dan pemanfaatannya dalam industri.

Hemiselulosa merupakan suatu heteropolimer yang jika terhidrolisis pada kondisi tertentu akan menghasilkan oligomernya yaitu oligosakarida. Dalam perkembangan industri pengolahan pangan, oligosakarida banyak dimanfaatkan, salah satunya, sebagai bahan prebiotik. Prebiotik merupakan kelompok oligosakarida seperti rafinosa, *stakhios*, xilo-oligosakarida (XOS), galakto oligosakarida, frukto-oligosakarida (FOS), inulin, serta beberapa jenis peptida dari protein yang tidak dapat dicerna. Prebiotik biasa ditambahkan dalam makanan, susu dan produk sejenis.

Prebiotik secara alami terdapat pada biji-bijian, sayuran, dan buah-buahan serta akar tanaman, seperti *Chichorium intybus*, gandum utuh, bawang bombai, bawang putih, dan pisang. Prebiotik mempunyai peranan yang sangat penting karena berfungsi sebagai nutrisi bagi probiotik dalam usus. Kelompok probiotik antara lain *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, dan *Eubacterium*. Dalam usus juga terdapat bakteri patogen seperti *Eschericia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, yang dapat menghambat aktivitas probiotik. Bakteri-bakteri tersebut hidup dalam keseimbangan. Jika keseimbangan terganggu maka jumlah bakteri pathogen akan meningkat dan mengakibatkan sistem kekebalan tubuh menurun. Kestabilan flora usus dapat terganggu antara lain oleh antibiotika, infeksi bakteri dan virus, kemoterapi, pola makan, stres dan iklim. Probiotik mampu mencegah invasi bakteri patogen dan memproduksi antibiotika alami yang dapat membantu keutuhan mukosa usus, memperlancar proses metabolisme mineral terutama kalsium, serta meningkatkan kekebalan tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui

kemampuan xilo-oligosakarida (XOS) dari tongkol jagung sebagai prebiotik dan memurnikan xilo-oligosakarida menggunakan *Candida guilliermondii*. XOS diperoleh dari hidrolisis tongkol jagung secara enzimatik menggunakan endo- β -xilanase.

II. MATERI DAN METODE

Sampel Penelitian

- a. Tongkol jagung hibrida varietas pioner yang diperoleh dari Desa Mojodhuwur, Kediri Jawa Timur.
- b. Enzim endo- β -xilanase diisolasi dari sumber air panas Pacet yang merupakan koleksi Laboratorium Proteomik, PUI-PT Pusat Riset Rekayasa Molekul Hayati, Universitas Airlangga.
- c. Ragi *Candida guilliermondii* yang merupakan koleksi Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.
- d. *Lactobacillus casei* sebagai bakteri uji prebiotik yang diisolasi dari Yakult Indonesia (Zaenudin, 2007)

Bahan-bahan penelitian

Bahan yang digunakan antara lain NaOH, asam asetat, etanol 96%, tripton, *yeast extract*, NaCl, bacto-agar, Asam 3,5-DNS, amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄), natrium fosfat sekunder (Na₂HPO₄.7H₂O), asam sitrat monohidrat, pepton, dektrosa, dipotasium hidrogen fosfat, natrium asetat, triamonium sitrat, MgSO₄.7H₂O, MnSO₄.4H₂O. Semua bahan yang digunakan mempunyai derajat kemurnian pro analisis (p.a).

Isolasi hemiselulosa

Tongkol jagung dipotong-potong lalu dikeringkan dengan dijemur di bawah sinar matahari hingga kering, kemudian digiling menjadi serbuk. Serbuk tongkol

jagung ditimbang 5 gram, dimasukkan ke dalam labu alas bulat leher dua yang sudah berisi larutan NaOH 4,0 M sebanyak 100 ml dan pengaduk magnetik. Labu alas bulat dilengkapi dengan termometer dan pendingin balik. Waktu pemasakan selama 2 jam. Setelah pengolahan selesai, didinginkan, kemudian disaring dengan corong Buchner. Filtratnya diasamkan dengan asam asetat 4 N sampai pH 5,5- 6,0 untuk mengendapkan hemiselulosa A, kemudian disentrifugasi (10.000 rpm, 20 menit) untuk memisahkan endapannya. Endapan yang diperoleh dicuci dengan aquades untuk menghilangkan sisa NaOH yang ikut mengendap. Kemudian endapan tersebut di-*freeze-dried* untuk mendapatkan hemiselulosa A yang bebas air. Sementara filtratnya dicuci dengan etanol 96% untuk mengendapkan hemiselulosa B, kemudian disentrifugasi dan filtrat yang didapatkan kemudian di-*freeze-dried* untuk mendapatkan hemiselulosa B.

Produksi enzim xilanase

Media inokulum merupakan media cair LB. Inokulum dibuat dengan menginokulasikan biakan bakteri *Bacillus subtilis* PC-01 ke dalam 10 ml media inokulum yang telah dibuat. Biakan diinokulasikan dalam *shaker incubator* pada suhu 50⁰C dengan kecepatan 150 rpm selama ± 18 jam. Sebanyak 1 % biakan inokulum dimasukkan kedalam 1000 mL media produksi. Biakan diinkubasi dengan kondisi seperti di atas. Sel dipanen setelah ± 18 jam pertumbuhan dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan merupakan ekstrak enzim xilanase.

Pengendapan enzim xilanase dengan amonium sulfat (*Salting Out*)

Kedalam 1000 ml larutan ekstrak kasar enzim dalam gelas beker dimasukkan 310 gram amonium sulfat secara perlahan sambil diaduk dengan pengaduk magnetik sampai kadar ammonium sulfat mencapai persentase kejenuhan 60%. Gelas beker direndam dalam penangas es selama proses pengadukan berlangsung. Tabel kejenuhan amonium sulfat yang digunakan berdasarkan tabel kejenuhan amonium sulfat (Scopes, 1987). Penghitungan jumlah amonium sulfat untuk mencapai persentase kejenuhan tertentu terdapat pada lampiran 1. Proses pengadukan berlangsung selama 30 menit, kemudian disimpan dalam lemari es selama 12 jam. Setelah 12 jam, larutan campuran enzim dan amonium sulfat disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 6000 rpm pada suhu 4⁰C. Pelet diambil dan dilarutkan dalam buffer fosfat sitrat 100 mM pH 5, kemudian didialisis.

Dialisis

Dialisis dilakukan dengan cara memasukkan enzim ke dalam tabung selofan yang salah satu lubangnya telah disimpul. Setelah setengah dari volume tabung terisi oleh larutan enzim, kemudian ujung yang lain dari tabung diikat dengan kuat. Tabung selofan yang berisi enzim tersebut kemudian direndam dalam buffer fosfat sitrat 50 mM pH 5 sambil diaduk perlahan dengan pengaduk magnetik dan diletakkan dalam penangas es. Dialisis dilakukan sampai fraksi enzim terbebas dari amonium sulfat dan dilakukan penggantian buffer setiap 4 jam, 12 jam dan 24 jam. Proses dialisis selesai ditandai dengan tidak terbentuknya endapan putih saat penambahan larutan BaCl₂ kedalam

bufer. Setelah proses dialisis selesai, larutan enzim dikeluarkan dari tabung selofan kemudian diukur volumenya dan diuji aktivitasnya.

Uji aktivitas enzim xilanase

Aktivitas enzim xilanase ditentukan dengan mengukur banyaknya gula pereduksi yang dihasilkan dari hidrolisis substrat hemiselulosa A. Sebanyak 100 µl substrat dan 100 µl enzim diinkubasi pada suhu 60 °C selama 1 jam. Hasil inkubasi ditambah 600 µl pereaksi DNS, dimasukkan dalam penangas air mendidih dan dipanaskan selama 15 menit bersama-sama dengan kontrol, kemudian segera didinginkan dalam air es selama 20 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang (λ) 550 nm. Kontrol yang digunakan 100 µl enzim, 100 µl substrat dan 600 µl pereaksi DNS diperlakukan sama dengan kondisi di atas tetapi tanpa diinkubasi. Standar xilosa dibuat pada kisaran 0,15-0,50 mg xilosa/ml dari stok xilosa 10 mg/ml. Masing-masing 1 ml larutan standar dicampur dengan 1 ml aquades, kemudian ditambah 3 ml pereaksi DNS dan dikocok kuat.

Tabung dimasukkan dalam penangas air mendidih dan dipanaskan selama 15 menit, kemudian segera didinginkan dalam air es selama 20 menit. Absorbansi dibaca pada λ 550 nm. Blanko digunakan dengan mengganti xilosa dengan aquades.

Hidrolisis hemiselulosa secara enzimatis

Sampel hemiselulosa A dan B hasil isolasi ditambah dengan enzim xilanase dengan perbandingan substrat : enzim = 1 : 1 (volume). Hidrolisis dilakukan pada suhu 70 °C dengan waktu inkubasi selama 24 jam.

Pemurnian xilo-oligosakarida dengan *Candida guilliermondii*

Candida guilliermondii ditumbuhkan dalam media yang mengandung larutan xilo oligosakarida hasil hidrólisis tongkol jagung, pepton 0,3%, yeast extract 0,1%, KH₂PO₄ dan MgSO₄.7H₂O secara aerob pada suhu 30°C selama 3 hari. Setelah 3 hari, dilanjutkan dengan sentrifugasi. Supernatan yang didapatkan mengandung xilo-oligosakarida. Komposisi oligosakarida ini kemudian dianalisis dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dan HPLC.

Analisis produk pemurnian dengan Kromatografi Lapis Tipis

Jumlah komponen senyawa oligosakarida yang terdapat dalam produk hidrolisis, dianalisis dengan Kromatografi Lapis Tipis dengan berbagai macam perbandingan eluen. Eluen yang digunakan adalah propanol : CH₃CN : air (5 : 3 : 2) atau propanol : air : ammonia (70 : 29 : 1) atau juga n-butanol : asam asetat : air (2 : 1 : 1) yang memberikan pemisahan terbaik dan eluen ini digunakan sebagai monitor dalam proses pemisahan selanjutnya. Jika dengan eluen berbeda, muncul spot yang sama pada kromatogram maka semakin murni hasilnya. Oligosakarida bukan merupakan senyawa UV aktif sehingga diperlukan penampak noda. Penampak noda yang digunakan adalah asam sulfat : metanol : air (1:9:10). Setelah disemprot dengan penampak noda, kemudian dikeringkan dan dipanaskan di atas *hotplate* pada suhu 80-100°C setelah itu diamati warnanya. Warna yang terbentuk adalah dari ungu hingga kecoklatan.

Uji pengaruh xilo-oligosakarida terhadap *Lactobacillus casei*

Media dasar yang digunakan adalah MRSB (deMan, Rogosa, Sharpe Broth) volume 10 ml. Media uji *lactobacillus casei* dibuat menjadi 4 variasi, yakni kontrol, media yang ditambahkan xilo-oligosakarida standar, media ditambahkan xilo-oligosakarida dari hemi A dan media yang ditambahkan xilo-oligosakarida dari hemi B. Konsentrasi xilo-oligosakarida yang ditambahkan pada masing-masing variasi media adalah 5%.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas enzim xilanase

Tahap awal pada produksi enzim ini adalah peremajaan biakan dengan menumbuhkan koloni bakteri pada media padat, kemudian satu koloni bakteri diinokulasi pada media cair LB. Biakan diinokulasikan dalam *shaker incubator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 150 rpm selama ±18 jam. Sebanyak satu persen biakan inokulum tersebut dimasukkan kedalam media produksi dan selanjutnya diinkubasi dengan kondisi seperti di atas. Sel dipanen setelah 18 jam pertumbuhan dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan merupakan ekstrak enzim xilanase.

Setelah didapatkan enzim xilanase, maka perlu diketahui aktivitas enzim tersebut. Aktivitas enzim xilanase ditentukan dengan mengukur banyaknya gula pereduksi yang dihasilkan dari hidrolisis substrat *oat spelt-xylan*. Substrat yang terhidrolisis dapat diketahui dari perubahan warnanya dan nilai absorbansinya pada $\lambda 550$ nm. Gula pereduksi yang dihasilkan adalah xilosa. Pereaksi yang digunakan untuk

mengetahui adanya gula pereduksi adalah asam 3,5-dinitrosalisilat. Pereaksi ini akan mengalami reduksi menjadi asam 3-amino-5-nitrosalisilat, sehingga terjadi perubahan warna dari kuning menjadi coklat. Untuk mengetahui kadar gula pereduksi hasil hidrolisis enzimatik, maka dilakukan pengukuran absorbansi terhadap standar xilosa pada $\lambda 550$ nm. Dari hasil pengukuran, diperoleh aktivitas enzim xilanase sebesar 0,113 U/ml. Data ini menunjukkan setiap 1 ml enzim xilanase menghasilkan 0,113 μ mol xilosa per menit.

Pemurnian Enzim Xilanase

Pengendapan enzim xilanase dengan amonium sulfat

Ekstrak kasar enzim xilanase merupakan campuran dari enzim dan protein lain yang tidak terendapkan dengan sentrifugasi, sehingga perlu dilakukan pemurnian parsial terhadap ekstrak kasar ini. Pengendapan ekstrak kasar dilakukan terlebih dahulu sebagai tahap awal dalam pemurnian enzim xilanase untuk memisahkan protein-protein lain yang terdapat dalam ekstrak kasar enzim, akibatnya aktivitas enzim xilanase yang terdeteksi akan memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibanding ekstrak kasarnya. Pemekatan dapat dilakukan dengan garam amonium sulfat (Scopes, 1987). Penambahan amonium sulfat ke dalam larutan protein akan menarik molekul air yang pada awalnya melindungi permukaan molekul protein, akibatnya setiap protein akan mengendap pada kejenuhan amonium sulfat yang berbeda dan akan terjadi fraksinasi protein. Pengendapan dengan amonium sulfat dilakukan dengan cara menambahkan sedikit demi sedikit amonium sulfat kedalam larutan enzim dengan pengadukan. Pengadukan dilakukan menggunakan pengaduk magnet

dengan kecepatan lambat agar tidak terjadi pembusaan. Pengadukan dimaksudkan untuk meningkatkan kontak antara garam dengan air, sehingga terjadi pengendapan enzim. Adanya garam amonium sulfat berfungsi untuk menarik air yang terjebak pada daerah hidrofob, sehingga memungkinkan terjadinya interaksi intermolekuler pada daerah-daerah tersebut. Hal ini menyebabkan terjadinya agregasi pada molekul-molekul enzim sehingga enzim tersebut akan mengendap. Pengendapan ekstrak kasar enzim xilanase dengan amonium sulfat dilakukan pada pengendapan 60 % kejenuhan amonium sulfat, hal ini berdasarkan penelitian sebelumnya (*Purwani, 2006*). Selanjutnya hasil pengendapan amonium sulfat disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm pada suhu 4°C sehingga diperoleh larutan filtrat dan pelet. Pelet yang dihasilkan merupakan enzim xilanase, sedangkan filtratnya merupakan media cair dari enzim. Kemudian pelet tersebut dilarutkan dalam bufer PC 100 mM pH 5. Aktivitas enzim tersebut selanjutnya turun secara perlahan, hal ini karena enzim telah jenuh dengan amonium sulfat.

Dialisis

Hasil pengendapan enzim dengan amonium sulfat kemudian didialisis dalam buffer PC 50 mM pH 5 dengan menggunakan tabung selofan. Dialisis ini dimaksudkan untuk mengeluarkan garam amonium sulfat atau partikel kecil lainnya yang terdapat dalam larutan enzim yang dapat mengganggu aktivitas enzim xilanase. Pada proses dialisis ini tabung selofan akan menahan enzim xilanase yang merupakan protein dengan berat molekul tinggi, sedangkan partikel amonium sulfat yang berat molekulnya rendah dapat keluar dari

tabung selofan dan digantikan oleh bufer PC

Sehingga enzim xilanase terbebas dari amonium sulfat. Amonium sulfat yang terbebas dari tabung selofan diuji dengan larutan BaCl₂ dan akan membentuk BaSO₄ yang merupakan endapan putih. Dialisis dilakukan sampai fraksi enzim bebas amonium sulfat dan dilakukan penggantian bufer PC setiap 4 jam, 8 jam, 12 jam dan 24 jam. Proses dialisis selesai apabila fraksi enzim telah bebas dari amonium sulfat yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan putih ketika larutan buffer ditetesi larutan BaCl₂. Setelah proses dialisis selesai, larutan enzim dikeluarkan dari tabung selofan dan diperoleh enzim xilanase sebesar 15 ml untuk 1 liter media produksi. Aktivitas xilanase total setelah dilakukan pengendapan amonium sulfat dan dialisis sebesar 0,199 U/ml. Dengan demikian aktivitas enzim setelah pemurnian meningkat dari 0,113 U/ml menjadi 0,199 U/ml.

Isolasi Hemiselulosa dari Tongkol Jagung

Tahap awal isolasi tongkol jagung adalah mengolah limbah pertanian tersebut menjadi bentuk serbuk dengan menggunakan alat giling yang mempunyai ukuran pori terkecil. Serbuk tongkol jagung tersebut kemudian direfluks menggunakan larutan NaOH dengan konsentrasi 4M selama 2 jam. Pengolahan dengan larutan NaOH bertujuan untuk memisahkan hemiselulosa dan selulosa. Selama proses refluks berlangsung, suhu pemasakan dibiarkan maksimum. Suhu maksimum dapat tercapai pada saat larutan NaOH mencapai titik didihnya. Titik didih larutan NaOH dipengaruhi oleh konsentrasi larutannya, semakin tinggi

konsentrasi NaOH maka semakin tinggi suhu yang dihasilkan.

Setelah proses refluks, campuran disaring dan ke dalam filtrat ditambahkan larutan asam asetat 4N sampai pH 5,5-6,0. Penambahan asam asetat tersebut bertujuan untuk menetralkan campuran tersebut dan mengendapkan hemiselulosa A (hemi A), kemudian hemiselulosa yang didapat dicuci dengan aquades untuk menghilangkan sisa larutan NaOH yang masih ada. Sisa filtrat kemudian ditambahkan dengan etanol 95% untuk mendapatkan hemiselulosa B (hemi B), dan dibiarkan selama ± 24 jam untuk memperbanyak endapan hemiselulosa. Hemiselulosa B yang dihasilkan dicuci dengan etanol 96% untuk menghilangkan pengotor-pengotornya.

Hemiselulosa yang dihasilkan berbentuk serbuk dengan warna coklat muda sampai hitam. Serbuk hemi A berwarna lebih muda dari serbuk hemi B. Serbuk hemi A yang didapatkan sebesar 7,6 gram dan hemi B sebesar 6,4 gram.

Hidrolisis Hemiselulosa secara Enzimatis

Setelah aktivitas enzim xilanase diketahui, maka dapat dilakukan hidrolisis terhadap hemiselulosa. Hidrolisis hemiselulosa secara enzimatis mempunyai sifat yang spesifik. Hidrolisis hemiselulosa dilakukan pada suhu 70°C selama 24 jam. Hemiselulosa yang dihidrolisis adalah hemiselulosa A dan hemiselulosa B. Hasil hidrolisis hemiselulosa kemudian dianalisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan HPLC.

Kelompok enzim xilanolitik dapat menghidrolisis hemiselulosa karena xilan merupakan penyusun hemiselulosa. Enzim xilanolitik ini menghidrolisis

ikatan glikosida pada $\beta - 1,4 - D -$ xilopiranososa, $\alpha - 1,3 - L$ -arabinofuranosa sehingga menghasilkan monomer-monomer xilosa dan arabinosa. Xilo-oligosakarida dihasilkan karena adanya aktivitas enzim endo-xilanase yang memutus ikatan glikosida pada hemiselulosa secara acak (*Puspaningsih, 2004*).

Analisis Hasil Hidrolisis Hemiselulosa Analisis KLT

Xilo-oligosakarida dan monomer-monomer gula hasil hidrolisis hemiselulosa A dan B dari tongkol jagung secara enzimatis dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Eluen yang digunakan adalah butanol : asam asetat : air (2 : 1 :1), karena dapat memberikan pemisahan yang terbaik (*Tjahjandarie, 2006*). Oligosakarida bukan merupakan senyawa UV aktif karena tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi, sehingga dalam analisisnya diperlukan penampak noda. Penampak noda yang digunakan adalah asam sulfat dalam metanol dengan perbandingan asam sulfat : metanol :air (1 :9 :10). Selanjutnya pelat KLT dipanaskan dan diperoleh spot berwarna gelap (ungu sampai kecoklatan) yang berarti positif terdapat xilo-oligosakarida dan monomer monomer gula. Dalam analisis KLT, senyawa xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemiselulosa A dan B dibandingkan dengan xilo-oligosakarida standar. Dari hasil analisis KLT, diperoleh bahwa xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemiselulosa B memiliki derajat polimerisasi (DP) lebih tinggi dibandingkan dengan xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemiselulosa A. Hal ini didasarkan pada hasil spot KLT dimana

xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemiselulosa A mempunyai harga Rf yang lebih tinggi dibandingkan dengan hemiselulosa B. Semakin tinggi harga Rf spot xilo oligosakarida maka semakin rendah derajat polimerisasi (DP) xilo-oligosakarida, sedangkan pada pelat KLT tampak spot yang mempunyai Rf tertinggi merupakan spot untuk monomer-monomer gula. Hasil analisis KLT untuk senyawa xilo-oligosakarida dari hemiselulosa A dan B dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Hasil analisis KLT senyawa xilooligosakarida dari Hemi A dan B

Uji Xilo-oligosakarida sebagai Prebiotik pada *Lactobacillus casei*

Hasil hidrolisis hemiselulosa A dan B secara enzimatik yang berupa xilo-oligosakarida kemudian diujikan pada *Lactobacillus casei* yang merupakan probiotik. Pada tahapan ini, media tumbuh *Lactobacillus casei* ditambahkan dengan xilo-oligosakarida dari hemi A, xilo oligosakarida dari hemi B dan xilo-oligosakarida standar. Pertumbuhan *Lactobacillus casei* pada masing-masing media tumbuh diamati dengan cara menghitung jumlah koloni yang tumbuh setelah proses inkubasi dalam beberapa variasi waktu yakni 6, 12, 18 dan 24 jam (Zaenudin, 2004). Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan jumlah koloni pada media kontrol yakni media tanpa penambahan xilo-oligosakarida. Jumlah sel *Lactobacillus casei* dinyatakan dalam *colony forming unit* (CFU/mL). Jumlah koloni bakteri yang dihitung adalah koloni bakteri dalam plate dengan jumlah koloni 30-300. Data jumlah sel *Lactobacillus casei* dalam beberapa variasi waktu inkubasi dan media tumbuh dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Jumlah sel *Lactobasillus casei* (CFU/ml) dalam beberapa variasi waktu inkubasi dan media tumbuh

Waktu Inkubasi	Kontrol		XOS		XA		XB	
	CFU/ml	log (CFU/ml)	CFU/ml	log CFU/ml	CFU/ml	log CFU/ml	CFU/ml	log CFU/ml
6 jam	2,49. 10 ⁷	7,397	3,96.10 ⁷	7,597	3,99.10 ⁷	7,601	4,37.10 ⁷	7,637
12 jam	3,19. 10 ⁸	8,503	2,46.10 ⁷	9,391	2,55.10 ⁹	9,407	2,75.10 ⁹	9,439
18 jam	2,81. 10 ⁹	9,449	4,40.10 ⁷	9,643	4,43.10 ⁹	9,646	4,67.10 ⁹	9,669
24 jam	2,10. 10 ⁹	9,332	2,94.10 ¹²	12,468	3,05.10 ¹²	12,484	3,20.10 ¹²	12,505

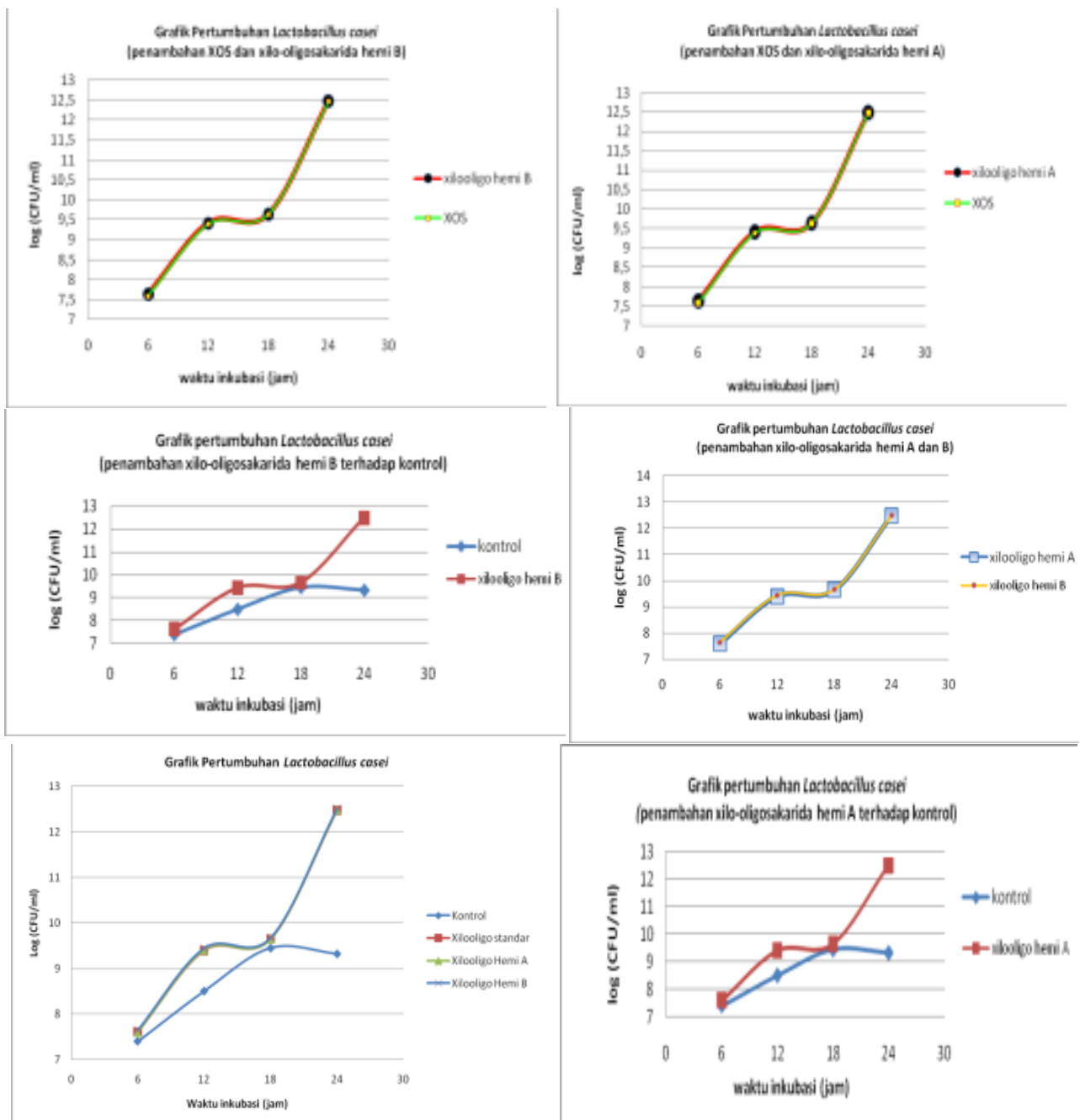
Keterangan:

Kontrol : Media tumbuh *L casei* tanpa penambahan xilo-oligosakarida

XOS : Media tumbuh *L casei* + xilo-oligosakarida standar

XA : Media tumbuh *L casei* + xilo-oligosakarida dari hemi A

XB : Media tumbuh *L casei* + xilo-oligosakarida dari hemi B



Gambar 2. Grafik pertumbuhan *Lactobacillus casei*

Dari grafik tersebut, terlihat pertumbuhan *Lactobacillus casei* pada media yang ditambahkan xilo-oligosakarida standar, xilo-oligosakarida dari hemi A dan xilo-oligosakarida dari hemi B lebih meningkat dibandingkan dengan kontrol. Pada media kontrol,

sumber karbon yang digunakan untuk proses fermentasi *Lactobacillus casei* hanya berasal dari glukosa yang terkandung dalam media pertumbuhan (MRSB) sehingga setelah inkubasi selama 18 jam bakteri mulai masuk dalam fase stasioner dan mati. Pada media uji, yakni media tumbuh yang ditambahkan xilo-

oligosakarida baik standar, dari hemi A dan hemi B, pertumbuhan *Lactobacillus casei* cenderung meningkat setelah inkubasi 24 jam. Hal ini berbeda dengan pertumbuhannya pada media kontrol. Pada media uji, sumber karbon yang tersedia adalah glukosa yang berasal dari media MRSB dan xilo-oligosakarida yang ditambahkan pada media. Pada saat inkubasi selama 12 jam, *Lactobacillus casei* menggunakan glukosa terlebih dahulu dalam metabolismenya dibanding xilo-oligosakarida. Hal ini terjadi karena ukuran glukosa lebih kecil dibanding xilo-oligosakarida sehingga dapat langsung dimanfaatkan untuk metabolisme. Sementara pada saat inkubasi selama 18 jam, pertumbuhan *Lactobacillus casei* terlihat tetap tidak meningkat maupun menurun. Hal ini terjadi karena kuantitas glukosa dalam sel menurun sehingga kuantitas dari cAMP meningkat dan dapat berasosiasi dengan CAP membentuk cAMP-CAP. cAMP-CAP ini berperan sebagai aktivator enzim transkriptase. cAMP-CAP akan berikatan dengan RNAPolimerase kemudian berikatan dengan promotor sehingga xilanase dapat terekspresi. Selain itu adanya xilo-oligosakarida dalam media tumbuh berfungsi sebagai inducer yang dapat mengikat represor sehingga ekspresi gen dapat berjalan (terjadi sintesis xilanase). Dari sini akan terjadi induksi oleh xilo-oligosakarida, dimana xilo-oligosakarida yang masuk ke dalam sel akan didegradasi oleh enzim β -xilosidase menjadi xilosa. Xilosa yang dihasilkan ini akan digunakan sebagai sumber karbon dalam proses metabolisme *Lactobacillus casei*. Hal ini dapat dilihat pada grafik pertumbuhan, dimana pada saat inkubasi 24 jam pertumbuhan *Lactobacillus casei* mengalami peningkatan, berbeda dengan

pertumbuhan *Lactobacillus casei* pada media kontrol.

Lactobacillus casei merupakan kelompok spesies bakteri asam laktat heterofermentatif fakultatif ('kelompok II') yang dapat memproduksi asam laktat dari gula heksosa melalui *Embden Meyerhof pathway* dan gula pentosa melalui *phosphoketolase pathway*. Glukosa (gula heksosa) yang berasal dari media tumbuh MRSB akan dimetabolisme menjadi asam laktat melalui *Embden Meyerhof pathway* sedangkan xilosa hasil degradasi xilo-oligosakarida oleh enzim β -xilosidase akan dimetabolisme melalui *phosphoketolase pathway*. Namun sebelum memasuki jalur ini xilosa yang merupakan gula pentosa terlebih dahulu dikonversi menjadi heksosa melalui jalur pentosa fosfat. Bakteri patogen tidak mampu mendegradasi xilo-oligosakarida karena molekulnya terlalu besar. Dinding sel bakteri patogen berbeda dengan probiotik, bakteri patogen memiliki LPS (lipopolisakarida) atau endotoksin pada dinding selnya sehingga dapat menghalangi molekul besar untuk masuk kedalamnya (Todar, 2006). Dengan demikian, penambahan xilo-oligosakarida dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. *Lactobacillus casei* yang merupakan bakteri asam laktat jenis heterofermentatif mampu menghasilkan asam laktat sebagai produk mayor dan SCFA (Short-chain Fatty Acid) seperti asam asetat, asam propionat dan asam butirat. Keberadaan SCFA dalam larutan hasil fermentasi *Lactobacillus casei* diidentifikasi dengan menggunakan *Gas Chromatography* (GC). Hasil analisis SCFA dengan GC.

Tabel 2. Hasil analisis larutan hasil fermentasi *Lactobacillus casei* pada beberapa variasi waktu inkubasi dan media tumbuh

Sampel	Waktu inkubasi	S C F A (Mmol)		
		Asam asetat	Asam propionat	Asam butirat
Kontrol	12 jam	11,0993	0,0217	0,0231
	18 jam	11,9955	-	0,0209
	24 jam	10,0497	0,0115	0,0234
XOS	12 jam	10,1767	0,1916	2,4179
	18 jam	15,4743	0,2939	0,0200
	24 jam	18,506	0,2541	-
XA	12 jam	9,3229	0,4039	1,0769
	18 jam	13,5451	-	0,0316
	24 jam	14,2178	-	-

Keterangan:

- Kontrol : Media tumbuh *L casei* tanpa penambahan xilo-oligosakarida
- XOS : Media tumbuh *L casei* + xilo-oligosakarida standar
- XA : Media tumbuh *L casei* + xilo-oligosakarida dari hemi A

Keberadan SCFA dalam larutan hasil fermentasi *Lactobacillus casei* juga dibuktikan dengan adanya penurunan pH sebagai berikut:

Tabel 3. Rata-rata pH larutan hasil fermentasi *Lactobacillus casei* pada beberapa variasi waktu inkubasi dan media tumbuh

Waktu inkubasi	pH		
	Kontrol	XOS	XA
6 jam	6	6	6
12 jam	5	4,8	4,8
18 jam	4,5	4	4
24 jam	4	3,8	3,8

Dari data rata-rata pH, dapat dibuktikan bahwa keberadaan SCFA dalam larutan hasil fermentasi *Lactobacillus casei* menurunkan pH secara ekstrim dari pH awal inkubasi yakni 7. Penurunan pH yang sangat ekstrim ini dapat mengakibatkan bakteri patogen mati karena pada umumnya bakteri patogen hidup pada pH netral. Dengan demikian dapat diasumsikan bahwa xilo-oligosakarida dapat meningkatkan pertumbuhan probiotik, menghambat pertumbuhan bakteri patogen sekaligus mematikan bakteri patogen.

Pemurnian Xilo-oligosakarida dengan *Candida guilliermondii*

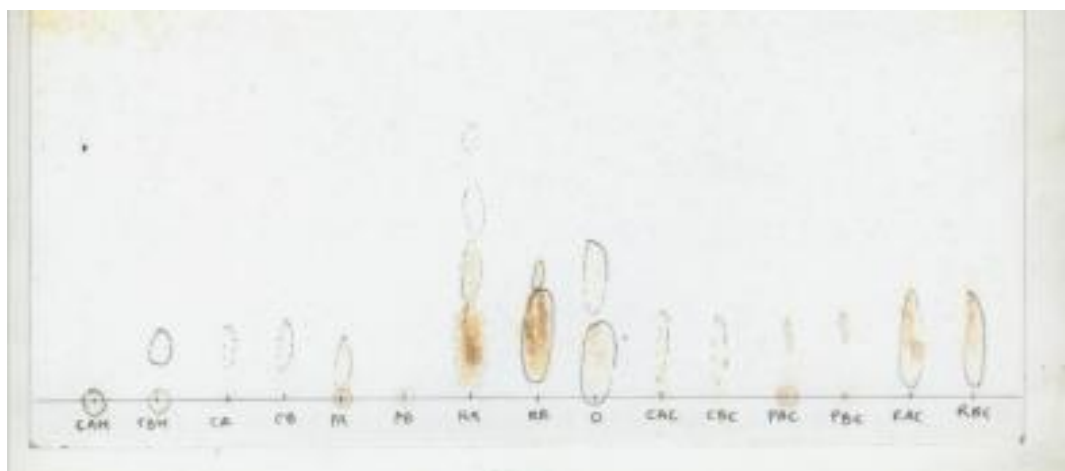
Candida guilliermondii merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel, baik dalam suasana anaerob maupun aerob. Proses peragian (fermentasi) pada *Candida guilliermondii* berlangsung secara aerob maupun anaerob. Karbohidrat sederhana yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob. Tahap awal pada pemurnian xilo-oligosakarida ini adalah peremajaan biakan *Candida guilliermondii* dengan menumbuhkan *Candida guilliermondii* pada media padat Sabaroud Dextrose Agar (SDA). Kemudian satu koloni *Candida guilliermondii* ditumbuhkan dalam media cair yang ditambahkan 1 ml xilo-oligosakarida selama 3 hari pada suhu 30 °C. Selanjutnya, media cair tersebut disentrifugasi dan dihasilkan pelet yang merupakan sel dari *Candida guilliermondii* dan supernatan yang mengandung xilo-oligosakarida yang terpisah dari monomer-monomer gula. *Candida guilliermondii* mampu

memetabolisme monomer-monomer gula xilobiose dan xilotriose menjadi CO₂ dan H₂O, sedangkan untuk xilo-oligosakarida dengan derajat polimerisasi lebih besardari 3 tidak dapat dimetabolisme oleh *Candida guilliermondii* (Yoshida, 1990). Hasil pemurnian xilo-oligosakarida menggunakan *Candida guilliermondii* kemudian diidentifikasi menggunakan KLT dan HPLC.

Analisis hasil pemurnian menggunakan KLT

Pada analisis hasil pemurnian xilo-oligosakarida dengan *Candida guilliermondii* menggunakan KLT, diperoleh spot dengan harga R_f rendah yang merupakan spot dari xilo oligosakarida dan spot monomer-monomer gula yang berada di sekitar batas atas pelat KLT. Setelah proses pemurnian dengan *Candida guilliermondii*, spot monomer-monomer gula tidak tampak lagi pada plat KLT. Pada xilo-oligosakarida hasil hidrolisis tongkol jagung hanya tampak 1 spot xilo-oligosakarida pada plat KLT dan spot ini juga terlihat pada hasil pemurnian xilo oligosakarida dengan *Candida*

guilliermondii. Spot xilo-oligosakarida ini jika dibandingkan dengan spot xilo-oligosakarida standar, merupakan xilotetraosa yang tidak mampu dimetabolisme oleh *Candida guilliermondii*. Spot xilobiose dan xilotriose pada xilo-oligosakarida hasil hidrolisis tongkol jagung tidak terlalu tampak jelas pada plat, sehingga tidak dapat dibedakan antara spot xilobiose dan xilotriose sebelum dan sesudah pemurnian. Hal ini disebabkan xilo-oligosakarida hasil hidrolisis tongkol jagung kuantitasnya sedikit dan derajat polimerisasinya rendah dibawah 4 sehingga dapat termetabolisme oleh *Candida guilliermondii*. Analisis KLT ini belum dapat membuktikan kemampuan *Candida guilliermondii* dalam hal metabolisme xilobiose dan xilotriose. Oleh karena itu perlu dilakukan analisis KLT terhadap pemurnian xilo-oligosakarida dengan *Candida guilliermondii* pada xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi A dan B dari sumber limbah pertanian lain yang kaya akan hemiselulosa dengan kandungan xilo-oligosakarida yang lebih tinggi dari tongkol jagung.



Gambar 3. Hasil analisis KLT terhadap xilo-oligosakarida sebelum dan sesudah dimurnikan dengan *Candida guilliermondii*

Keterangan :

CAH : Hemi A dari tongkol jagung tanpa hidrolisis enzimatis

- CBH : Hemi B dari tongkol jagung tanpa hidrolisis enzimatis
- CA : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi A tongkol jagung (24 jam)
- CB : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi B tongkol jagung (24 jam)
- PA : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi A batang kelapa sawit (24 jam)
- PB : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi B batang kelapa sawit (24 jam)
- RA : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi A jerami padi (24 jam)
- RB : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi B jerami padi (24 jam)
- O : xilo-oligosakarida standar
- CAC : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi A tongkol jagung (24 jam) setelah pemurnian dengan *Candida guilliermondii*
- CBC : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi B tongkol jagung (24 jam) setelah pemurnian dengan *Candida guilliermondii*
- PAC : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi A batang kelapa sawit (24 jam) setelah pemurnian dengan *Candida guilliermondii*
- PBC : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi B batang kelapa sawit (24 jam) setelah pemurnian dengan *Candida guilliermondii*
- RAC : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi A jerami padi (24 jam) setelah pemurnian dengan *Candida guilliermondii*
- RBC : xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi B jerami padi (24 jam) setelah pemurnian dengan *Candida guilliermondii*

Sumber hemiselulosa lain yang digunakan pada penelitian ini adalah jerami padi dan batang kelapa sawit. Proses hidrolisis Hemiselulosa dari jerami padi dan batang kelapa sawit dilakukan secara enzimatis sesuai dengan prosedur hidrolisis dari limbah tongkol jagung seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Masing-masing xilo-oligosakarida dari hasil hidrolisis Hemi A dan B limbah jerami padi dan batang kelapa sawit dimurnikan dengan *Candida guilliermondii*. Hasil pemurnian pada xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi A dan B tersebut kemudian dianalisis dengan KLT dan dibandingkan dengan xilo-oligosakarida sebelum dimurnikan. Berdasarkan spot pada pelat KLT, xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemi A dan B dari jerami padi menghasilkan xilo-oligosakarida dengan 4 spot variasi derajat polimerisasi (DP). Setelah dibandingkan dengan xilo-oligosakarida standar yang mempunyai variasi derajat polimerisasi 2 hingga 5, 2 dari 4 spot tersebut merupakan xilobiose dan xilotriose. Analisis KLT pada xilo oligosakarida jerami padi yang sudah

dimurnikan dengan *Candida guilliermondii* menghasilkan 2 spot dengan harga Rf yang rendah, sedangkan xilo-oligosakarida dengan harga Rf yang tinggi (xilobiose dan xilotriose) dan monomer-monomer gula tidak tampak lagi pada pelat KLT.

Hasil analisis KLT terhadap produk xilo-oligosakarida hasil hidrolisis jerami padi ini dapat membuktikan bahwa *Candida guilliermondii* dapat memetabolisme xilobiose dan xilotrose. Sebagai pembanding dilakukan analisis KLT terhadap hemiselulosa A dan B tongkol jagung yang hanya diautoklaf tanpa dihidrolisis dengan enzim xilanase (autohidrolisis). Pada analisis tersebut didapat spot yang masih tertahan di batas bawah pelat KLT dan tidak dapat terelusi karena hemiselulosa A dan B tanpa dihidrolisis secara enzimatis merupakan polisakarida yang mempunyai berat molekul tinggi. Dengan demikian, hal ini membuktikan adanya kerja enzim *endo- β -xilanase* yang dapat menghidrolisis polisakarida menjadi xilo-oligosakarida.

Analisis hasil pemurnian menggunakan HPLC

Hasil hidrolisis hemiselulosa A dan B dari tongkol jagung selanjutnya dianalisis menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) untuk mengetahui kandungannya secara kuantitatif. Analisis HPLC ini menggunakan kolom polimer-NH₂ (mikrobondapak, Waters 2487). Kolom merupakan *stationary phase* (fase diam) yang berisi separating material. Separating material ini akan memberi penahanan pada sampel. Kolom polimer-NH₂ ini bersifat base phase (nonpolar), sementara karbohidrat bersifat polar sehingga pemisahan yang terjadi berlangsung sempurna. Detektor yang digunakan adalah *refractive index* dan ELSD (*Evaporative Light Scattering Detector*). *Mobile phase* (fase gerak) yang digunakan adalah acetonitril: methanol : air dengan perbandingan (60% : 20% : 20%), kecepatan alir 1 µ l/menit, konsentrasi senyawa standar 1000 ppm, volume injeksi 20 µl, dan suhu kolom menggunakan suhu ruang. Analisis HPLC pada penelitian ini dilakukan secara isokratik, dimana dari awal hingga akhir pemisahan menggunakan fase gerak yang sama. Pada umumnya, analisis karbohidrat khususnya xilo-oligosakarida menggunakan metode gradien karena waktu retensinya cukup lama sehingga harus digunakan penggantian pelarut (fase gerak) pada waktu tertentu.

Tabel 4. Data analisis HPLC untuk hasil hirolisis hemiselulosa A dan B tongkol jagung dan setelah pemurniannya dengan *Candida guilliermondii*

Sampel	Glukosa (%)	Xilosa (%)	Arabinosa (%)	Xilo-oligosakarida (%)
CA	5,0	0	0	4,6
CB	6,0	0	0,1	4,9
CAC	0,9	0,1	0	1,0
CAB	0,6	0,2	0	1,0

Keterangan:

- CA : Hasil hidrolisis enzimatis pada hemiselulosa A tongkol jagung
- CB : Hasil hidrolisis enzimatis pada hemiselulosa B tongkol jagung
- CAC : Hasil hidrolisis enzimatis pada hemiselulosa A tongkol jagung + *Candida guilliermondii*
- CBC : Hasil hidrolisis enzimatis pada hemiselulosa B tongkol jagung + *Candida guilliermondii*

Dari tabel di atas, diketahui bahwa hemiselulosa B pada tongkol jagung memiliki kandungan xilo-oligosakarida yang lebih besar dibandingkan dengan hemiselulosa A yaitu sebesar 4,9 %. Hasil pemurnian xilo-oligosakarida dari hemiselulosa A dan B tongkol jagung dengan *Candida guilliermondii* terlihat mengalami penurunan masing-masing menjadi 1 %. Hal ini disebabkan xilo-oligosakarida pada hemiselulosa A dan B dari tongkol jagung merupakan xilobiose dan xilotriose yaitu xilo-oligosakarida dengan derajat polimerisasi 2 dan 3 yang dapat dimetabolisme oleh *Candida guilliermondii*. Sedangkan 1 % xilo-oligosakarida yang tersisa merupakan xilo-oligosakarida dengan derajat polimerisasi lebih dari 3. Dari sini dapat disimpulkan bahwa xilo-oligosakarida dapat dimurnikan dengan *Candida guilliermondii* dan monomer monomer gula yang lain seperti, glukosa dan arabinosa pada xilo-oligosakarida hasil pemurnian dengan *Candida guilliermondii* mengalami penurunan karena telah dimetabolisme oleh *Candida guilliermondii* untuk proses asimilasi. Xilo-oligosakarida hasil hidrolisis

hemiselulosa A dan B dari jerami padi juga dianalisis menggunakan HPLC. Hasil analisisnya sebagai berikut :

Tabel 5. Data analisis HPLC untuk hasil hidrolisis hemiselulosa A dan B jerami padi dan setelah pemurniannya dengan *Candida guilliermondii*

Sampel	Glukosa (%)	Xilosa (%)	Arabinosa (%)	Xilo-oligosakarida (%)
RA	8,8	0	47	10,3
RB	0	0	0,1	28
RAC	0,2	0	0,1	7
RBC	0	0	0	12

Keterangan:

RA : Hasil hidrolisis enzimatis pada hemiselulosa A jerami padi

RB : Hasil hidrolisis enzimatis pada hemiselulosa B jerami padi

RAC : Hasil hidrolisis enzimatis pada hemiselulosa A jerami padi + *Candida guilliermondii*

RBC : Hasil hidrolisis enzimatis pada hemiselulosa B jerami padi + *Candida guilliermondii*

Dari tabel di atas, diketahui bahwa hemiselulosa B pada jerami padi memiliki kandungan xilo-oligosakarida yang lebih besar dibandingkan dengan hemiselulosa A yaitu sebesar 28 %. Hasil pemurnian xilo-oligosakarida dari hemiselulosa A dan B dengan *Candida guilliermondii* terlihat mengalami penurunan masing-masing menjadi 7 % dan 12 %. Hal ini disebabkan xilo-oligosakarida pada hemiselulosa A dan B dari jerami padi merupakan xilobiose dan xilotriose yaitu xilo-oligosakarida dengan derajat polimerisasi 2 dan 3 yang dapat dimetabolisme oleh *Candida guilliermondii*.

Sedangkan 7 % dan 12 % xilo-oligosakarida yang tersisa merupakan xilo oligosakarida dengan derajat polimerisasi lebih dari 3 yang tidak dapat dimetabolisme oleh *Candida guilliermondii*. Dari sini dapat disimpulkan bahwa xilo-oligosakarida

dapat dimurnikan dengan *Candida guilliermondii* dan monomer-monomer gula yang lain seperti, glukosa dan arabinosa pada xilo-oligosakarida hasil pemurnian dengan *Candida guilliermondii* mengalami penurunan karena telah dimetabolisme oleh *Candida guilliermondii* untuk proses asimilasi.

Dari kedua tabel hasil analisis HPLC di atas, produk hidrolisis jerami padi memiliki kandungan xilo Oligosakarida yang lebih tinggi dari tongkol jagung.

IV. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemiselulosa tongkol jagung dapat meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus casei* yang merupakan probiotik. *Candida guilliermondii* dapat memurnikan xilo-oligosakarida hasil hidrolisis hemiselulosa A dan B dari tongkol jagung sehingga didapatkan xilo-oligosakarida murni dengan derajat polimerisasi 4 hingga 8.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Aini, F.N., S. Sukamto, D. Wahyuni, R.G. Suhesti, dan Q. Ayyunin., 2013, Penghambatan pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*, Jurnal Pelita Perkebunan, 29(1): 44-52.
- Bradford, M.R. and H.L. Classen., 1992, The influence of dietary xylanase on intestinal viscosity and molecular weight distribution of carbohydrates in re-y-fed broiler chick in Visser et al. (Eds.), *Xylans and Xylanases*, Elsevier, Amsterdam. p. 361-370.
- Beg, Q.K., M. Kapoor, L. Mahajan, and G.S. Hoondal., 2001, Microbial xylanases and their industrial applications; a review, *J. Appl. Microbiol, Biotechnol*, 56:326-338.

- Corral, O.L., Ortega, F.V., 2006, Xylanases, *Advances in Agricultural and Food Biotechnology* 305-322.
- Dinata, D. I., 2011, *Bioteknologi: pemanfaatan mikroorganisme & teknologi bioproses*, Jakarta: EGC.
- Hamdiyati, Yanti. 2014. *Pertumbuhan dan Pengendalian Mikroorganisme II*.
- Jianlin Xu., Akhilesh Banerjee., Shih-Hsie Pan., Zheng Jian Li., 2012, Galactose can be an inducer for production of therapeutic proteins by auto induction using *E. coli* BL21 strains, *Journal Protein Expression and Purification* 83 (2012) 30–36.
- Kikani, B. A., Shukla, R. J., dan Singh, S. P., 2010, Biocatalytic Potential of Thermophilic Bacteria and Actinomycetes, *Current Research, Technology*.
- Kumal, S., W. Mangunwardoyo, dan D. Dethrian. 2006. Uji Aktivitas Enzim Xilanase Ekstraseluler dan Intraseluler Bakteri Endofitik Tanaman *Brucea javanica* (L.) Merr. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol: 4 No: 2. Hal: 51-54.
- Lagaert, S., Beliën, T., Volckaert, G., 2009, Plant Cell Walls: Protecting The Barrier from Degradation by Microbial Enzymes, *Seminars in Cell and Development Biology* 20 1064-1073.
- Maat, J., M. Roza, J. Verbakel, H. Stam, M.J. Santos da Silva, M. Bosse, M.R. Egmond, M.L.D. Hagemans, R.F.M. van Gorcom, J.G.M. Hessing,
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A., Clark, D.P., 2012, *Brock Biology of Microorganisms*, 13th Edition, Benjamin Cummings, San Francisco : 134-139.
- Oshima, T., dan Moriya, T., 2008, A Preliminary Analysis of Microbial and Biochemical Properties of High-Temperature Compost, *Annual New York Academic of Science*, 1125: 338-344
- Paice, M., M. Bernier, and L. Jurasek, 1988, Viscosity enhancing bleaching of haedwood kraft pulp with xylanase from cloned gene, *Biotechnol. Bioeng*, 32:235-239.
- Pariza, M.W. dan Johnson, E.A.,2001, Evaluating The Safety of Microbial Enzyme Preparations Used in Food Processing: Update for a New Century, *Regulatory Toxology and Pharmacology*, Vol. 33, Hal:173-186.
- Paturau, J.M., 1969, By-products of the cane sugar industry, *An Introduction to their Industrial Utilization*, Elsevierm Publishing Company, New York Pelczar, Michael J dan Chan, E. C. S. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: UI Press.
- Prescott, L.M. 2003. *Microbiology*. New York : Mc Graw Hill. Purnamasari S., 2008, Pemanfaatan xilo-oligosakarida (kandidat prebiotik) hasil hidrolisis tongkol jagung (*zea mays*) secara enzimatis menggunakan enzim endo- β -xilanase, skripsi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
- Purwadi, N.M.D., 2006, Identifikasi Enzim-Enzim Xilanolitik dan Analisis Mikrobiologi Isolat Bakteri dari Sumber Air Panas Pacet Jawa Timur, skripsi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
- Puspaningsih, N. N. T., 2004, Pencirian Enzim Xilanolitik dan Kloning Gen Penyandi Xilosidase dari *Bacillus thermoleovarant* IT-08. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Rawashdeh R., Ismail, S., and Amjad, M., 2005, Effect of cultural conditions on xylanase production by *Streptomyces* sp. (strain Ib 24D) and its potential to utilize tomato pomace. *Afric J of Biotechnol*, 4 (3), p. 251- 255.