

Nilai Aktivitas Enzim Spesifik Xilanase Konsorsium Bakteri MS 16, MS 18 dan MSS 11 Pada Variasi Suhu

Irdawati¹, Rada Armiliandi²

¹²Program Studi Biologi, Universitas Negeri Padang
e-mail: irdawati.amor40@gmail.com

Abstrak

Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang mampu menghidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi xilosa dan xilo-oligosakarida. Xilanase dapat dihasilkan oleh mikroba melalui proses fermentasi. Bakteri Termofilik merupakan mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim termostabil melalui fermentasi. Bakteri termofilik mampu hidup pada suhu di atas 45°C-80°C. Adapun bakteri yang digunakan yaitu MSS11, MS 16 dan MS 18. Untuk mengetahui aktivitas enzim spesifik dilakukan pengujian nilai aktivitas enzim dan protein, dengan menggunakan spektrofotometer 540 nm (enzim) dan 750 nm (protein). Metode yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu bersifat deskriptif dengan triplo. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang pada tanggal 23 Desember 2023. Medium beechwood yang telah dicampur bakteri MSS 11, MS 16, dan MS 18 kemudian diinkubasi pada suhu 50 °C, 55°C, 65°C, 75°C dan 80°C sehingga diperoleh aktivitas enzim spesifiknya. Dari kelima suhu tersebut yang menghasilkan Aktivitas enzim spesifik xilanase yang optimum yaitu suhu 75°C, yang mana nilai enzim spesifik diperoleh pada suhu 75°C yaitu 2,08 U/mg. Sedangkan pada suhu rendah, yaitu pada suhu 50°C reaksi enzimatik berlangsung lambat yaitu memiliki nilai aktivitas enzim sebesar 0,37U/mg.

Kata Kunci : *Aktivitas Enzim, Bakteri Termofilik, Enzim Spesifik, Protein, Xilanase*

Abstract

Xylanase is an extracellular enzyme that is capable of hydrolyzing xylan (hemicellulose) into xylose and xylo-oligosaccharides. Xylanase can be produced by thermophilic microbes. Thermophilic bacteria are microorganisms that are capable of producing thermostable enzymes and can live at temperatures above 45°C-80°C. The structure of an enzyme consists of a series of amino acids whose structure is closely related to temperature. Temperatures above the optimal temperature range can damage the folded structure of the enzyme protein, can change the shape of the enzyme, the active site, which will reduce enzyme activity or stop its activity, whereas below the optimal temperature the protein structure becomes stiff, thereby reducing its activity. This research aims to determine the optimum temperature by thermophilic

bacteria produce the enzyme xylanase and the enzyme activity value was tested using a 540 nm spectrophotometer. This type of research is descriptive. The research used thermophilic bacteria from the Mudiak Sapan (MS) Hot Springs, namely isolates MS 16, MS 18, and MSS 11. Making beechwood medium as a medium used to activate bacterial consortia at various temperatures, beechwood medium which had been mixed with MSS 11 bacteria, MS 16 and MS 18 were then incubated at temperatures of 55°C, 65°C and 75°C to obtain xylanase enzyme activity. Then the data is presented in table form. Of the five temperatures, the optimum xylanase enzyme activity is 65°C, where the enzyme activity value obtained at 65°C is 0.593 U/mL. Meanwhile, at low temperatures, namely at 55°C, the enzymatic reaction is slow, namely it has an enzyme activity value of 0.426 U/mL. Finally, at a temperature of 75°C, there was a decrease in specific enzyme activity, where the specific enzyme activity value was 0.191 U/mL.

Keywords: *Xylanase, Thermophilic Bacteria, Temperature, Enzyme Activity*

PENDAHULUAN

Industri enzim telah berkembang pesat dan menempati posisi penting dalam bidang industri. (Mufarrikha *et al.*, 2014). Penggunaan enzim dalam industri menyumbang sekitar 80% dari komersialisasi enzim global (Miguel *et al.*, 2013). Enzim merupakan unit protein fungsional yang berperan mengkatalisis reaksi-reaksi dalam metabolisme sel dan reaksi-reaksi lain dalam tubuh. Spesifikasi enzim terhadap substratnya teramat tinggi dalam mempercepat reaksi kimia tanpa produk samping (Wuriyanti, 2004). Enzim biasanya dihasilkan dari organisme hidup, baik dari hewan, tumbuhan, atau mikroorganisme (Asnawi *et al.*, 2014). Jenis – jenis enzim antara lain adalah enzim amilase, selulase, kitinase dan pektinase dan xilanase. Masing-masing enzim memiliki peranan yang berbeda – beda karena enzim bersifat spesifik (Kurniawati *et al.*, 2019). Enzim mempunyai sifat-sifat yang unik antara lain, daya katalitik sangat besar, reaksi spesifik, kondisi reaksi yang ringan dan dapat diregulasi (Ferdinal, 2005).

Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang mampu menghidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi xilosa dan xilo-oligosakarida. Xilanase dapat digunakan dalam pemutihan kertas, penjernihan sirup, produksi gula xilosa, dan lain-lain (Ardiansyah *et al.*, 2014). Xilanase dapat dihasilkan oleh mikroba melalui proses fermentasi (Susilowati *et al.*, 2012). Xilanase termostabil atau termofilik menunjukkan keuntungan nyata dalam aplikasi yang memerlukan suhu tinggi untuk meningkatkan bioavailabilitas dan/atau kelarutan substrat dalam mengurangi viskositas dan/atau risiko kontaminasi (Zhang *et al.*, 2010). Aplikasi enzim dalam bidang industri semakin membutuhkan enzim yang berada di lingkungan yang ekstrim. Karena faktor utama yang dapat merusak enzim adalah suhu, maka diperlukan enzim bersifat termostabil, yaitu enzim yang tahan terhadap suhu tinggi (Nanda *et al.*, 2017). Termostabilitas ditentukan dengan mengukur aktivitas sisa dalam kondisi pengujian optimal setelah preinkubasi enzim pada suhu berbeda dengan adanya berbagai ion logam (Lama *et al.*, 2001)

Bakteri Termofilik merupakan mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim termostabil melalui fermentasi. (Susilowati *et al.*, 2012). Bakteri termofilik mampu hidup pada suhu di atas 45°C-80°C (Talaro dan Arthur 2002). Bakteri yang ditemukan di alam baik sebagai kultur tunggal maupun kultur campuran (Padmaperuma, 2020). Penggunaan konsorsium mikroba cenderung memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan penggunaan isolat monokultur, hal ini disebabkan karena kerja enzim dari tiap jenis mikroba dapat saling melengkapi untuk dapat bertahan hidup menggunakan sumber nutrisi yang tersedia dalam media pembawa tersebut (Siahaan *et al.*, 2013). Menurut Deng (2016), di dalam dunia industri konsorsium mikroba dapat menghasilkan enzim xilanase dengan kemampuan hidrolisis yang lebih tinggi.

Aktivitas enzim xilanase dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang mencakup suhu, pH, substrat dan kofaktor. Kebutuhan suhu dan pH optimum bagi aktivitas enzim ditentukan oleh suhu dan pH lingkungan asal bakteri (Hairisah, 2018). Suhu dan pH sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan aktivitas enzim (Habibie *et al.*, 2013). Struktur suatu enzim terdiri dari serangkaian asam amino yang strukturnya berkaitan erat dengan suhu. Suhu di atas suhu optimal dapat merusak struktur lipatan protein enzim, sedangkan di bawah suhu optimal struktur protein menjadi kaku sehingga menurunkan aktivitasnya (Wahidah *et al.*, 2022). Aktivitas spesifik enzim merupakan suatu ukuran kemurnian yang ukuran nilainya akan meningkat selama proses pemurnian (Chayani *et al.*, 2017). Satuan dari aktivitas spesifik enzim jumlah unit aktivitas enzim per jumlah protein yang digunakan (Wuryanti 2003). Machfoed *et al.*, (1989) melaporkan bahwa jumlah aktivitas enzim spesifik ditentukan dari nilai aktivitas enzim dengan protein terlarut dalam supernatan enzim. Aktivitas enzim dalam mengkatalis substrat dipengaruhi oleh kelengkapan komponen penyusunnya.

Suhu lingkungan cocok untuk kehidupan dengan beragam sistem mikroba yang mampu bertahan pada suhu tinggi. Resistensi bakteri terhadap suhu tinggi disebabkan karena bakteri termofilik memiliki struktur protein yang berbeda dengan bakteri mesofilik sehingga dapat bertahan hidup pada suhu ekstrim (Suharti dan Putra 2022). Karakterisasi enzim pada kondisi yang berbeda mengarah pada penentuan kondisi fermentasi enzim yang optimal. Suhu di atas kisaran optimal mampu mengubah bentuk enzim. situs aktif, yang akan mengurangi aktivitas enzim atau menghentikan aktivitasnya. selanjutnya, penting untuk melakukan optimasi suhu dalam produksi enzim (syarif *et al.*, 2023). Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui suhu optimum yang mampu menghasilkan enzim xilanase dari konsorsium bakteri termofilik.

METODE

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian adalah: erlenmeyer, beaker glass, petridish, gelas ukur, autoklaf, tabung reaksi, bunsen, *centrifuge*, inkubator, timbangan digital, jarum inokulasi, oven, pipet tetes, rak tabung reaksi, spektrofotometer, kompor listrik (*hot plate*), *vortex mixer*, *stirer*, label, mikropipet, *shaker incubator*. Isolat konsorsium bakteri termofilik MS (Mudiak Sapan) yaitu isolat MS18,

MSS11, dan MS16 (koleksi Dr. Irdawati, M.Si, 2016) dari laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNP, aquades, tissue, kain kasa, kapas, alkohol 70%, Medium Nutrien Agar (NA), xilan, *Dinitrosalicylic Acid* (DNS), Medium *Beechwood* ekstrak jerami 0,3%, *Peptone Bacteriological*, *Yeast Extract*, CaCl_2 0,2 M, HCl, NaOCl, K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan Etanol 95%.

METODE

a). Regenerasi Bakteri

Regenerasi bakteri dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni ke dalam medium NA miring. Kultur bakteri diinkubasi dalam *inkubator* pada suhu 50°C selama 2-5 hari.

b). Pembuatan Medium *Beechwood* Ekstrak Jerami Padi

Medium untuk menumbuhkan bakteri penghasil xilanase yaitu menggunakan medium *beechwood* ekstrak jerami dengan komposisi polipepton 0,5%, yeastextract 0,1%, K_2HPO_4 0,1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,02%, dan ekstrak jerami (xilan) 0,3%. Larutkan dalam 1000 ml akuades dengan pH 8. Panaskan dan aduk hingga homogen kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

c). Aktivasi Isolat Konsorsium Penghasil Protein dan Enzim Xilanase Pada Variasi Suhu

Isolat bakteri MSS 11, MS 16 dan MS 18 diaktivasi terlebih dahulu. Inokulum dipersiapkan dengan isolat bakteri dimasukkan kedalam larutan fisiologis dengan tingkat kekeruhan sesuai larutan McFrland. Apabila telah sesuai, inokulum dimasukkan sebanyak 2,5 ml kedalam medium *beechwood* xilan ekstrak Jerami 22,5 ml pada erlenmeyer 50 ml. selanjutnya inokulum tersebut diinkubasi pada berbagai suhu yaitu: 55°C, 65°C, dan 75°C selama 24 jam menggunakan shaker incubator dengan kecepatan 140 rpm. Kemudian starter dari masing-masing isolat tunggal tersebut diambil sebanyak 3,5 ml kemudian dimasukkan kedalam Erlenmeyer 250 ml. Lalu diaktivasi kembali selama 6 jam menggunakan shaker inkubator dengan kecepatan 150 rpm.

d). Pengukuran Aktivitas Enzim

Pengujian aktivitas enzim xilanase dilakukan menurut Bailey *et al.* (1992) yang dimodifikasi, menggunakan 1,0% (b/v) xilan dalam buffer fosfat (pH 8,0) untuk reaksi. Campuran uji (1,0 ml larutan substrat dan 0,5 ml larutan enzim) diinkubasi 60°C selama 10 menit dan reaksi dihentikan dengan penambahan 1,0 ml pereaksi asam dinitrosalisilat (DNS), diikuti dengan menjaga pada 90°C selama 15 menit untuk menghentikan reaksi enzim dan diukur absorbansi pada 540 nm. Jumlah gula pereduksi dibebaskan ditentukan (Miller, 1959) menggunakan kurva standar xilosa. Satu unit (U) aktivitas xilanase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk membebaskan 1 μmol dari xilosa/menit di bawah kondisi pengujian. Substrat dan enzim tidak aktif (dinonaktifkan pada 100°C selama 30 menit) digunakan sebagai blanko.

Kurva standar xilosa dibuat pada kisaran 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/ml. Sebanyak 0.5 ml masing-masing larutan standar dicampur dengan 0.5 ml aquadest, kemudian ditambah 1 ml pereaksi DNS. Tabung dimasukkan dalam penangas air mendidih selama 15 menit, kemudian didinginkan dan diabsorbansi pada panjang gelombang 540 nm.

e). Pengukuran Aktivitas Protein

Kadar protein dari filtrat enzim diukur dengan menggunakan metode Lowry (1976). Kadar protein dalam sampel dapat ditentukan dengan 0,1 ml sampel enzim ditambahkan 0,9 ml pereaksi C lalu dikocok dan didiamkan selama 15 menit. tambahkan pereaksi pewarna folin ciocalteau sebanyak 3 ml lalu di kocok dan di diamkan selama 30 menit. Lalu tentukan absorbansi spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm. Kadar protein enzim ditentukan dengan membandingkan hasil absorbansi dengan kurva standar Bovine Serum Albumin (BSA). Blanko ditentukan dengan cara 0,1 ml aquades dicampur dengan 0,9 ml pereaksi C dan 3 ml pereaksi folin ciocalteau.

f). Enzim Spesifik

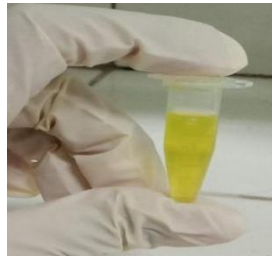
Aktivitas spesifik enzim xylanase (U/mg) merupakan rasio dari aktivitas enzim xylanase (Unit/ml) terhadap kadar protein (mg/ml). Satuan aktivitas spesifik enzim : Unit/mg.

HASIL DAN PEMBAHASAN

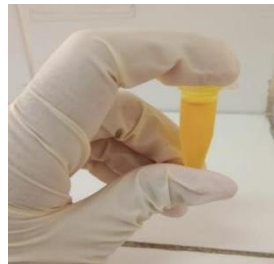
Hasil pengukuran protein dan enzim pada isolat bakteri MSS 11, MS 16 dan MS 18 pada variasi suhu 50°C, 55°C, 65°C, 75°C dan 80°C didapatkan hasil enzim spesifik sebagai berikut:

Tabel 1. Nilai pengukuran enzim, protein dan enzim spesifik dari konsorsium bakteri termofilik MSS 11, MS 16 dan MS 18

Suhu (°C)	Enzim Spesifik (U/mg)
50°C	0,37
55°C	1,83
65°C	1,7
75°C	2,08
80°C	0,66



Gambar 1. Larutan *Crude Protein*



Gambar 1. Larutan *Crude Enzim*

Aktivitas enzim adalah besarnya kemampuan enzim dalam mengkatalisis reaksi penguraian sumber karbon. Aktivitas enzim dinyatakan dengan U/mL. Sedangkan aktivitas enzim spesifik dinyatakan dengan U/mg. Berdasarkan tabel diatas pada suhu 75°C menunjukkan hasil aktivitas enzim spesifik yang optimum sebesar 2,08 U/mg. Ini berarti bahwa makin murni protein enzim, makin tinggi aktivitasnya sebagai enzim. Hal ini sesuai Cahyani (2017) Aktivitas spesifik enzim merupakan suatu ukuran kemurnian yang ukuran nilainya akan meningkat selama proses pemurnian. Aktivitas spesifik enzim didefinisikan sebagai jumlah unit enzim per miligram protein. Wuriyanti (2003) Menyatakan kemurnian enzim ditentukan oleh tinggi rendahnya aktivitas spesifik enzim. Semakin tinggi nilai aktivitas spesifik enzim maka semakin murni. Xilanase termotabil atau termofilik menunjukkan keuntungan nyata dalam aplikasi yang memerlukan suhu tinggi untuk meningkatkan bioavailabilitas dan kelarutan substrat dalam mengurangi viskositas atau risiko kontaminasi (Zhang *et al.*, 2010).

Dapat dilihat bahwa suhu 75°C aktivitas enzim spesifiknya lebih tinggi dibandingkan suhu 50°C, 55°C, 65°C dan 80°C. Karena faktor-faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah suhu, konsentrasi enzim, substrat, senyawa inhibitor dan aktivator serta pH. (Noviyanti & Ardiningsih 2013). penelitian Zhang *et al.*, (2010) juga menyimpulkan bahwa suhu 70°C adalah suhu optimum untuk menghasilkan nilai enzim spesifik yang tertinggi yaitu 92,5 U/mg.

Suhu 55°C dan 65°C aktivitas enzim spesifik mulai menurun yaitu sebesar 1,83 U/mg dan 1,7 U/mg. Bertambahnya suhu sampai dengan suhu optimum menyebabkan terjadinya kenaikan kecepatan reaksi enzim karena bertambahnya energi kinetik yang mempercepat gerak enzim dan substrat. Energi tersebut menaikkan benturan antara molekul-molekul sehingga memperbesar peluang keduanya untuk bereaksi membentuk kompleks enzim substrat yang lebih stabil dan

produk yang terbentuk juga akan semakin banyak sehingga aktivitas enzim bertambah (Mulyani, 2010). Penurunan aktivitas enzim tersebut dikarenakan kenaikan suhu yang semakin besar, menyebabkan jumlah enzim yang terdenaturasi semakin banyak sehingga semakin sedikit enzim yang dapat berikatan dengan substrat pada sisi aktifnya (Laksanawati *et al.*, 2023)

Enzim dapat melakukan pekerjaannya yang spesifik terhadap suatu substrat, melalui peran asam amino tertentu yang berada pada situs aktifnya (active-site). Dalam konformasi tertentu yang dipengaruhi oleh kondisi lingkungan di sekitarnya (suhu, pH, komposisi medium), situs aktif mampu mengenal substratnya dan melakukan pemutusan atau penyambungan ikatan kimia spesifik (Ferdinal, 2005). Biaya produksi enzim merupakan faktor penting dalam evaluasi kesesuaiannya untuk aplikasi industri. Intensif upaya telah dilakukan untuk mengoptimalkan parameter fermentasi produksi xilosa. Xilosa sangat mahal dan karenanya tidak praktis untuk digunakan pada skala komersial. (Lama *et al.*, 2001)

Sebelum mencapai temperatur 75°C terlihat bahwa aktivitas enzim spesifik masih kecil, hal ini disebabkan karena pada suhu tersebut energi aktivasi yang diperlukan enzim untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis substrat belum maksimal, sehingga enzim tidak dapat bekerja dengan baik (Bahri *et al.*, 2012). Kenaikan pada suhu 75°C menyebabkan aktivitas enzim spesifik meningkat hingga mencapai suhu optimum. Setelah mencapai kondisi optimum, terlihat bahwa aktivitas enzim juga menurun. Terjadinya penurunan aktivitas ini karena pada suhu tinggi yaitu suhu 80°C dengan aktivitas enzim spesifik sebesar 0,66 U/mg yang menyebabkan struktur enzim akan berubah sehingga sisi aktif enzim akan rusak atau berubah dan menyebabkan aktivitasnya menurun. Setiap enzim memiliki aktivitas maksimum pada suhu tertentu, aktivitas enzim akan semakin meningkat dengan bertambahnya suhu hingga suhu optimum tercapai. Kenaikan suhu di atas suhu optimum akan menyebabkan aktivitas enzim spesifiknya juga menurun (Baehaki, 2008). Aktivitas spesifik enzim menunjukkan suatu ukuran kemurnian enzim atau dapat digunakan sebagai indikasi ada tidaknya inhibitor enzim atau represor sintesis enzim di dalam media produksi enzim. Apabila kadar protein tinggi, tetapi aktivitas spesifik rendah, maka ini menunjukkan selain adanya protein lain, konsentrasi inhibitor dalam media produksi enzim tinggi. Kadar protein tinggi juga dapat diakibatkan karena protein yang terukur termasuk protein struktural bakteri dan protein yang terkandung dalam medium (Cahyani *et al.*, 2017).

Peningkatan aktivitas enzim akan berhenti ketika mencapai suhu optimum. Hal ini dikarenakan pada suhu optimum struktur ikatan dalam enzim akan melemah (Pratiwi, 2008). Suhu maksimum akan membuat struktur protein terbuka dan gugus non polar yang berada di dalam molekul menjadi terbuka yang mengakibatkan kelarutan protein di dalam air yang polar menjadi turun sehingga aktivitas enzim juga akan menurun (Sholeha & Agustini 2021).

Apabila suhu inkubasi meningkat diatas suhu optimum maka dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim akibat terjadinya denaturasi xilanase, dimana sisi aktif

enzim dapat terganggu sehingga enzim tidak dapat bekerja dengan baik (Widhiana, 2015). Menurut Madigan *et al.*, (2012), suhu metabolisme dapat meningkat hingga terjadi denaturasi. Setelah keadaan terdenaturasi tercapai, fungsi sel berkurang menjadi nol, menyebabkan enzim tidak berfungsi. Suhu yang tidak sesuai untuk substrat dapat mengubah bentuk substrat sehingga substrat tidak dapat memasuki situs aktif enzim (Rumiris *et al.*, 2012).

Suhu sangat mempengaruhi aktivitas suatu enzim. Sisi aktif enzim merupakan tempat yang spesifik dimana substrat membentuk ikatan pada enzim (Fujii, 2019). Pada suhu rendah, yaitu pada suhu 50°C reaksi enzimatik berlangsung lambat yaitu memiliki nilai aktivitas enzim spesifik juga lebih rendah yaitu 0,37 U/mg. Hal ini dikarenakan sebagian protein telah mengalami kerusakan atau terdenaturasi. Suhu lingkungan yang meningkat di sekitar enzim akan menyebabkan putusanya ikatan hidrogen, ikatan ion atau interaksi hidrofobik sehingga struktur tersier enzim berubah, yang menyebabkan struktur lipatan enzim membuka pada bagian permukaan sehingga sisi aktif enzim berubah mengakibatkan terjadi penurunan aktivitas enzim (Whitaker, 1994).

Kadar protein dari filtrat enzim diukur dengan menggunakan metode Lowry (1976), tujuan dari pengujian protein adalah untuk mengetahui jumlah protein yang terkandung dalam crude enzim xylanase dan menghitung aktifitas spesifik enzim tersebut. Dengan mengetahui aktifitas spesifik enzim dapat diketahui besarnya aktifitas enzim dalam protein. Protein yang terlarut dalam media fermentasi perlu diukur untuk mengetahui jumlah protein enzim yang disintesis oleh mikroba dan untuk menghitung aktivitas spesifik enzim. Namun protein terlarut yang terukur tidak mutlak mencerminkan bahwa yang terukur semuanya enzim yang disintesis oleh mikroorganisme, karena di dalam media juga mengandung protein terlarut berupa sisa media (yeast ekstrak) atau hasil metabolisme protein mikroorganisme yang disekresikan. Selain itu tidak semua protein enzim adalah kelompok dari xylanase.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa: Nilai aktivitas enzim spesifik yang optimum diperoleh pada suhu 75°C dengan nilai sebesar 2,08 U/mg, dan yang paling rendah diperoleh pada suhu 50°C sebesar 0,37 U/mg.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardiansyah, Y. T., Mulyani, N. S., & Sarjono, P. R. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Enzim Xilanase dari *Bacillus Subtilis* pada Media Nutrient Broth dengan Penambahan Xilan Hasil Isolasi Jerami Padi. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17(3), 95-99.
- Asnawi, I., Natsir, H., & Hariani, N. (2014). Eksplorasi mikroba penghasil enzim lipolitik pada sumber air panas Lemo Susu, Pinrang, Sulawesi Selatan. *Jurnal Sains Dasar*, 2(1), 1-6.
- Baehaki, A. (2008). Purifikasi dan karakterisasi protease dari bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal Teknologi*.

- Bahri, S., Mirzan, M., & Hasan, M. (2012). Karakterisasi enzim amilase dari kecambah biji jagung ketan (*Zea mays ceratina* L.). *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 1(1).
- Cahyani, P., Wijanarka, W., & Raharjo, B. (2017). Aktivitas Spesifik Selulase *Serratia marcescens* dengan Variasi Konsentrasi Amonium Sulfat ((NH₄)₂SO₄) dan pH. *Jurnal Akademika Biologi*, 6(2), 41-49.
- Deng, Y. J., & Wang, S. Y. (2016). Synergistic growth in bacteria depends on substrate complexity. *Journal of Microbiology*, 54, 23-30.
- Fujii, J. (2019). *Catalytic Protein - Enzyme*. In *Medical Biochemistry*, 5th ed., pp. 61–74.
Elsevier Ltd
- Gaman, P. M. (1994). Sherrington. 1981. *The Science of Food*.
- Habibie, F. M., Sigres, D. P., Islami, S., & Noer, L. (2013)). Isolasi dan Karakterisasi Mikroba Termofilik Penghasil Xilanase dari Lumpur Panas Lapindo sebagai Alternatif Pengganti Klorin pada Industri Kertas. In *Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional Program Kreativitas Mahasiswa-Penelitian*. Indonesian Ministry of Research,
- Hairisah, S. F. (2018). Produksi dan karakterisasi enzim xilanase isolat *Bacillus* sp. UJ-131 sebagai kandidat probiotik dari Hutan Mangrove Margasari Lampung Timur. *Skripsi*. Universitas Negeri Lampung.
- Kurniawati, L., Kusdiyantini, E., & Wijanarka, W. (2019). Pengaruh variasi suhu dan waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim selulase dari bakteri *Serratia marcescens*. *Jurnal Akademika Biologi*, 8(1), 1-9.
- Lama, L., Nicolaus, B., Calandrelli, V., Romano, I., Basile, R., & Gambacorta, A. (2001). Purification and characterization of thermostable xylose (glucose) isomerase from *Bacillus thermoantarcticus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 27(4), 234-240.
- MadiganMT, MartinkoJM, StahlDA &Clark DP. (2012). *Biology of Microorganisms*. Tokyo: Benjamin Cummings.
- Machfoed, E.G., Said dan Krisnani. (1989). *Fermentor. Petunjuk Laboratorium*. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Martoharsono, S. 1994. Biokimia. *Gadjah Mada University Press*, Yogyakarta
- Miguel, A. M., Martins-Meyer, T. S., Figueiredo, E. V. D. C., Lobo, B. W. P., & Dellamora-Ortiz, G. M. (2013). Enzymes in bakery: current and future trends. *Food industry*, 287-321.
- Mufarrikha, I., Roosdiana, A., & Prasetyawan, S. (2014). Optimasi Kondisi Produksi Pektinase dari *Aspergillus niger*. *Kimia Student Journal*, 2 (1), 393-399.
- Mulyani, Y. 2006. *Perbandingan Aktivitas Enzim Amilase dari Biji Jagung yang Sedang Tumbuh dengan Amilase dari Saccharomycopsis Fibuligera*, <http://pustaka.unpad.ac.id> (diunduh pada tanggal 28 Juli 2011).
- Mulyani, N. S. 2010. Penentuan Temperatur dan pH Optimum pada Uji Aktivitas Xilase Hasil Isolasi dari *Aspergillus niger* dengan Menggunakan Media

Pertumbuhan Sekam Padi. *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*. Semarang: UNDIP

- Nanda, P. T. (2017). Isolasi, Karakterisasi dan Uji Potensi Bakteri Penghasil Enzim Termostabil Air Panas Kerinci. *Chempublish Journal*, 2(1), 26-31.
- Noviyanti, T., & Ardiningsih, P. (2013). Pengaruh temperatur terhadap aktivitas enzim protease dari daun sansakng (*Pycnarrhena cauliflora* Diels). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(1).
- Padmaperuma, G., Butler, T. O., Shuhaili, F. A. A., Almalki, W. J., & Vaidyanathan, S. (2020). Microbial consortia: Concept and application in fruit crop management. In *Fruit crops* (pp. 353-366).
- Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga
- Rumiris, DaviS & DahliatyA. (2012). Optimalisasi Suhu Produksi Enzim Selulase dari Bakteri Selulolitik yang diisolasi Dari Sungai Siak. *Jurnal Kimia*.7(1): 1-7
- Sharif, S., Shah, A. H., Fariq, A., Jannat, S., & Rasheed, S. R. (2023). Production, characterization and applications of cellulase from thermophilic *Anoxybacillus* and *Bacillus*.
- Sholeha, R., & Agustini, R. (2021). Lipase biji-bijian dan karakteristiknya. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(2), 168-183.
- Siahaan, S., Hutapea, M., & Hasibuan, R. (2013). Penentuan kondisi optimum suhu dan waktu karbonisasi pada pembuatan arang dari sekam padi. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 2(1), 26-30.
- Suharti, N. S., & Putra, G. (2022). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Penghasil Amilase dari Sumber Air Panas Sidebuk-debuk Sumatera Utara. *Jurnal Ilmiah Panmed (Pharmacist, Analyst, Nurse, Nutrition, Midwifery, Environment, Dentist)*, 17(1), 147-157.
- Susilowati, P. E., Raharjo, S., Kurniawati, D., Rahim, R., Sumarlin, A., & Ardiansyah, A. (2012). Produksi Xilanase dari Isolat Sumber Air Panas Sonai, Sulawesi Tenggara, menggunakan Limbah Pertanian. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(3), 1-6.
- Talaro, K. P., & Arthur, T.(2002). *Microbiology*. New York: Hill Companies.
- Wahidah, T. H., Mustikaningtyas, D., Widiatningrum, T., & Dewi, P. (2022). Pengaruh Faktor Lingkungan terhadap Pertumbuhan *Trichoderma* spp. dan Aktivitas Enzim Amilase dan Xilanase. *Life Science*, 11(2), 108-119.
- Whitaker, J.,R., (1994). *Principle of Enzymology for The Food Science, Second Edition*. New York: Marcel Decker
- Widhiana, E. T., Ardiningsih, P., & Destiarti, L. (2015). Produksi dan Karakterisasi Xilanase dari Jamur Xilanolitik Asidofilik. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(2).
- Wuryanti. (2003). Penentuan aktivitas spesifik heksokinase dari limbah anggur pisang biji. *JSKA* 7(3):2,4.
- Wuryanti, W. (2004). Isolasi dan Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim Bromelin dari Buah Nanas (*Ananas comosus* L.). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 7(3), 78-82.

Zhang, G., Mao, L., Zhao, Y., Xue, Y., & Ma, Y. (2010). Characterization of a thermostable xylanase from an alkaliphilic *Bacillus* sp. *Biotechnology letters*, 32, 1915-1920.