JITES Vol. 3 No. 2 (2024)

Jurnal Informasi, Teknologi, Engineering, dan Sains

https://jites.untara.ac.id/index.php/jites

Strategi Teknologi Produksi Xilooligosakarida dari Limbah Pertanian

Tantry Febrinasari[1], Yusuf Irfan[2]

[1] Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Pelita Bangsa, Cikarang, Indonesia

[2] Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Pelita Bangsa, Cikarang, Indonesia

Sejarah Artikel:
Diterima **Januari 2024**
Disetujui **Februari 2024**
Dipublikasi **Maret 2024**

Kata Kunci:
Limbah Pertanian; Strategi Produksi; Xilooligosakarida; XOS.

Agricultural Waste; Production Strategy; Xylooligosaccharides; XOS

Abstrak: Keberlimpahan biomassa limbah pertanian di Indonesia yang pemanfaatannya hingga saat ini masih belum optimal telah mendorong banyak penelitian untuk mengembangkan teknologi dalam pemanfaatan limbah pertanian. Salah satunya adalah pemanfaatan limbah pertanian, yang merupakan limbah lignoselulosa, sebagai sumber bahan baku potensial untuk memproduksi senyawa bioaktif yang dapat diaplikasikan pada produk pangan fungsional atau sediaan nutraseutikal. Xilo-oligosakarida (XOS) adalah salah satu senyawa oligosakarida yang dapat diproduksi dari proses biokonversi biomassa lignoselulosa. XOS diketahui memiliki potensi sebagai kandidat prebiotik yang menjanjikan. Permintaan global terhadap XOS yang terus meningkat telah mendorong berbagai inovasi dalam mencari metode produksi yang efisien dan ramah lingkungan. Oleh karena itu, pengembangan strategi produksi sangat penting untuk merangsang produksi XOS yang lebih berkelanjutan Hingga kini, telah banyak peneliti yang mengembangkan metode yang berbeda guna memperoleh hasil XOS yang optimal, baik secara kuantitas maupun kualitas. Ulasan ini akan merangkum beberapa metodologi dan strategi produksi XOS.

Abstract: *The abundance of agricultural waste in Indonesia, in which the utilization is less than optimal, has encouraged a lot of research to develop technology for utilizing agricultural waste. One of the utilizations of lignocellulosic agricultural waste is as a potential raw material source for producing bioactive compounds that can be applied in functional food or nutraceutical preparations products. Xylo-oligosaccharides (XOS) are one of the oligosaccharide compounds that can be produced from the bioconversion process of lignocellulosic biomass. XOS is known to have potential as a promising prebiotic. Increasing global demand for XOS has driven various innovations in the search for efficient and environmentally friendly production methods. Therefore, developing a production strategy is very important to stimulate more sustainable XOS production. Until now, many researchers have developed different methods to obtain optimal XOS results, both in quantity and quality. This review will summarize some XOS production methodologies and strategies.*

*e-mail: tantryfebrinasari@pelitabangsa.ac.id

© 2024 Universitas Tangerang Raya
E-ISSN: 2985-5403

PENDAHULUAN

Indonesia, sebagai negara agraris, menghasilkan jumlah limbah pertanian yang sangat melimpah setiap tahunnya. Ditambah dengan pertumbuhan populasi penduduk di Indonesia yang setiap tahun meningkat telah mengakibatkan peningkatan produksi pertanian, yang pada akhirnya menghasilkan volume limbah pertanian yang lebih besar. Namun, pemanfaatan limbah pertanian masih sangat minim dan dinilai belum optimal sehingga diketahui telah mengakibatkan kerusakan lingkungan dan kerugian bagi petani maupun pabrik pengolahan produk pertanian. Hal ini mendorong banyak penelitian pada beberapa dekade terakhir ini untuk mengembangkan strategi pemanfaatan limbah pertanian yang diharapkan mampu memberikan dampak positif dari segi ekologi maupun ekonomi. Salah satunya adalah pengembangan teknologi biokonversi limbah pertanian menjadi senyawa-senyawa bioaktif yang dapat diaplikasikan pada produk pangan atau farmasi.

Berbagai macam limbah pertanian, seperti jerami padi, tongkol jagung, tandan kosong kelapa sawit, bagas tebu, dan lain-lain, kaya akan komponen lignoselulosa─yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Limbah lignoselulosa ini dapat dimanfaatkan sebagai sumber alternatif bahan baku pembuatan senyawa xilooligosakarida (Cano et al., 2020). Xilo-oligosakarida (XOS) adalah jenis oligosakarida yang tersusun dari 2─7 monomer xilosa yang berikatan β-1,4. Jenis oligosakarida ini secara alami terdapat pada rebung, buah-buahan, sayuran, susu, dan madu. Namun, untuk skala yang lebih besar, xilo-oligosakarida dapat diproduksi secara industri melalui proses hidrolisis polimer xilan (salah satu komponen hemiselulosa) dari biomassa lignoselulosa (Mäkeläinen et al., 2010; Moure et al., 2006; Vázquez et al., 2000).

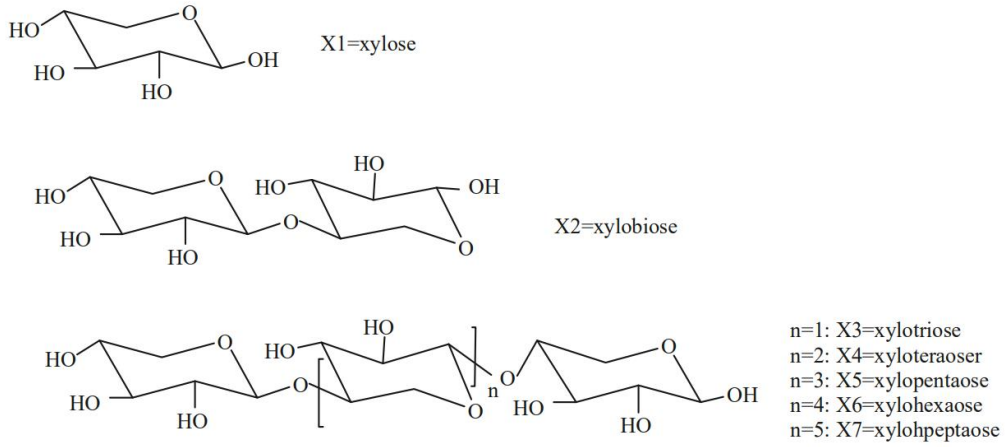
Xilo-oligosakarida (XOS) belakangan ini mendapatkan perhatian yang cukup besar karena memiliki potensi yang menguntungkan bagi kesehatan. Aplikasinya di industri pangan, XOS dapat digunakan sebagai komponen bioaktif dalam berbagai produk pangan fungsional atau dalam bentuk sediaan nutrasetikal yang ditambahkan pada suatu produk pangan (Vázquez et al., 2000). Sebagai serat pangan, XOS diketahui memiliki efek prebiotik dengan menstimulasi peningkatan jumlah mikroflora yang menguntungkan, yakni *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli*, sehingga mampu mencegah beberapa gangguan pencernaan dan menjaga kesehatan usus (Finegold et al., 2014; Manisseri & Gudipati, 2012; Samanta et al., 2015a. Selain sebagai senyawa prebiotik, XOS juga berpotensi digunakan sebagai bahan pemanis alami yang rendah kalori sehingga menjadikan XOS sebagai bahan ideal untuk makanan fungsional dan pemanis untuk diet para pasien diabetes (Samanta et al., 2015a).

Permintaan global yang semakin meningkat terhadap xilooligosakarida telah mendorong berbagai inovasi dalam mencari metode produksi yang efisien dan ramah lingkungan. XOS dapat diperoleh melalui proses hidrolisis fraksi hemiselulosa dari biomassa lignoselulosa dengan metode kimia, fisik, enzimatik, atau kombinasinya (Akpinar et al., 2007; Falck et al., 2013; Immerzeel et al., 2014; Uçkun Kiran et al., 2013; Wang et al., 2011). Banyak peneliti yang mengembangkan metode-metode tersebut guna memperoleh hasil yang optimal, baik secara kuantitas maupun kualitas. Oleh karena itu, pengembangan strategi produksi sangat penting untuk merangsang produksi XOS yang lebih berkelanjutan. Ulasan ini akan merangkum beberapa metodologi dan strategi produksi XOS.

XILO-OLIGOSAKARIDA (XOS)

Xilo-oligosakarida (XOS) adalah jenis oligosakarida yang tersusun dari 2─7 monomer xilosa yang berikatan β-1,4 (Gambar 1). Namun, molekul dengan derajat polimerisasi (DP) ≤20 juga dapat dianggap sebagai XOS (Mäkeläinen et al., 2010; Moure et al., 2006; Vázquez et al., 2000). Jenis oligosakarida ini secara alami terdapat pada rebung, buah-buahan, sayuran, susu, dan madu. Namun, untuk skala yang lebih besar, xilo-oligosakarida dapat diproduksi secara industri melalui proses hidrolisis polimer xilan dari biomassa lignoselulosa (Vázquez et al., 2000). Biomassa lignoselulosa ini umumnya merupakan bahan baku yang melimpah, murah, dan terbarukan, seperti limbah pertanian.

XOS mulai mendapatkan perhatian yang besar karena memiliki potensi aplikasi yang luas di berbagai sektor industri. Minat industri terhadap XOS tercermin dari meningkatnya jumlah paten yang diberikan untuk berbagai aplikasi XOS (Amorim et al., 2019). Di seluruh dunia, pada tahun 2017, pemanfaatan utama XOS adalah pada industri pakan (49,6%), diikuti oleh industri farmasetikal (25,4%), makanan dan minuman (23,2%) dan aplikasi lainnya (1,8%) (Ahmad, 2019).



Gambar 1. Skema struktur xilosa dan xilo-oligosakarida (Carvalho et al., 2013; Huang et al., 2022)

Pada industri pakan, XOS banyak dimanfaatkan karena memiliki efek positif terutama pada peningkatan pertumbuhan, tingkat kecernaan nutrisi, serta morfologi pencernaan hewan yang diberikan tambahan XOS pada pakannya. Selain itu, penambahan XOS pada pakan hewan juga mampu memberikan efek imunomodulator, antioksidan, anti-mikroba, anti-tumor yang berpengaruh terhadap peningkatan kesehatan hewan (Y. Chen et al., 2021). Pada industri farmasetikal, xilooligosakarida merupakan bahan aktif yang dapat digunakan untuk pencegahan dan pengobatan infeksi gastrointestinal, pengurangan risiko kanker usus besar, penurunan kadar glukosa dan kolesterol darah, peningkatan penyerapan kalsium dan mineral, memiliki aktivitas antioksidan, anti alergi, antimikroba, anti infeksi dan anti inflamasi, aktivitas sitotoksik selektif, dan efek imunomodulator (Aachary & Prapulla, 2009; Akpinar et al., 2009a; Patel & Goyal, 2011; Praveen Kumar et al., 2012; Yu et al., 2015). Pada industri kosmetik serta perawatan tubuh, XOS dapat dimanfaatkan untuk perawatan kulit karena memiliki sifat antioksidan sehingga mampu menghambat produksi melanin dan proliferasi sel melanoma, meningkatkan produksi kolagen, dan digunakan sebagai komponen aktif pada produk pelembab (Moure et al., 2006).

Aplikasinya di industri pangan, XOS dapat digunakan sebagai komponen bioaktif dalam berbagai produk pangan fungsional atau dalam bentuk sediaan nutrasetikal yang ditambahkan pada suatu produk pangan. XOS juga berpotensi digunakan sebagai bahan pemanis alami yang rendah kalori sehingga menjadikan XOS sebagai bahan ideal untuk makanan fungsional dan pemanis untuk diet para pasien diabetes (Finegold et al., 2014; Samanta et al., 2015a; Vázquez et al., 2000). Di Jepang, XOS telah disetujui untuk Food for Specified Health Uses (FOSHU) sebagai bahan makanan untuk mampu memodifikasi kondisi gastrointestinal (Mäkeläinen et al., 2009). Sebagai NDO (oligosakarida yang tidak dapat dicerna), XOS tidak terdegradasi oleh cairan lambung pH rendah atau enzim pencernaan dan dimetabolisme oleh mikroflora di usus besar, serta secara khusus mampu merangsang pertumbuhan mikroflora usus yang bermanfaat sehingga dilaporkan sebagai salah satu jenis prebiotik yang menjanjikan (Aachary & Prapulla, 2009; Manisseri & Gudipati, 2010; Moure et al., 2006).

Selain statusnya dalam makanan fungsional, XOS memiliki karakteristik lain yang dianggap menguntungkan sehingga meningkatkan daya tarik industrinya, di antaranya stabilitasnya tinggi dalam pH asam (2,5─8), rentang suhu stabilitas tinggi (hingga 100 °C), rendah kalori, mampu mencapai efek biologis yang diinginkan secara signifikan dengan dosis yang rendah, sifat organoleptik yang dapat diterima, dan tidak menunjukkan toksisitas atau efek negatif pada kesehatan manusia (Aachary & Prapulla, 2009; Moure et al., 2006; Vázquez et al., 2000). Menurut Courtin *et al.* (2009), senyawa XOS juga diketahui memiliki stabilitas suhu dan keasaman yang lebih tinggi daripada jenis prebiotik lain, seperti inulin dan FOS, sehingga memiliki potensi yang lebih baik untuk diaplikasikan pada produk pangan yang ber-pH rendah (Courtin et al., 2009).

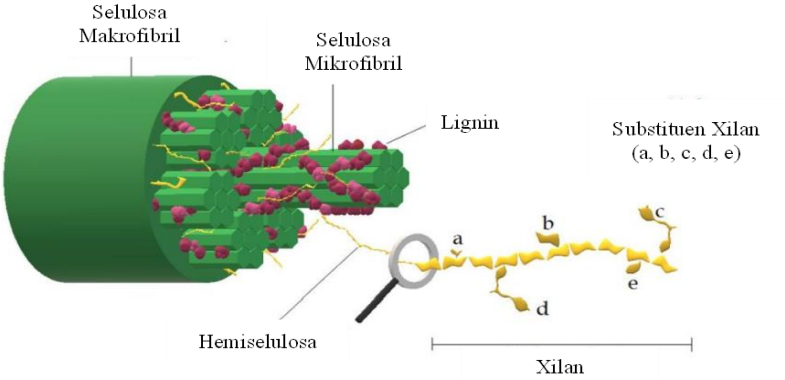
BAHAN BAKU PRODUKSI XILO-OLIGOSAKARIDA (XOS)

XOS dapat diproduksi dari biomassa lignoselulosa. Biomassa lignoselulosa merupakan biomassa yang berasal dari beragam sumber daya alam (tumbuhan), seperti produk pertanian, perkebunan, dan hutan. Sumber utama bahan lignoselulosa yang banyak digunakan adalah berasal dari kayu hutan. Namun, eksploitasi terhadap kayu dari hasil hutan semakin tinggi sehingga produksi kayu juga menurun dan berdampak pada pasokan sumber lignoselulosa (Yusuf, 2017). Selain itu, pemanfaatan biomassa kayu keras (*hardwood*) sebagai bahan baku untuk

produksi XOS memerlukan beberapa langkah pra-perlakuan yang panjang dan mahal. Oleh karena itu, sebagai solusi terhadap kebutuhan bahan baku lignoselulosa untuk memproduksi XOS, banyak peneliti telah mengidentifikasi dan mengembangkan sumber lignoselulosa lain yang lebih terbarukan, jumlahnya melimpah, murah, serta memerlukan perlakuan yang lebih mudah untuk menghasilkan XOS, salah satunya adalah limbah pertanian (Aachary & Prapulla, 2011; Poletto et al., 2020a; Rajagopalan et al., 2017).

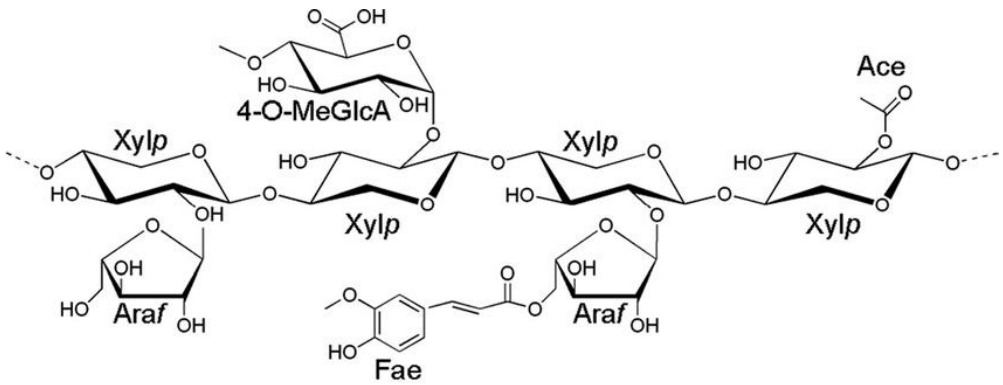
Lignoselulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel pada tumbuhan, terdiri dari lignin, selulosa, dan hemiselulosa yang saling membentuk suatu ikatan yang kompleks (Samanta et al., 2015b). Persentase masing-masing senyawa bervariasi sesuai dengan jenis dan sumbernya. Namun, kisarannya biasanya antara 15–25% (b/b) lignin, 30–50% (b/b) selulosa, dan 20–40% (b/b) hemiselulosa (Otieno & Ahring, 2012b).

Bahan baku pembuatan XOS adalah xilan. Xilan adalah komponen utama penyusun hemiselulosa dan merupakan polisakarida terbesar kedua yang tersedia di alam, setelah selulosa, dan mewakili 20-35% biomassa lignoselulosa (Saha, 2003). Di dalam struktur dinding sel tumbuhan, xilan dengan konstituen lignoselulosa lainnya (selulosa dan lignin) berinteraksi melalui ikatan kovalen dan non-kovalen dan ditemukan pada antarmuka antara lignin dan selulosa yang diyakini penting untuk kohesi serat dan integritas dinding sel tumbuhan (Gambar 2) (Beg et al., 2001; Huang et al., 2022).



Gambar 2. Skema struktur komponen lignoselulosa (Huang et al., 2022)

Hemiselulosa atau xilan adalah polimer dengan berat molekul rendah (MW) dengan derajat polimerisasi (DP) kisaran 80-200. Xilan pada dasarnya adalah polisakarida heterogen yang kompleks dan sangat bercabang yang terdiri dari tulang punggung utama unit D-xilopiranosil yang dihubungkan oleh ikatan β-1,4-xilosidik. Tulang punggung utama xilan dapat disubstitusi oleh gugus rantai samping (susbtituen) glukuronopiranosil, 4-O-metil-D-glukuronopiranosil, α-L-arabinofuranosil, asetil, feruloil dan/atau p-koumaroil (Gambar 3) (Correia et al., 2011; Saha, 2003).



Gambar 3. Skema struktur xilan (keterangan: Xylp = D-xilopiranosil; Araf = α-L-arabinofuranosil; 4-O-MeGlcA = 4-O-metil-D-glukuronopiranosil; Ace = Asetil; Fae = feruloil) (Correia et al., 2011).

Kesesuaian bahan lignoselulosa untuk produksi XOS akan tergantung pada jumlah dan jenis xilan yang sangat bervariasi dari satu spesies ke spesies lainnya. Oleh karena kandungan hemiselulosa atau ketersediaannya yang tinggi, kebanyakan limbah pertanian yang merupakan spesies kayu lunak adalah sumber bahan baku yang paling relevan untuk produksi XOS, seperti jerami gandum, ampas tebu, tongkol jagung, brangkasan jagung (daun, batang, tongkol jagung), jerami padi, batang/tangkai tembakau dan kapas (Akpinar et al., 2009a; Otieno & Ahring, 2012b; Poletto et al., 2020a). Berbagai jenis biomassa lignoselulosa yang sesuai untuk produksi XOS dan komposisi kimianya dapat dilihat pada Tabel 1. Saat ini, tongkol jagung dan serat tebu adalah satu-satunya biomassa lignoselulosa yang digunakan dalam produksi campuran XOS komersial bersertifikasi GRAS oleh perusahaan penghasil XOS utama (Shangdong Longlive Biotechnology (Cina) dan Prenexus Health (AS) (Santibáñez et al., 2021).

Tabel 1. Komposisi komponen lignoselulosa pada berbagai limbah pertanian

Jenis Biomassa	Selulosa (%b/b)	Hemiselulosa (%b/b)	Lignin (%b/b)	Xilan (%b/b)	Referensi
Jerami gandum	30–41	22–50	20–22	21.2	(Otieno & Ahring, 2012b; Poletto et al., 2020a; Saha, 2003)
Ampas tebu/bagas	40–43	24–28	23–28	21.1–27.8	(Otieno & Ahring, 2012b; Poletto et al., 2020a; Saha, 2003; Zhou & Xu, 2019)
Tongkol jagung	30–45	31–38	15–22	34.8	(Poletto et al., 2020a; Saha, 2003; R. Yang et al., 2005)
Brangkasan jagung	40	25	17	21.5	(Otieno & Ahring, 2012b; Saha, 2003)
Jerami padi	35	25	12	24.5	(Otieno & Ahring, 2012b; Saha, 2003)
Tandan kosong kelapa sawit	36.8	28.2	20.3	21.5	(Ho et al., 2014)
Batang/tangkai tembakau	44.3–50.8	16	15.6–22.7	19–21.8	(Akpinar et al., 2009a; Samanta et al., 2019)
Batang/tangkai kapas	30.5	-	26.6	19.8	(Akpinar et al., 2009a)

METODE PRODUKSI XILO-OLIGOSAKARIDA (XOS)

Metode Fisik

Autohidrolisis

Metode fisik biasanya menggunakan suhu dan tekanan yang tinggi. Salah satu metode fisik yang sering digunakan adalah metode autohidrolisis, atau yang juga dikenal sebagai hidrotermolisis. Metode ini melibatkan proses deasetilasi xilan dengan adanya perlakuan panas dengan uap atau air pada suhu atau tekanan tinggi (Qing et al., 2013; Vázquez et al., 2000). Dalam kondisi ini, ion hidronium dihasilkan dari autoionisasi air yang memicu efek depolimerisasi pada hemiselulosa sehingga menghasilkan XOS pada fase cair dan padatan/endapan yang kaya selulosa dan lignin. Autohidrolisis terjadi dalam kondisi yang sedikit asam karena pembentukan asam asetat oleh pemutusan parsial gugus asetil pada dinding sel tumbuhan. Asam asetat biasanya juga ditambahkan selama autohidrolisis untuk meningkatkan pembentukan ion hidronium (Garrote et al., 2002; Samanta et al., 2015a).

Keuntungan utama dari metode ini adalah rendahnya atau tidak diperlukannya senyawa kimia korosif sehingga lebih ramah lingkungan (Otieno & Ahring, 2012a). Namun, karena autohidrolisis membutuhkan konsumsi energi yang tinggi, sifat ramah lingkungannya juga akan bergantung pada sumber energi yang digunakan (Otieno & Ahring, 2012a). Kelemahan utama dari metode ini adalah penggunaan suhu dan tekanan yang tinggi akan menghasilkan produk samping yang tidak diinginkan, seperti oligomer lain, monosakarida, asam asetat, furfural, hidroksimetilfurfural (HMF), asam format, asam levulinat, senyawa fenolik dan lain-lain (Aachary & Prapulla, 2011; M.-H. Chen et al., 2014; Garrote et al., 2002; Samanta et al., 2015a). Kehadiran senyawa-senyawa tersebut secara signifikan mengurangi sifat prebiotik XOS karena senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri probiotik (Hong et al., 2019). Proses pemurnian yang dilakukan juga menjadi lebih sulit dan panjang yang akibatnya meningkatkan biaya produksi (Vázquez et al., 2000). Selain itu, karena metode

autohidrolisis menggunakan suhu dan tekanan tinggi, diperlukan peralatan khusus dalam prosesnya (reaktor Parr) (Aachary & Prapulla, 2011; Samanta et al., 2015a).

Iradiasi Gelombang Mikro (Microwave)

Iradiasi gelombang mikro (*microwave*) merupakan strategi yang banyak digunakan untuk tahap pra-perlakuan bahan lignoselulosa sebelum proses hidrolisis. Perlakuan iradiasi gelombang mikro ini akan menyebabkan penguapan air antarmolekul sehingga mendorong pemutusan ikatan hidrogen antara hemiselulosa dan selulosa (Kucharska et al., 2018). Metode ini memiliki beberapa keunggulan, seperti pemanasan yang seragam dan selektif, ukuran peralatan yang kecil, dan kebutuhan energi yang lebih rendah (Delazar et al., 2012). Poletto et al. (2020) menunjukkan bahwa proses iradiasi gelombang mikro mampu meningkatkan hasil XOS dan meminimalkan produk samping senyawa turunan lignin dan selulosa yang dihasilkan (Poletto et al., 2020b).

Metode Kimia

Metode kimia utamanya dilakukan dengan menggunakan larutan ekstraksi asam atau basa. Namun, senyawa kimia lain seperti zat pengoksidasi, garam atau alkohol juga digunakan, terutama untuk menghilangkan lignin (Vázquez et al., 2000).

Metode Asam

Penggunaan asam untuk memperoleh XOS telah banyak digunakan karena merupakan teknik yang cepat dan mudah diterapkan (Akpinar et al., 2009b). Namun, sebagian besar metode hidrolisis asam juga menggunakan metode autohidrolisis pada prosesnya, yakni membutuhkan kondisi suhu dan tekanan yang tinggi, sehingga juga menyebabkan pelepasan monosakarida xilosa dalam jumlah besar dan menghasilkan senyawa toksik, seperti furfural dan hidroksimetilfurfural (HMF), yang berbahaya jika digunakan untuk aplikasi makanan (Behera et al., 2014; H. Chen et al., 2017). Dengan demikian, proses pemurnian menjadi lebih sulit dan diperlukan tahapan pemurnian yang lebih banyak (Akpinar et al., 2009b). Selain itu, metode asam juga dapat menyebabkan korosi peralatan dan masalah lingkungan akibat residu bahan kimia yang digunakan. Untuk mengatasi hal tersebut, beberapa penelitian telah membuktikan bahwa produksi xilosa dan senyawa yang tidak diinginkan serta korosi peralatan dapat diminimalisasi dengan menggunakan konsentrasi asam dan waktu reaksi yang lebih rendah (Qing et al., 2013). Namun, dengan kondisi tersebut, hidrolisis asam lebih sesuai jika diterapkan sebagai pra-perlakuan bahan baku dibanding proses tunggal untuk menghasilkan XOS (Santibáñez et al., 2021).

Metode Alkali

Metode alkali diketahui sebagai metode pra-perlakuan bahan baku lignoselulosa yang terbaik. Tidak seperti metode asam, metode alkali biasanya dilakukan di bawah kondisi suhu dan tekanan yang lebih rendah. Pra-perlakuan ini sering dilakukan dengan menggunakan bahan kimia seperti natrium hidroksida (NaOH), natrium karbonat (Na_2CO_3), kalium hidroksida (KOH), kalsium hidroksida ($Ca(OH)_2$) dan amonia (NH_3) (H. Chen et al., 2017; Kim et al., 2016), Metode ini memungkinkan terjadinya solubilisasi hemiselulosa dalam larutan basa melalui pemutusan ikatan hidrogen antara hemiselulosa dan selulosa serta ikatan ester yang mengikat hemiselulosa menjadi lignin (de Freitas et al., 2019; Kim et al., 2016).

Keuntungan dari metode ini adalah dapat menghilangkan lignin secara selektif karena reagen alkali cenderung berinteraksi dengan lignin. Selain itu, pra-perlakuan ini juga mampu meningkatkan porositas dan luas permukaan, sehingga meningkatkan hasil hidrolisis enzimatik (Kim et al., 2016). Keuntungan lainnya adalah senyawa alkali mampu memutus gugus asetil pada rantai xilan sehingga tahapan produksi XOS selanjutnya, yakni hidrolisis secara enzimatis, hanya memerlukan lebih sedikit enzim tambahan (asetilesterase) untuk menghilangkan substituen xilan. Namun, penghilangan gugus asetil tersebut juga dapat mengurangi kelarutan hemiselulosa selama pra-perlakuan sehingga berdampak negatif pada rendemen xilan yang dihasilkan (Ebringerová et al., n.d.). Kelemahan lain metode ini sama seperti metode asam, yakni bersifat korosif dan berdampak pada pencemaran lingkungan akibat limbah larutan alkali.

Metode Enzimatis

Meskipun metode kimia dan fisika banyak diteliti, metode enzimatis saat ini lebih banyak disukai untuk menghasilkan XOS untuk industri makanan karena beberapa keunggulannya yang antara lain dapat dilakukan pada

kondisi proses yang lebih ringan (pada suhu ruang dan tekanan atmosfer), tidak membutuhkan peralatan khusus, hemat energi, ramah lingkungan, dan yang paling utama, karena bersifat spesifik, tidak adanya reaksi sekunder yang menghasilkan produk samping yang tidak diinginkan sehingga mampu memberikan hasil akhir yang tinggi serta tidak membutuhkan pemurnian yang kompleks (Aachary & Prapulla, 2011; Ávila et al., 2020; Immerzeel et al., 2014; Uçkun Kiran et al., 2013). Namun, di sisi lain, kelemahan metode ini adalah membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan hidrolisis asam atau autohidrolisis dan biasanya prosesnya lebih mahal karena tingginya harga enzim (Poletto et al., 2020a; Qing et al., 2013). Karena kompleks xilan-lignin yang terdapat dalam bahan lignoselulosa biasanya tahan terhadap serangan enzimatik, penggunaan metode enzimatik biasanya dikombinasikan dengan metode kimia dan fisika pada tahap pra-perlakuan untuk memperoleh XOS dengan kuantitas dan kualitas yang lebih tinggi

Hidrolisis enzimatik xilan utamanya dikatalisis oleh endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8). Enzim ini bertanggung jawab untuk depolimerisasi xilan dengan secara memotong secara acak ikatan β-1,4-glikosidik pada rantai utama internal menghasilkan XOS rantai panjang pada langkah pertama dan kemudian rantai yang lebih kecil seperti xilotriosa, xilobiosa dan juga monomer xilosa (Aachary & Prapulla, 2011; Manisseri & Gudipati, 2010).

Xilanase telah diidentifikasi terdapat pada beberapa bakteri, archaea, jamur, ragi/khamir, ganggang laut, protozoa, siput, krustasea, dan serangga. Bakteri dan jamur adalah yang paling banyak digunakan untuk produksi xilanase. Bakteri seperti *Bacillus* dan *Streptomyces* telah dilaporkan menghasilkan xilanase. Umumnya, xilanase bakteri memiliki stabilitas termal dan sifat alkalinitas yang tinggi, dengan pH optimum yang lebih tinggi daripada pH optimum xilanase jamur (Álvarez-Cervantes, 2016). Namun, jamur berfilamen merupakan produsen terbaik penghasil xilanase sehingga xilanase komersial sebagian besar berasal dari jamur. Pertimbangan penggunaan jamur sebagai penghasil xilanase dalam skala industri adalah karena enzim yang dihasilkan bersifat ekstraseluler, yakni disekresikan di luar sel, sehingga memudahkan proses pemanenannya. Selain itu, jamur mampu menghasilkan xilanase dengan tingkat produktivitas yang lebih tinggi dibandingkan bakteri atau khamir, sehingga lebih menguntungkan, serta memiliki aktivitas pada rentang suhu dan pH yang luas. Genus *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Fusarium* merupakan penghasil utama xilanase (Álvarez-Cervantes, 2016; Polizeli et al., 2005).

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam proses hidrolisis enzimatis agar menghasilkan XOS dengan produktivitas yang tinggi, yaitu tipe enzim, tipe dan konsentrasi substrat, parameter bioproses (pH, suhu, dan waktu), tipe dan kondisi pra-perlakuan untuk ekstraksi xilan, dan alur proses (Carvalho et al., 2013). Agar dapat digunakan dalam produksi XOS, xilanase harus memenuhi kondisi tertentu seperti aktivitas endo-xilanase yang tinggi serta sedikit atau tidak ada aktivitas ekso-xilanase dan xilosidase yang akan banyak menghasilkan xilosa. Produksi xilosa harus dipertahankan serendah mungkin untuk menghindari efek penghambatannya pada aktivitas xilanase dan mendukung akumulasi XOS dengan derajat polimerisasi yang diinginkan (2 sampai 6) (Poletto et al., 2020a; Samanta et al., 2015a).

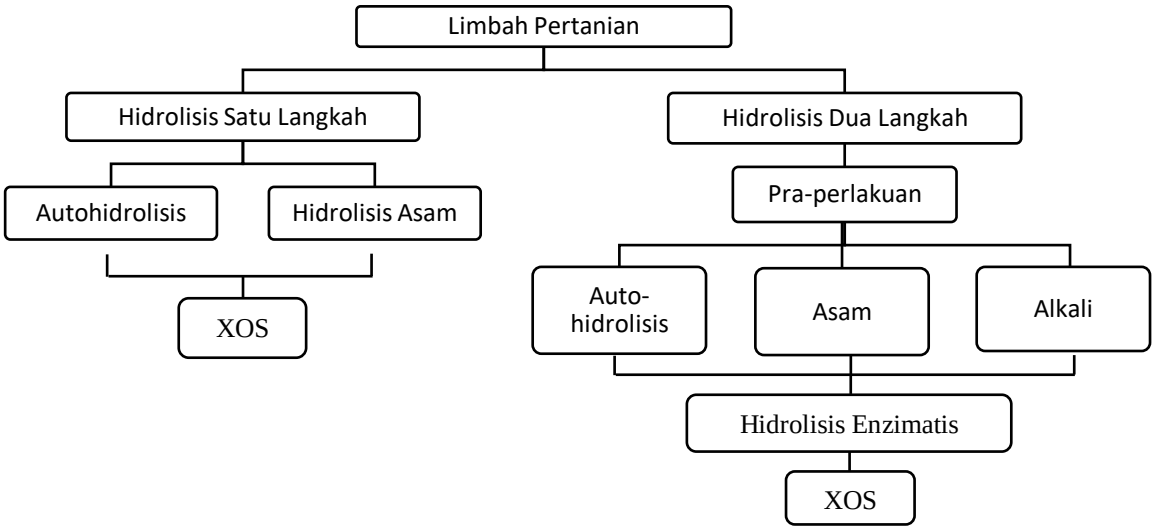
Karena salah satu kelemahan utama dari metode enzimatis untuk produksi XOS adalah biaya enzim, penggunaan enzim terimobilisasi menjadi solusi untuk meningkatkan efisiensi (Illanes et al., 2016). Secara umum, strategi ini memungkinkan enzim yang lebih stabil digunakan secara berulang dan diperoleh produk akhir bebas enzim sehingga memudahkan langkah pemurnian dan mengurangi biaya operasional (Rajagopalan et al., 2016). Strategi yang paling umum digunakan untuk imobilisasi xilanase adalah adsorpsi fisik, *entrapment* (penjebakan), dan pengikatan kovalen (Santibáñez et al., 2021).

Metode *In Situ* dengan Fermentasi Mikroba

Hidrolisis xilan secara enzimatis juga dapat dilakukan secara *in situ* dengan fermentasi mikroba (IMF/*In Situ by Microbial Fermentation*). Pada proses ini, mikroorganisme penghasil xilanase ditumbuhkan pada substrat xilan untuk menghasilkan xilanase yang kemudian akan menghidrolisis xilan untuk menghasilkan XOS. Metode IMF untuk menghasilkan XOS diketahui memiliki potensi yang luar biasa untuk mengurangi biaya produksi, terutama karena penyederhanaan proses. Alternatif yang menjanjikan untuk IMF adalah penggunaan enzim rekombinan yang diproduksi oleh organisme inang dengan karakateristik yang lebih menguntungkan (Amorim et al., 2018, 2019). Namun, studi yang mempelajari metode yang efisien dan cepat untuk mengekspresikan xilanase ekstraseluler masih sedikit dan harus dikembangkan (Chang et al., 2017).

STRATEGI PRODUKSI XILO-OLIGOSAKARIDA (XOS) DARI LIMBAH PERTANIAN

Untuk menemukan proses produksi yang memungkinkan menghasilkan rendemen XOS tertinggi dengan karakteristik yang diinginkan, sejumlah besar penelitian telah dilakukan untuk mengevaluasi strategi produksi yang berbeda. Secara umum, produksi XOS dari limbah pertanian dilakukan melalui dua strategi utama, yaitu metode hidrolisis satu langkah (tanpa pra-perlakuan) dan metode hidrolisis dua langkah (dengan pra-perlakuan) (Santibáñez et al., 2021). Skema strategi produksi XOS dari limbah pertanian dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema strategi produksi XOS dari limbah pertanian

Metode Hidrolisis Satu Langkah

Metode hidrolisis satu langkah diterapkan dengan menggunakan metode fisikokimia, yakni autohidrolisis atau hidrolisis dengan larutan asam pada suhu tinggi. Beberapa metode hidrolisis satu langkah dan hasil rendemen XOS yang dihasilkannya dapat dilihat pada Tabel 2. Walaupun beberapa penggunaan metode autohidrolisis dan hidrolisis asam secara tunggal mampu menghasilkan rendemen XOS yang tinggi, metode-metode tersebut cenderung memiliki banyak kelemahan, terutama dalam menghasilkan banyak monosakarida dan senyawa toksik yang tidak diinginkan sehingga proses pemurnian yang dibutuhkan menjadi lebih kompleks (Vázquez et al., 2000).

Tingkat keparahan yang tinggi menggunakan asam kuat, seperti H_2SO_4, dapat menyebabkan degradasi XOS menjadi xilosa dan degradasi xilosa lebih lanjut menjadi furfural. Selain itu, penggunaan asam kuat juga disertai dengan persyaratan metalurgi yang mahal dan rejimen penghambatan korosi sehingga menambah biaya keseluruhan proses. Pendekatan dengan metode hidrolisis asam yang lebih aman untuk produksi XOS adalah dengan menggunakan asam lemah dan/atau asam organik, seperti asam asetat, asam butirat, asam furoat, dan asam glukonat (Huang et al., 2022). Salah satu contoh katalis asam yang cocok adalah asam asetat. Hidrolisis yang dikatalisis oleh asam asetat menghasilkan XOS dengan berbagai derajat polimerisasi (DP) serta sejumlah kecil xilosa dan furfural. Penelitian yang dilakukan oleh Zhang et al. (2017) menunjukkan biomassa tongkol jagung yang dihidrolisis dengan asam asetat pada suhu 150 ºC menghasilkan 45.9% XOS/xilan atau 13,97% XOS/biomassa dengan DP bervariasi dari X1 sampai X6 dan >X6 (Zhang et al., 2017).

Tabel 2. Strategi Produksi XOS dengan Metode Hidrolisis Satu Langkah

Jenis Biomassa	Metode	Rendemen XOS/biomassa (%b/b)	Rendemen XOS/xilan (%b/b)	Referensi
	Autohidrolisis			
Tandan Kosong Kelapa Sawit	Non-isotermal, 210 ºC, Rasio cairan:padatan (LSR) = 8 (b/b)	-	63	(Akpinar et al., 2009a)
Cangkang Hazelnut	Isotermal, 190 ◦C, 5 menit waktu penahanan, LSR = 10	10	62	(Surek & Buyukkileci, 2017)
Cangkang kastanye	Non-isotermal 180 ºC LSR = 8, *Severity factor* (S_0) = 3.08	7.1	-	(Gullón et al., 2018)

	Hidrolisis Asam			
Tongkol Jagung	Asam Asetat pH 2.7, 150◦C, 30 menit	13.97	45.9	(Zhang et al., 2017)
Jerami Padi	H_2SO_4 2% (b/b), 100◦C, 30 menit	18.2	27.8	(Sophonputtanaphoca et al., 2018)
Ampas Tebu	H_2SO_4 0.24 M, 90 ◦C, 31 menit dengan bantuan iradiasi gelombang mikro (*Microwave-assisted*)	9.7	29	(Bian et al., 2014)
Ampas Tebu	10% asam asetat 150◦C, 45 menit	10.9	39.1	(Zhou & Xu, 2019)
Ampas Tebu	Asam glukonat 5%, 150◦C, 60 menit	14.1	53.2	(Zhou et al., 2019)

Metode Hidrolisis Dua Langkah

Strategi berikutmya yang banyak diterapkan untuk memproduksi XOS adalah metode hidrolisis dua langkah. Langkah pertama adalah pra-perlakuan bahan baku lignoselulosa dan langkah kedua adalah perlakuan hidrolisis xilan yang biasanya dilakukan secara enzimatis (Santibáñez et al., 2021). Saat ini, pendekatan dua langkah ini merupakan strategi yang paling banyak digunakan untuk produksi XOS. Beberapa metode hidrolisis dua langkah yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 3.

Komponen xilan dalam kompleks lignoselulosa diketahui ditemukan dalam tiga bentuk, yakni 1) bebas; 2) sebagai glukuronoxilan yang melekat pada unit selulosa; atau 3) melekat pada lignin dalam kompleks xilan-lignin. Di antara ketiga bentuk tersebut, kompleks xilan-lignin adalah yang paling sulit dipecah serta tahan terhadap hidrolisis enzimatis dan mikroba (Qing et al., 2013). Oleh karena itu, untuk melepaskan xilan dari interaksinya dengan senyawa komponen lignoselulosa lainnya, bahan baku limbah pertanian harus diberi pra-perlakuan terlebih dahulu sebelum dihidrolisis lebih lanjut secara enzimatis untuk menghasilkan XOS. Beberapa metode pra-perlakuan yang banyak digunakan, di antaranya ialah autohidrolisis/hidrotermal, iradiasi gelombang mikro, dan secara kimia menggunakan larutan asam/alkali.

Berbeda dengan autohidrolisis untuk produksi XOS pada metode satu langkah, pra-perlakuan dengan autohidrolisis umumnya dilakukan dalam autoklaf dan kondisi operasi yang digunakan lebih ringan sehingga bisa meminimalkan jumlah senyawa yang tidak diinginkan. (Chapla et al., 2012; Otieno & Ahring, 2012a). Metode pra-perlakuan dengan solubilisasi dalam larutan asam atau basa adalah yang paling banyak digunakan. Namun, senyawa kimia lain seperti zat pengoksidasi, garam atau alkohol juga dapat diterapkan menghilangkan lignin (Vázquez et al., 2000).

Kombinasi pra-perlakuan diketahui banyak diaplikasikan untuk memaksimalkan ekstraksi xilan. Penelitian yang dilaporkan oleh Samanta *et al.* (2012) menunjukkan pra-perlakuan tongkol jagung dengan menggunakan kombinasi larutan NaOH 12% dan aplikasi uap panas menghasilkan 32.38% xilan/biomassa. Hasil tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan hanya menggunakan solubilisasi dalam larutan NaOH tanpa perlakuan uap panas (23% xilan/biomassa) (Samanta et al., 2012). Penelitian lain juga menunjukkan kombinasi metode pra-perlakuan mampu menghasilkan rendemen xilan yang tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Zhao *et al.* (2021) mengusulkan pra-perlakuan ampas tebu dengan menggunakan larutan 1.9% KOH dan 3.9% H_3PO_4 yang menunjukkan bahwa rendemen xilan yang dihasilkan adalah sebesar 64,2% (Zhao et al., 2021).

Tabel 3. Strategi Produksi XOS dengan Metode Hidrolisis Dua Langkah

Jenis Biomassa	Metode Pra-Perlakuan	Metode Hidrolisis	Rendemen Xilan/Biomassa (%b/b)	Rendemen XOS/Biomassa (%b/b)	Rendemen XOS/Xilan (%b/b)	Referensi
		Hidrolisis Enzimatis				
Tongkol Jagung	H_2SO_4 1.0 g/l, 60 °C, 12 jam dan pemanasan dengan autoklaf pada 135–140°C, 0.5 jam	Xilanase dari *Penicillium corylophilum* P-3-31, pH 4.5, 50°C, 24 jam	34.8	23.6	67.7	(R. Yang et al., 2005)
Tongkol Jagung	Delignifikasi dengan 75% HPAA (hidrogen peroksida -asam asetat) dan 75 mM H_2SO_4 sebagai katalis	Xilanase	20.9	5.83	27.8	(Hao et al., 2022)
Tongkol Jagung	Tekanan Ultra-Tinggi (*Ultra-High Pressure*/UHP) 100 MPa, 10 menit	Endoxilanase *Streptomyces thermovulgaris* TISTR1948, pH 6.5, 55°C, 18 jam	33.4	3.6	10.7	(Seesuriyachan et al., 2017)
Tongkol Jagung	*Steam explosion* 165 °C 35 menit pada air elektrolisis asam pH 2.2	Xilanase rekombinan (PbXyn10A) dari *Paenibacillus curdlanolyticus*	31.2	23.4	75	(Liu et al., 2018)
Ampas Tebu	8.0% NaOH, 2.48% H_2O_2, 40°C, 24 jam	Endo-β-1,4-xIlanase rekombinan dari *P. pastoris* (rHlxyn11A), pH 5.5, 36 °C, 150 rpm, 24 jam	10.5	6.0	57.4	(Xue et al., 2016)
Ampas Tebu	15% ammonia 121°C, 30 menit di autoklaf	β-xilanase bebas xilosidase dari *Bacillus subtilis* KCX006 pH 5.5, 50 °C, 30 jam	28.4	19.3	68.0	(Reddy & Krishnan, 2016)
Ampas Tebu	1.9% KOH, 50 menit, 120 °C dan 3.9% H_3PO_4, 44 menit, 54 °C	Endo-xilanase rekombinan dari *P. pastoris* (rHlxyn11A), pH 5.5, 40 °C, 180 rpm, 96 jam	12.17	7.15	58.7	(Zhao et al., 2021)
Jerami Gandum	Hidrotermal 180◦C, 40 menit	Endo-β-1-4-xilanase dari *Trichoderma Reesei*, pH 4.8, 50 °C, 48 jam	73	23	31.5	(Huang et al., 2017)
Sekam padi	12% NaOH, 133.64 °C, 30 menit	β-1,4-xilanase komersial, pH 6.0, 50 °C, 10 menit	54.5	9.5	17.4	(Khat-udomkiri et al., 2018)
		Metode Fisiko-kimia				
Batang tembakau	8% KOH or NaOH 90◦C	1 M asam tartarat 90°C, 120 menit	17.0	6.1	35.7	(Samanta et al., 2019)
Tongkol jagung	NaOH 12% dan aplikasi uap panas (121 °C, 1 atm, 45 menit).	0.25 M H_2SO_4, 90 °C, 1 jam	32.38	-	-	(Samanta et al., 2012)
Ampas Tebu	Delignifikasi dengan $NaClO_2$ dalam larutan asam, 75 °C, 2 jam. Ekstraksi xilan dengan KOH 10%, 30 °C, 10 jam	0.24 M H_2SO_4, 31 menit, menggunakan *microwave*, 90 °C	28.07	8.15	29.02	(Bian et al., 2014)

Beberapa penelitian menunjukkan, setelah melalui proses pra-perlakuan biomassa, rendemen XOS yang tinggi cenderung diperoleh dari proses hidrolisis secara enzimatis. Seperti yang dilaporkan oleh Yang *et al.* (2005), rendemen XOS sebesar 67.7% diperoleh dari xilan tongkol jagung melalui proses hidrolisis enzimatis menggunakan xilanase dari *Penicillium corylophilum* P-3-31 (R. Yang et al., 2005). Penelitian lain juga menunjukkan ampas tebu yang sebelumnya diberi pra-perlakuan dengan 15% ammonia 121°C selama 30 menit di autoklaf dan dihidrolisis oleh β-xilanase bebas xilosidase dari *Bacillus subtilis* KCX006 menghasilkan rendemen XOS/xilan sebesar 68% (Reddy & Krishnan, 2016).

Xilan dalam hemiselulosa biasanya tersubstitusi oleh gugus rantai samping yang dapat mengganggu pengikatan endo-xilanase pada substrat dengan hambatan sterik, dan akibatnya menghambat aktivitas endo-xilanase untuk memecah xilan. Untuk meningkatkan efisiensi dan kemurnian degradasi xilan, enzim tambahan, yakni α-D-glukuronidase, asetilxilan esterase, α-L-arabinofuranosidase, feruloil esterase, atau p-koumaroil esterase, perlu digabungkan dengan xilanase untuk mendegradasi gugus rantai samping selama proses hidrolisis enzimatis (Santibáñez et al., 2021). Namun, untuk mencapai efek yang paling sinergis, penting untuk mempertimbangkan bahwa hingga saat ini sebagian besar enzim tambahan hanya dapat bekerja pada oligosakarida tersubstitusi yang dihasilkan dari pemecahan xilan oleh endo-xilanase dan hanya sedikit yang telah diidentifikasi dengan aktivitas pada xilan polimer (Malgas et al., 2019). Beberapa penelitian menunjukkan penambahan α-L-arabinofuranosidase meningkatkan hidrolisis fraksi arabinoxilan dan meningkatkan biokonversi biomassa limbah pertanian menjadi XOS, misalnya, kombinasi endoksilanase rekombinan dan α-L-arabinofuranosidase dari strain *Aspergillus hortai* CRM1919 menghasilkan peningkatan 100% dalam hidrolisis xilan (Terrone et al., 2020).

Keefektifan dan efisiensi proses hidrolisis secara enzimatis juga dapat ditingkatkan dengan menggunakan xilanase rekombinan. Sistem produksi xilanase rekombinan mulai berkembang dalam beberapa tahun terakhir, terutama untuk memperoleh xilanase bebas xilosidase. Selain itu, sistem produksi xilanase rekombinan dapat memberikan solusi terhadap permasalahan produksi enzim secara alami dalam skala besar yang membutuhkan proses pemurnian yang sangat kompleks. Terdapat tiga inang ekspresi rekombinan yang telah banyak digunakan, yakni *Escherichia coli*, *Pichia pastoris*, dan *Aspergillus*. Untuk tujuan karakterisasi enzim atau rekayasa protein, sistem ekspresi yang ideal adalah *E. Coli*. untuk produksi protein glikosilasi skala besar atau dengan jembatan disulfida, sistem ekspresi eukariotik, terutama *P. pastoris*, harus dipilih. Untuk menghemat biaya dalam media kultur, *Aspergillus* adalah kandidat yang baik karena fermentasi dapat dilakukan dengan menggunakan fermentasi media padat atau *solid-state fermentasi* (SSF) dengan menggunakan substrat yang murah, seperti berbagai macam limbah pertanian (Santibáñez et al., 2021).

SIMPULAN

Dalam ulasan ini, kami telah merangkum beberapa metodologi dan strategi produksi XOS dari biomassa limbah pertanian. Beberapa alternatif strategi produksi yang potensial telah banyak dilakukan dengan berbagai macam sumber. Namun, masih terdapat beberapa hambatan dalam persiapan XOS, terutama untuk aplikasinya pada produk pangan fungsional. Salah satunya disebabkan oleh masih sulitnya mendapatkan produk XOS dalam skala besar dengan kemurnian tinggi dan biaya yang rendah, dan kurangnya konsistensi kualitas XOS dari setiap batch produksi yang berbeda, terutama dalam memperoleh derajat polimerisasi yang diinginkan, karena kurang adanya metode persiapan standar. Skenario aktual aplikasi XOS sebagai bahan pangan fungsional hingga saat ini juga hanya terbatas pada percobaan skala laboratorium. Masih minimnya studi yang dilakukan dalam skala pilot untuk memproduksi XOS, terutama yang berasal dari limbah pertanian, sehingga pengembangannya masih dibutuhkan lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

Aachary, A. A., & Prapulla, S. G. (2009). Value addition to corncob: Production and characterization of xylooligosaccharides from alkali pretreated lignin-saccharide complex using Aspergillus oryzae MTCC 5154. *Bioresource Technology*, *100*(2), 991–995. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.050

Aachary, A. A., & Prapulla, S. G. (2011). Xylooligosaccharides (XOS) as an Emerging Prebiotic: Microbial Synthesis, Utilization, Structural Characterization, Bioactive Properties, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *10*(1), 2–16. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00135.x

Ahmad, R. (2019). Better health with plants plant oligosaccharides: trends and future. *Proceeding of the International Conference on Food and Agriculture*, 601–607.

Akpinar, O., Ak, O., Kavas, A., Bakir, U., & Yilmaz, L. (2007). Enzymatic Production of Xylooligosaccharides from Cotton Stalks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(14), 5544–5551. https://doi.org/10.1021/jf063580d

Akpinar, O., Erdogan, K., & Bostanci, S. (2009a). Enzymatic production of Xylooligosaccharide from selected agricultural wastes. *Food and Bioproducts Processing*, *87*(2), 145–151. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2008.09.002

Akpinar, O., Erdogan, K., & Bostanci, S. (2009b). Production of xylooligosaccharides by controlled acid hydrolysis of lignocellulosic materials. *Carbohydrate Research*, *344*(5), 660–666. https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.01.015

Álvarez-Cervantes, J. (2016). Mycosphere Essay 10: Properties and characteristics of microbial xylanases. *Mycosphere*, *7*(10), 1600–1619. https://doi.org/10.5943/mycosphere/si/3b/12

Amorim, C., Silvério, S. C., Prather, K. L. J., & Rodrigues, L. R. (2019). From lignocellulosic residues to market: Production and commercial potential of xylooligosaccharides. *Biotechnology Advances*, *37*(7), 107397. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.05.003

Amorim, C., Silvério, S. C., Silva, S. P., Coelho, E., Coimbra, M. A., Prather, K. L. J., & Rodrigues, L. R. (2018). Single-step production of arabino-xylooligosaccharides by recombinant Bacillus subtilis 3610 cultivated in brewers' spent grain. *Carbohydrate Polymers*, *199*, 546–554. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.017

Ávila, P. F., Martins, M., de Almeida Costa, F. A., & Goldbeck, R. (2020). Xylooligosaccharides production by commercial enzyme mixture from agricultural wastes and their prebiotic and antioxidant potential. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *24*, 100234. https://doi.org/10.1016/J.BCDF.2020.100234

Beg, Q. K., Kapoor, M., Mahajan, L., & Hoondal, G. S. (2001). Microbial xylanases and their industrial applications: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *56*(3–4), 326–338. https://doi.org/10.1007/s002530100704

Behera, S., Arora, R., Nandhagopal, N., & Kumar, S. (2014). Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *36*, 91–106. https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.047

Bian, J., Peng, P., Peng, F., Xiao, X., Xu, F., & Sun, R.-C. (2014). Microwave-assisted acid hydrolysis to produce xylooligosaccharides from sugarcane bagasse hemicelluloses. *Food Chemistry*, *156*, 7–13. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.112

Cano, M. E., García-Martin, A., Comendador Morales, P., Wojtusik, M., Santos, V. E., Kovensky, J., & Ladero, M. (2020). Production of Oligosaccharides from Agrofood Wastes. *Fermentation*, *6*(1), 31. https://doi.org/10.3390/fermentation6010031

Carvalho, A. F. A., Neto, P. de O., da Silva, D. F., & Pastore, G. M. (2013). Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis. *Food Research International*, *51*(1), 75–85. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.021

Chang, S., Guo, Y., Wu, B., & He, B. (2017). Extracellular expression of alkali tolerant xylanase from Bacillus subtilis Lucky9 in E. coli and application for xylooligosaccharides production from agro-industrial waste. *International Journal of Biological Macromolecules*, *96*, 249–256. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.032

Chapla, D., Pandit, P., & Shah, A. (2012). Production of xylooligosaccharides from corncob xylan by fungal xylanase and their utilization by probiotics. *Bioresource Technology*, *115*, 215–221. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.10.083

Chen, H., Liu, J., Chang, X., Chen, D., Xue, Y., Liu, P., Lin, H., & Han, S. (2017). A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. *Fuel Processing Technology*, *160*, 196–206. https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.12.007

Chen, M.-H., Bowman, M. J., Dien, B. S., Rausch, K. D., Tumbleson, M. E., & Singh, V. (2014). Autohydrolysis of Miscanthus x giganteus for the production of xylooligosaccharides (XOS): Kinetics, characterization and recovery. *Bioresource Technology*, *155*, 359–365. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.050

Chen, Y., Xie, Y., Ajuwon, K. M., Zhong, R., Li, T., Chen, L., Zhang, H., Beckers, Y., & Everaert, N. (2021). Xylo-Oligosaccharides, Preparation and Application to Human and Animal Health: A Review. *Frontiers in Nutrition*, *8*. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.731930

Correia, M. A. S., Mazumder, K., Brás, J. L. A., Firbank, S. J., Zhu, Y., Lewis, R. J., York, W. S., Fontes, C. M. G. A., & Gilbert, H. J. (2011). Structure and function of an arabinoxylan-specific xylanase. *Journal of Biological Chemistry*, *286*(25), 22510–22520. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.217315

Courtin, C. M., Swennen, K., Verjans, P., & Delcour, J. A. (2009). Heat and pH stability of prebiotic arabinoxylooligosaccharides, xylooligosaccharides and fructooligosaccharides. *Food Chemistry*, *112*(4), 831–837. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.06.039

de Freitas, C., Carmona, E., & Brienzo, M. (2019). Xylooligosaccharides production process from lignocellulosic biomass and bioactive effects. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *18*, 100184. https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2019.100184

Delazar, A., Nahar, L., Hamedeyazdan, S., & Sarker, S. D. (2012). *Microwave-Assisted Extraction in Natural Products Isolation* (pp. 89–115). https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1_5

Ebringerová, A., Hromádková, Z., & Heinze, T. (n.d.). Hemicellulose. In *Polysaccharides I* (pp. 1–67). Springer-Verlag. https://doi.org/10.1007/b136816

Falck, P., Precha-Atsawanan, S., Grey, C., Immerzeel, P., Stålbrand, H., Adlercreutz, P., & Nordberg Karlsson, E. (2013). Xylooligosaccharides from Hardwood and Cereal Xylans Produced by a Thermostable Xylanase as Carbon Sources for Lactobacillus brevis and Bifidobacterium adolescentis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(30), 7333–7340. https://doi.org/10.1021/jf401249g

Finegold, S. M., Li, Z., Summanen, P. H., Downes, J., Thames, G., Corbett, K., Dowd, S., Krak, M., & Heber, D. (2014). Xylooligosaccharide increases bifidobacteria but not lactobacilli in human gut microbiota. *Food & Function*, *5*(3), 436. https://doi.org/10.1039/c3fo60348b

Garrote, G., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2002). Autohydrolysis of corncob: study of non-isothermal operation for xylooligosaccharide production. *Journal of Food Engineering*, *52*(3), 211–218. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00108-X

Gullón, B., Eibes, G., Dávila, I., Moreira, M. T., Labidi, J., & Gullón, P. (2018). Hydrothermal treatment of chestnut shells (Castanea sativa) to produce oligosaccharides and antioxidant compounds. *Carbohydrate Polymers*, *192*, 75–83. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.051

Hao, X., Xu, F., & Zhang, J. (2022). Effect of pretreatments on production of xylooligosaccharides and monosaccharides from corncob by a two-step hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, *285*, 119217. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119217

Ho, A. L., Carvalheiro, F., Duarte, L. C., Roseiro, L. B., Charalampopoulos, D., & Rastall, R. A. (2014). Production and purification of xylooligosaccharides from oil palm empty fruit bunch fibre by a non-isothermal process. *Bioresource Technology*, *152*, 526–529. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.114

Hong, C., Corbett, D., Venditti, R., Jameel, H., & Park, S. (2019). Xylooligosaccharides as prebiotics from biomass autohydrolyzate. *LWT*, *111*, 703–710. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.098

Huang, C., Lai, C., Wu, X., Huang, Y., He, J., Huang, C., Li, X., & Yong, Q. (2017). An integrated process to produce bio-ethanol and xylooligosaccharides rich in xylobiose and xylotriose from high ash content waste wheat straw. *Bioresource Technology*, *241*, 228–235. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.109

Huang, C., Yu, Y., Li, Z., Yan, B., Pei, W., & Wu, H. (2022). The preparation technology and application of xylo-oligosaccharide as prebiotics in different fields: A review. In *Frontiers in Nutrition* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.996811

Illanes, A., Vera, C., & Wilson, L. (2016). Enzymatic Production of Galacto-Oligosaccharides. *Lactose-Derived Prebiotics: A Process Perspective*, 111–189. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802724-0.00004-4

Immerzeel, P., Falck, P., Galbe, M., Adlercreutz, P., Nordberg Karlsson, E., & Stålbrand, H. (2014). Extraction of water-soluble xylan from wheat bran and utilization of enzymatically produced xylooligosaccharides by Lactobacillus, Bifidobacterium and Weissella spp. *LWT - Food Science and Technology*, *56*(2), 321–327. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.013

Khat-udomkiri, N., Sivamaruthi, B. S., Sirilun, S., Lailerd, N., Peerajan, S., & Chaiyasut, C. (2018). Optimization of alkaline pretreatment and enzymatic hydrolysis for the extraction of xylooligosaccharide from rice husk. *AMB Express*, *8*(1), 115. https://doi.org/10.1186/s13568-018-0645-9

Kim, J. S., Lee, Y. Y., & Kim, T. H. (2016). A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, *199*, 42–48. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.085

Kucharska, K., Rybarczyk, P., Hołowacz, I., Łukajtis, R., Glinka, M., & Kamiński, M. (2018). Pretreatment of Lignocellulosic Materials as Substrates for Fermentation Processes. *Molecules*, *23*(11), 2937. https://doi.org/10.3390/molecules23112937

Liu, X., Liu, Y., Jiang, Z., Liu, H., Yang, S., & Yan, Q. (2018). Biochemical characterization of a novel xylanase from Paenibacillus barengoltzii and its application in xylooligosaccharides production from corncobs. *Food Chemistry*, *264*, 310–318. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.023

Mäkeläinen, H., Forssten, S., Saarinen, M., Stowell, J., Rautonen, N., & Ouwehand, A. (2010). Xylo-oligosaccharides enhance the growth of bifidobacteria and *Bifidobacterium lactis* in a simulated colon model. *Beneficial Microbes*, *1*(1), 81–91. https://doi.org/10.3920/BM2009.0025

Mäkeläinen, H., Juntunen, M., & Hasselwander, O. (2009). Prebiotic Potential of Xylo-Oligosaccharides. In *Prebiotics and Probiotics Science and Technology* (pp. 245–258). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-0-387-79058-9_8

Malgas, S., Mafa, M. S., Mkabayi, L., & Pletschke, B. I. (2019). A mini review of xylanolytic enzymes with regards to their synergistic interactions during hetero-xylan degradation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *35*(12), 187. https://doi.org/10.1007/s11274-019-2765-z

Manisseri, C., & Gudipati, M. (2010). Bioactive xylo-oligosaccharides from wheat bran soluble polysaccharides. *LWT - Food Science and Technology*, *43*(3), 421–430. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.09.004

Manisseri, C., & Gudipati, M. (2012). Prebiotic Activity of Purified Xylobiose Obtained from Ragi (Eleusine coracana, Indaf-15) Bran. *Indian Journal of Microbiology*, *52*(2), 251–257. https://doi.org/10.1007/s12088-011-0176-4

Moure, A., Gullón, P., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2006). Advances in the manufacture, purification and applications of xylo-oligosaccharides as food additives and nutraceuticals. *Process Biochemistry*, *41*(9), 1913–1923. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.05.011

Otieno, D. O., & Ahring, B. K. (2012a). A thermochemical pretreatment process to produce xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS) and mannooligosaccharides (MOS) from lignocellulosic biomasses. *Bioresource Technology*, *112*, 285–292. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.162

Otieno, D. O., & Ahring, B. K. (2012b). The potential for oligosaccharide production from the hemicellulose fraction of biomasses through pretreatment processes: xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS), and mannooligosaccharides (MOS). *Carbohydrate Research*, *360*, 84–92. https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.07.017

Patel, S., & Goyal, A. (2011). Functional oligosaccharides: production, properties and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *27*(5), 1119–1128. https://doi.org/10.1007/s11274-010-0558-5

Poletto, P., Pereira, G. N., Monteiro, C. R. M., Pereira, M. A. F., Bordignon, S. E., & de Oliveira, D. (2020a). Xylooligosaccharides: Transforming the lignocellulosic biomasses into valuable 5-carbon sugar prebiotics. *Process Biochemistry*, *91*, 352–363. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.01.005

Poletto, P., Pereira, G. N., Monteiro, C. R. M., Pereira, M. A. F., Bordignon, S. E., & de Oliveira, D. (2020b). Xylooligosaccharides: Transforming the lignocellulosic biomasses into valuable 5-carbon sugar prebiotics. *Process Biochemistry*, *91*, 352–363. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.01.005

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

Praveen Kumar, G., Pushpa, A., & Prabha, H. (2012). A review on xylooligosaccharides. *International Research Journal of Pharmacy*, *3*(8), 71–74. www.irjponline.com

Qing, Q., Li, H., Kumar, R., & Wyman, C. E. (2013). Xylooligosaccharides Production, Quantification, and Characterization in Context of Lignocellulosic Biomass Pretreatment. In *Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical Conversion to Fuels and Chemicals* (pp. 391–415). John Wiley & Sons, Ltd. https://doi.org/10.1002/9780470975831.ch19

Rajagopalan, G., Shanmugavelu, K., & Yang, K.-L. (2016). Production of xylooligosaccharides from hardwood xylan by using immobilized endoxylanase of Clostridium strain BOH3. *RSC Advances*, *6*(85), 81818–81825. https://doi.org/10.1039/C6RA17085D

Rajagopalan, G., Shanmugavelu, K., & Yang, K.-L. (2017). Production of prebiotic-xylooligosaccharides from alkali pretreated mahogany and mango wood sawdust by using purified xylanase of Clostridium strain BOH3. *Carbohydrate Polymers*, *167*, 158–166. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.021

Reddy, S. S., & Krishnan, C. (2016). Production of high-pure xylooligosaccharides from sugarcane bagasse using crude β-xylosidase-free xylanase of Bacillus subtilis KCX006 and their bifidogenic function. *LWT - Food Science and Technology*, *65*, 237–245. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.013

Saha, B. C. (2003). Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *30*(5), 279–291. https://doi.org/10.1007/s10295-003-0049-x

Samanta, A. K., Chikkerur, J., Roy, S., Kolte, A. P., Sridhar, M., Dhali, A., Giridhar, K., & Senani, S. (2019). Xylooligosaccharides Production from Tobacco Stalk Xylan using Edible Acid. *Current Science*, *117*(9), 1521. https://doi.org/10.18520/cs/v117/i9/1521-1525

Samanta, A. K., Jayapal, N., Jayaram, C., Roy, S., Kolte, A. P., Senani, S., & Sridhar, M. (2015a). Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural by-products: Production and applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *5*(1), 62–71. https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.12.003

Samanta, A. K., Jayapal, N., Jayaram, C., Roy, S., Kolte, A. P., Senani, S., & Sridhar, M. (2015b). Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural by-products: Production and applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *5*(1), 62–71. https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.12.003

Samanta, A. K., Senani, S., Kolte, A. P., Sridhar, M., Sampath, K. T., Jayapal, N., & Devi, A. (2012). Production and in vitro evaluation of xylooligosaccharides generated from corn cobs. *Food and Bioproducts Processing*, *90*(3), 466–474. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.11.001

Santibáñez, L., Henríquez, C., Corro-Tejeda, R., Bernal, S., Armijo, B., & Salazar, O. (2021). Xylooligosaccharides from lignocellulosic biomass: A comprehensive review. *Carbohydrate Polymers*, *251*, 117118. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117118

Seesuriyachan, P., Kawee-ai, A., & Chaiyaso, T. (2017). Green and chemical-free process of enzymatic xylooligosaccharide production from corncob: Enhancement of the yields using a strategy of lignocellulosic destructuration by ultra-high pressure pretreatment. *Bioresource Technology*, *241*, 537–544. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.193

Sophonputtanaphoca, S., Pridam, C., Chinnak, J., Nathong, M., & Juntipwong, P. (2018). Production of non-digestible oligosaccharides as value-added by-products from rice straw. *Agriculture and Natural Resources*, *52*(2), 169–175. https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.06.013

Surek, E., & Buyukkileci, A. O. (2017). Production of xylooligosaccharides by autohydrolysis of hazelnut (Corylus avellana L.) shell. *Carbohydrate Polymers*, *174*, 565–571. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.06.109

Terrone, C. C., Montesino de Freitas Nascimento, J., Fanchini Terrasan, C. R., Brienzo, M., & Carmona, E. C. (2020). Salt-tolerant α-arabinofuranosidase from a new specie Aspergillus hortai CRM1919: Production in acid conditions, purification, characterization and application on xylan hydrolysis. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *23*, 101460. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101460

Uçkun Kiran, E., Akpinar, O., & Bakir, U. (2013). Improvement of enzymatic xylooligosaccharides production by the co-utilization of xylans from different origins. *Food and Bioproducts Processing*, *91*(4), 565–574. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.12.002

Vázquez, M. J., Alonso, J. L., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2000). Xylooligosaccharides: manufacture and applications. *Trends in Food Science & Technology*, *11*(11), 387–393. https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00031-0

Wang, J., Cao, Y., Wang, C., & Sun, B. (2011). Wheat bran xylooligosaccharides improve blood lipid metabolism and antioxidant status in rats fed a high-fat diet. *Carbohydrate Polymers*, *86*(3), 1192–1197. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.014

Xue, J.-L., Zhao, S., Liang, R.-M., Yin, X., Jiang, S.-X., Su, L.-H., Yang, Q., Duan, C.-J., Liu, J.-L., & Feng, J.-X. (2016). A biotechnological process efficiently co-produces two high value-added products, glucose and xylooligosaccharides, from sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, *204*, 130–138. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.082

Yang, J., Summanen, P. H., Henning, S. M., Hsu, M., Lam, H., Huang, J., Tseng, C.-H., Dowd, S. E., Finegold, S. M., Heber, D., & Li, Z. (2015). Xylooligosaccharide supplementation alters gut bacteria in both healthy and prediabetic adults: a pilot study. *Frontiers in Physiology*, *6*. https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00216

Yang, R., Xu, S., Wang, Z., & Yang, W. (2005). Aqueous extraction of corncob xylan and production of xylooligosaccharides. *LWT - Food Science and Technology*, *38*(6), 677–682. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.023

Yu, X., Yin, J., Li, L., Luan, C., Zhang, J., Zhao, C., & Li, S. (2015). Prebiotic Potential of Xylooligosaccharides Derived from Corn Cobs and Their In Vitro Antioxidant Activity When Combined with Lactobacillus. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *25*(7), 1084–1092. https://doi.org/10.4014/jmb.1501.01022

Yusuf, S. (2017). *Tidak Hanya dari Kayu, Sumber Lignoselulosa Juga Bisa dari Limbah*. Http://Lipi.Go.Id/Berita/Tidak-Hanya-Dari-Kayu-Sumber-Lignoselulosa-Juga-Bisa-Dari-Limbah/19044.

Zhang, H., Xu, Y., & Yu, S. (2017). Co-production of functional xylooligosaccharides and fermentable sugars from corncob with effective acetic acid prehydrolysis. *Bioresource Technology*, *234*, 343–349. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.094

Zhao, S., Zhang, G.-L., Chen, C., Yang, Q., Luo, X.-M., Wang, Z.-B., Wu, A.-M., & Feng, J.-X. (2021). A combination of mild chemical pre-treatment and enzymatic hydrolysis efficiently produces xylooligosaccharides from sugarcane bagasse. *Journal of Cleaner Production*, *291*, 125972. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.125972

Zhou, X., & Xu, Y. (2019). Integrative process for sugarcane bagasse biorefinery to co-produce xylooligosaccharides and gluconic acid. *Bioresource Technology*, *282*, 81–87. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.129

Zhou, X., Zhao, J., Zhang, X., & Xu, Y. (2019). An eco-friendly biorefinery strategy for xylooligosaccharides production from sugarcane bagasse using cellulosic derived gluconic acid as efficient catalyst. *Bioresource Technology*, *289*, 121755. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121755