

Analysis Specific Activity of Xylanase Enzyme Produced by The Consortium of Thermophilic Bacteria from Sapan Sungai Aro Hot Spring

Analisis Aktivitas Spesifik Enzim Xilanase yang Dihasilkan oleh Konsorsium Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro

Feby Yeriska, Mulia, Irdawati*, Linda Advinda, Dwi Hilda Putri

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatra, Indonesia

*Correspondence author: irdawati.amor40@gmail.com

Abstract

Thermophilic bacteria are bacteria that are able to survive in high temperatures ranging from 45 – 80°C so that they have the potential to produce enzymes that are stable against heat. Thermophilic bacteria can be found in various places in nature that have potential hot springs. One of the potentials of thermophilic bacteria in producing enzymes is the xylanase enzyme. Xylanase is able to hydrolyze xylan (hemicellulose) into xylo-oligosaccharide and xylose. In the industrial world, xylanase enzymes are used as paper whiteners, increase the volume of bread, as juice purification, and are used in the manufacture of detergents. This research is a type of descriptive research that aims to determine the specific activity of the xylanase enzyme and the levels of xylanase protein produced by thermophilic bacteria SSA (Sapan Sungai Aro) with bacterial isolates SSA3, SSA4, SSA5, SSA6, SSA7, SSA8, SSA13, SSA14 and SSA15. The results showed that the bacterial isolates SSA3, SSA4, SSA5; isolates SSA6, SSA7, and SSA8; and SSA13, SSA14 and SSA15 respectively had specific activity of the xylanase enzyme with an average value of 0.1614 Unit/mg; 0.1638 Unit/mg and 0.1473 Unit/mg. The final measurement results showed that the highest specific activity of the xylanase enzyme was in the consortium of thermophilic bacteria isolates SSA6, SSA7, and SSA8 with an average of 0.1638 Unit/mg.

Key words : *Thermophilic bacteria, xylanase, enzyme*

Abstrak

Bakteri termofilik merupakan bakteri yang mampu bertahan hidup dalam suhu yang tinggi berkisar antara 45 – 80°C sehingga sangat potensial untuk memproduksi enzim yang stabil terhadap panas. Bakteri termofilik dapat ditemukan di berbagai tempat di alam yang memiliki potensi sumber air panas. Potensi bakteri termofilik dalam menghasilkan enzim salah satunya adalah enzim xilanase. Xilanase mampu menghidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi xilo-oligosakarida dan xilosa. Dalam dunia industri, enzim xilanase dimanfaatkan sebagai pemutih kertas, meningkatkan volume roti, sebagai pemurnian jus, hingga digunakan dalam pembuatan deterjen. Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas spesifik enzim xilanase yang dihasilkan oleh bakteri termofilik SSA (Sapan Sungai Aro) dengan perlakuan konsorsium isolat bakteri terpilih, yaitu isolat SSA3, SSA4, SSA5, SSA6,

SSA7, SSA8, SSA13, SSA14 dan SSA15. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri SSA3, SSA4, SSA5; isolat SSA6, SSA7, dan SSA8; serta SSA13, SSA14 dan SSA15 berturut-turut memiliki aktivitas spesifik enzim xylanase dengan rata-rata nilai 0,1614 Unit/mg; 0,1638 Unit/mg dan 0,1473 Unit/mg. Hasil akhir pengukuran menunjukkan bahwa aktivitas spesifik enzim xylanase tertinggi adalah pada konsorsium isolat bakteri termofilik SSA6, SSA7, dan SSA8 dengan rata-rata 0,1638 Unit/mg.

Kata kunci : *Bakteri termofilik, xylanase, enzim*

Pendahuluan

Bakteri merupakan mikroorganisme yang keberadaannya dekat dengan manusia dan dapat dijadikan sebagai katalisator yang dapat meningkatkan reaksi kimia enzim. Bakteri banyak digunakan dalam industri seperti bakteri termofilik. Bakteri termofilik merupakan sumber potensial enzim tertentu yang banyak digunakan di industri karena mempunyai banyak keuntungan. Misalnya, mikroba termofilik dari berbagai genera, termasuk *Bacillus*, *Geobacillus*, *Acidothermus*, *Cellulomonas*, *Paenibacillus*, *Thermoanaerobacterium*, *Actinomyces*, *Alicyclobacillus*, *Anoxybacillus*, *Nesterenkonia*, dan *Enterobacter* telah dilaporkan menghasilkan xylanase yang termostabil (Bhalla *et al.*, 2013). Bakteri termofilik dapat menghasilkan enzim termostabil dan memiliki aktivitas optimal pada suhu tinggi. Sifat tersebut sangat dibutuhkan oleh industri dan bioteknologi seperti pada pembuatan kertas dan sintesis zat-zat organik, dibutuhkan dalam teknik-teknik biologi molekuler yang berguna bagi dunia penelitian serta diagnostik dan kemampuan enzim untuk mengubah tepung, makanan, serta pengelolaan sampah (Sutiamiharja, 2008).

Enzim termostabil memiliki keuntungan yang jelas sebagai katalis dalam proses konversi lignoselulosa karena aksesibilitas enzim yang lebih baik dan disorganisasi dinding sel yang dicapai pada kondisi reaksi suhu tinggi (Paes & O'Donohue, 2006). Bakteri termofilik mampu menghasilkan enzim xylanase yang dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya optimasi mikroba seperti suhu, kecepatan aerasi, konsentrasi substrat dan pH. Aktivitas optimal enzim berasal dari pH pertumbuhan bakteri tersebut. Suhu juga mempunyai pengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan mikroba, laju sintesis enzim, dan kecepatan inaktivasi enzim. Kemudian, aerasi berfungsi agar mempertahankan kondisi aerobik untuk desorpsi CO₂, mengatur kadar air, dan mengatur temperatur substrat (Polizeli *et al.*, 20005). Xilanase mampu menghidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi xilo-oligosakarida dan xilosa (Richana, 2002). Xilan yang terdapat pada media fermentasi menyebabkan bakteri mensekresi enzim ekstraseluler yang dapat mengubah xilan menjadi molekul sederhana sebagai sumber karbon, sehingga produksi bakteri memerlukan substrat sebagai penginduksi, yaitu xilanase (Irdawati *et al.*, 2019).

Penelitian terkait enzim xilanase yang dihasilkan dari kultur campuran (konsorsium) saat ini telah banyak dilakukan, seperti pada penelitian Zhang *et al.*, (2018) yang mendapati bahwa penggunaan konsorsium mikroba TMC7 yang diisolasi dari kompos termofilik limbah pertanian lokal menunjukkan aktivitas xilanase dengan hasil tertinggi yang mampu dicapai sebesar 18,7 U/mL. Penelitian serupa dilakukan oleh Angural *et al.*, (2021) yang menunjukkan bahwa konsorsium bakteri alkalofilik *Bacillus* sp. NG-27 dan *Bacillus nealsonii* PN-11 dengan konsentrasi inokulum 0,75% dan waktu inkubasi 96 jam mampu mencapai aktivitas xilanase tertinggi sebesar 156,0 U/mL. Konsorsium mikroba menarik perhatian dalam industri enzim xilanase dalam potensinya untuk meningkatkan hasil produksi enzim selain dari faktor lain, seperti volume medium pertumbuhan, pH, agitasi, suhu, ukuran inokulum, dll.

Menurut Irdawati *et al.*, (2020) aktivitas xilanase terus meningkat hingga pH 9, kemudian pada pH yang lebih tinggi aktivitasnya menurun. Kondisi pH optimum dibutuhkan oleh enzim untuk mengaktifkan seluruh enzim yang mengikat substrat dan mengubahnya menjadi produk. Enzim xilanase dapat diperoleh dari berbagai mikroba salah satunya dari hasil isolasi bakteri termofilik dari sumber Air Panas Sapan Sungai Aro, Kabupaten Solok Selatan yang dilakukan oleh Irdawati *et al.*, (2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas spesifik enzim xilanase yang dihasilkan oleh bakteri termofilik SSA (Sapan Sungai Aro)

dengan konsorsium isolat bakteri terpilih, yaitu isolat SSA3, SSA4, SSA5; SSA6, SSA7, SSA8; serta SSA13, SSA14 dan SSA15.

Bahan dan Metode

Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2022 di Laboratorium Penelitian dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu botol sampel steril, kantong plastik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, eppendorf, hot plate, shaker incubator, erlenmeyer, beaker glass, botol semprot, tabung falcon, *centrifuge*, timbangan analitik, autoklaf, oven, magnetic stirrer, spektrofotometer, lampu *spiritus*, mikropipet, *waterbath*, dan alat tulis. Bahan yang digunakan adalah kultur bakteri termofilik SSA (isolat SSA3, SSA4, SSA5, SSA6, SSA7, SSA8, SSA13, SSA14 dan SSA15), medium Beechwood xylan, Aquades, Reagen D, Buffer Phosphate, Dinitrosalicylic Acid (DNS), Folin 1N, Polipepton 0,5 %, Yeast Extract Agar 0,1 %, K_2HPO_4 (*Dipotassium fosfat*), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, Kertas wrap, Aluminium foil.

Prosedur Penelitian

1. Sterilisasi

Semua alat-alat dan medium yang digunakan terlebih dahulu disterilisasi. Sterilisasi alat dan medium Sterilisasi alat dan medium dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2. Pembuatan Medium Beechwood Xylan

Pertumbuhan bakteri penghasil xilanase digunakan medium cair Beechwood xylan dengan komposisi polipepton 0,5 %, yeast extract 0,1 %, K_2HPO_4 (Dipotassium fosfat), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (Magnesium Sulphate Heptahydrate) (Irdawati *et al.*, 2018). Kemudian, semua bahan dilarutkan ke dalam erlenmeyer berukuran 500 ml dengan volume sebanyak 300 ml. Campuran medium tersebut dipanaskan sampai mendidih, setelah mendidih medium disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi selama 15 menit (Fifendy *et al.*, 2015).

3. Pembuatan Starter

Starter dibuat dengan terlebih dahulu mengaktivasi bakteri SSA secara monokultur. Bakteri diaktivasi dengan menyiapkan medium sebanyak 20 ml pada 9 erlenmeyer berukuran 25 ml dan melakukan inokulasi isolat bakteri termofilik SSA3, SSA4, SSA5, SSA6, SSA7, SSA8, SSA13, SSA14 dan SSA15 ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya, inokulum dimasukkan ke dalam shaker inkubator dengan suhu 60°C, kecepatan 150 rpm selama 24 jam dan setelahnya dapat digunakan sebagai starter. Setelah 24 jam, starter diambil sebanyak 2 ml dari masing-masing erlenmeyer dan diinokulasikan kembali ke dalam 3 buah erlenmeyer berisi 20 ml medium Beechwood xilan untuk selanjutnya dibuat konsorsium trikultur (SSA3, SSA4, dan SSA5; SSA6, SSA7, dan SSA8; SSA13, SSA14 dan SSA15) sebanyak tiga kali ulangan (triplo) yang akan diinkubasi pada shaker inkubator selama 6 jam.

4. Mengukur Aktivitas Enzim

Sampel disentrifuge menggunakan tabung falcon sebanyak 15 ml selama 15 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Hasil sentrifuge menghasilkan supernatan yang kemudian diambil sebanyak 0,25 ml. Selanjutnya, 0,25 ml *supernatant* dimasukkan ke dalam larutan *buffer phosphate* pH 8.5 berisi 0,5 gr *xylose* dan diinkubasi selama 10 menit dengan suhu 60°C di dalam *waterbath*. Selanjutnya, 0,5 ml larutan DNS ditambahkan dan diinkubasi di dalam oven selama 15 menit dengan suhu 90°C kemudian absorbansi diukur dengan panjang gelombang 540 nm.

5. Mengukur protein

Enzim 0,1 ml ditambah dengan 0,5 ml reagen D dan divortex. Kemudian dioven selama 10 menit dengan suhu 50°C. Kemudian 0,05 ml folin 1N ditambahkan dan didiamkan selama 30 menit dengan suhu 20 - 25°C. Setelah itu absorbansi diukur dengan panjang gelombang 750 nm.

Analisis Data

Data hasil uji kompatibilitas bakteri termofilik dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menggunakan kultur bakteri termofilik yang telah diisolasi kemudian disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Negeri Padang. Adapun isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil penelitian Irdawati et al., (2015) yang bersumber dari sumber air panas Sapan Sungai Aro Kabupaten Solok Selatan dengan diperoleh 16 isolat bakteri termofilik yang berada berdasarkan karakteristik morfologinya (bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni). Dari 16 isolat yang diperoleh, 7 isolat berasal dari sampel air dan 9 isolat berasal dari sampel sedimen tanah (sludge).

Isolat bakteri yang kami gunakan dalam penelitian ini adalah isolat SSA3, SSA4, SSA5, SSA6, SSA7, SSA8, SSA13, SSA14, dan SSA15. Pertumbuhan bakteri isolat SSA dinyatakan dalam aktivitas enzim (Irdawati et al., 2018). Penentuan aktivitas enzim xylanase diperoleh dari penghitungan melalui persamaan regresi dari Kurva Standar Xilosa sedangkan penentuan aktivitas protein diperoleh dari penghitungan melalui persamaan regresi dari Kurva Standar Bovin Serum Agar (BSA).

Tabel 1. Data Hasil Pengukuran Enzim pada Spektrofotometer (OD)

Starter	OD			Jumlah
	Ulangan			
	1	2	3	
SSA3, SSA4, SSA5	0,555	0,501	0,679	1,735
SSA6, SSA7, SSA8	0,576	0,479	0,590	1,645
SSA13, SSA14, SSA15	0,501	0,572	0,548	1,621

Tabel 2. Data Hasil Pengukuran Protein pada Spektrofotometer (OD)

Starter	OD			Jumlah
	Ulangan			
	1	2	3	
SSA3, SSA4, SSA5	0,878	0,842	0,724	2,444
SSA6, SSA7, SSA8	0,755	0,774	0,735	2,264
SSA13, SSA14, SSA15	0,807	0,919	0,740	2,466

Persamaan Regresi Kurva Standar Xilosa : $Y = 0,0059X + 0,0112$ (Nisa, 2022).

Tabel 3. Data Hasil Pengukuran Aktivitas Enzim

Starter	AKTIVITAS ENZIM (Unit/ml)			Jumlah	Rata-rata
	Ulangan				
	1	2	3		
SSA3, SSA4, SSA5	92,169	83,016	113,186	288,371	96,123

AKTIVITAS ENZIM (Unit/ml)					
Starter	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
SSA6, SSA7, SSA8	95,728	79,288	98,101	273,117	91,039
SSA13, SSA14, SSA15	83,016	95,050	90,983	269,049	89,683

Persamaan Regresi Kurva Standar Bovine Serum Albumin : $Y = 0,0012X + 0,0862$ (Aini, 2021).

Tabel 4. Data Hasil Pengukuran Aktivitas Protein

AKTIVITAS PROTEIN (mg/ml)					
Starter	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
SSA3, SSA4, SSA5	659,833	629,833	531,5	1821,166	607,055
SSA6, SSA7, SSA8	557,333	573,167	540,667	1671,167	557,055
SSA13, SSA14, SSA15	600,667	694	544,833	1839,5	613,166

Reaksi enzim terjadi selama 10 menit sehingga didapatkan hasil pengukuran aktivitas enzim dan protein sebagai berikut.

Tabel 5. Data Hasil Pengukuran Aktivitas Enzim selama 10 menit

AKTIVITAS ENZIM (Unit/ml) / 10 menit					
Starter	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
SSA3, SSA4, SSA5	9,216	8,301	11,318	28,837	9,612
SSA6, SSA7, SSA8	9,572	7,928	9,810	27,311	9,103
SSA13, SSA14, SSA15	8,301	9,505	9,098	26,904	8,968

Tabel 6. Data Hasil Pengukuran Aktivitas Protein selama 10 menit

AKTIVITAS PROTEIN (mg/ml) / 10 menit					
Starter	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
SSA3, SSA4, SSA5	65,983	62,983	53,150	182,116	60,705
SSA6, SSA7, SSA8	55,7333	57,316	54,0667	167,116	55,705
SSA13, SSA14, SSA15	60,066	69,400	54,483	183,950	61,316

Aktivitas spesifik enzim xylanase (U/mg) merupakan rasio dari aktivitas enzim xylanase (Unit/ml) terhadap kadar protein (mg/ml) (Sugiyono *et al.*, 2003). Satuan aktivitas spesifik enzim adalah Unit/mg.

Tabel 7. Data Hasil Pengukuran Aktivitas Spesifik Enzim

Starter	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
SSA3, SSA4, SSA5	0,139	0,131	0,212	0,484	0,161
SSA6, SSA7, SSA8	0,171	0,138	0,181	0,491	0,163
SSA13, SSA14, SSA15	0,138	0,136	0,166	0,442	0,147

Data hasil pengukuran aktivitas spesifik enzim xylanase menunjukkan bahwa konsorsium isolat bakteri SSA3, SSA4, dan SSA5 menunjukkan rata-rata nilai aktivitas enzim sebesar 0,1614 Unit/mg. Isolat SSA6, SSA7 dan SSA8 menghasilkan rata-rata nilai aktivitas enzim sebesar 0,1638 Unit/mg. Isolat SSA13, SSA14, dan SSA15 menghasilkan rata-rata nilai aktivitas enzim sebesar 0,1473 Unit/mg. Nilai rata-rata aktivitas spesifik enzim xilanase dari ketiga isolat tidak jauh berbeda terutama pada isolat SSA3, SSA4, dan SSA5 dengan rata-rata nilai 0,1614 Unit/mg jika dibandingkan dengan isolat SSA6, SSA7, dan SSA8 dengan rata-rata nilai 0,1638 Unit/mg.

Menurut Irdawati *et al.*, (2018) dalam penelitiannya, beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim antara lain konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu, pH, dan inhibitor. Konsentrasi enzim secara langsung sebanding dengan kecepatan reaksi, tetapi konsentrasi enzim merupakan faktor dasar yaitu bergantung pada faktor lain. Semakin tinggi konsentrasi substrat yang akan meningkatkan reaksi kecepatan hingga kecepatan maksimum tercapai. Suhu dan pH merupakan dua faktor yang bekerja secara spesifik, memiliki nilai optimum tertentu. Sebagai contoh, hasil percobaan Susilowati *et al.* (2012) (dalam Irdawati *et al.*, 2018), menyatakan bahwa suhu dan pH optimum untuk aktivitas xilanase *Pseudomonas sp.* adalah 50°C dan pH 9,0. Penelitian lain melaporkan bahwa isolat bakteri termofilik yang didapatnya memiliki aktivitas xilanase yang optimum pada suhu 50°C dan pH 7,0. Adanya inhibitor enzim mampu menghambat kerja enzim. Pada penelitian yang dilakukan oleh Richana *et al.* (2008), xilanase stabil pada pH 8-9 sampai 18 jam, kemudian aktivitas menurun terutama untuk pH 8, sedangkan untuk pH 9 sampai 24 jam masih tinggi dibandingkan pada lainnya. Grafik stabilitas suhu menunjukkan bahwa xilanase stabil pada suhu 50°C dengan inkubasi 15 menit. Hal ini ditunjukkan dengan tingginya aktivitas sisa xilanase yang mencapai 87,04% setelah diinkubasi 50°C selama 15 menit. Rendahnya aktivitas setelah inkubasi pada suhu tertentu diakibatkan oleh karena berubahnya konformasi xilanase yang bersifat detrimental sehingga jumlah xilanase yang aktif berkurang.

Selain itu, dalam rangka menyiapkan konsorsium bakteri yang unggul, kultur bakteri harus kompatibel satu sama lain tanpa adanya interaksi antagonis sehingga secara bersamaan mampu melakukan semua metabolisme yang diperlukan untuk degradasi yang lebih maksimal (Sarkar *et al.*, 2013). Penelitian yang oleh Deng & Wang (2016) menunjukkan bahwa konsorsium yang sinergis menghasilkan kepadatan pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan monokultur. Hal ini dikarenakan bakteri dalam konsorsium dapat terus tumbuh dengan memanfaatkan metabolit yang dihasilkan oleh bakteri lain meskipun nutrisi utama telah habis. Hasil produksi enzim xilanase menurut Anthony *et al.*, (2016) dapat dipengaruhi oleh peningkatan massa sel bakteri karena aktivitas enzim xilanase berkaitan erat dengan kompatibilitas strain dan ketersediaan nutrisi untuk fermentasi konsorsium yang efektif.

Daftar Pustaka

- Aini, N. 2021. Optimasi Starter dan Agitasi Bakteri Termofilik Amobil pada Substrak Ekastrak Xilan Jerami Padi untuk Produksi Xilanase sebagai Pemutih Limbah Kertas Bertinta. Skripsi. Padang : Universitas Negeri Padang.
- Angural, S., Bala, I., Kumar, A., Kumar, D., Jassal, S., & Gupta, N. (2021). Bleach Enhancement of Mixed Wood Pulp by Mixture of Thermo-Alkali-Stable Xylanase and Mannanase Derived Through Co-Culturing of Alkalophilic *Bacillus* sp. NG-27 and *Bacillus nealsonii* PN-11. *Heliyon*, 7(1), e05673.
- Anthony, P., Harish, B. S., Jampala, P., Ramanujam, S., & Uppuluri, K. B. (2016). Statistical Optimization, Purification and Applications of Xylanase Produced from Mixed Bacteria in A Solid Liquid Fermentation Using *Prosopis juliflora*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 8, 213-220.
- Bhalla, A., Bansal, N., Kumar, S., Bischoff, KM, dan Sani, R., K. 2013. Peningkatan konversi lignoselulosa menjadi biofuel dengan bakteri termofilik dan enzim termostabil. *Bioresour teknologi*. 128, 751-759. doi:10.1016/j.biortech.2012.10.145
- Deng, Y. J., & Wang, S. Y. (2016). Synergistic Growth in Bacteria Depends on Substrate Complexity. *Journal of Microbiology*, 54, 23-30.
- Fifendy, M., Irdawati, I., & Yenti, N. 2015. Penapisan bakteri termofilik penghasil enzim amilase dari sumber air panas sapan sungai aro Kabupaten Solok Selatan. *Eksakta Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 1, 73-81.
- Irdawati, I., Ahmad, F., Syamsuardi, S., Agustien, A., & Rilda, Y. (2020). The Effect of Temperature on the Activities of Amobil Xilanase Enzymes in the Paper Biobleaching Process (Pulp). *Serambi Biologi*, 5(2).
- Irdawati, I., Putri, D. D., Syamsuardi, S., Agustien, A., & Rilda, Y. 2019. Characterization extrinsic factors of immobilized cells thermoxylanolytic bacteria in producing xylanase. In *Journal of Physics: Conference Series*, 1317(1), p. 012075. IOP Publishing.
- Irdawati, I., Putri, I. S., Syamsuardi, A. A., & Rilda, Y. 2018. The Thermophilic Bacterial Growth Curve. *Bioscience*, 2(2), 58-64.
- Irdawati, Syamsuardi, A. Agustien., & Rilda, Y. 2018. Screening of Thermophilic bacteria Produce Xylanase from Sapan Sungai Aro Hot Spring South Solok. *Materials Science and Engineering* : 335
- Nisa, N., S. 2022. Optimasi Suhu dan pH Bakteri Termofilik Isolat MS 18 dalam Memproduksi Enzim Xilanase. Skripsi. Padang : Universitas Negeri Padang.
- Paes, G., & O'Donohue, M., J. 2006. Rekayasa meningkatkan termostabilitas dalam termostabil GH-11 xilanase dari *Thermobacillus xylanilyticus*. *J. Bioteknologi*. 25, 338- 350. doi:10.1016/j.jbiotec.2006.03.025
- Polizeli, M. L. T. M.; Rizzatti, A. C. S.; Monti, R.; Terenzi, H. F.; Jorge, J. A. and Amorim, D. S. 2005. Xylanases from Fungi: Properties and industrial applications, *Appl Microbiol Biotechnol*, 67: 577-591.
- Richana, N. 2002. Produksi dan prospek enzim xilanase dalam pengembangan bioindustri di Indonesia. *Buletin AgroBio*. 5(1): 29-36.
- Richana, N., Irawadi, T. T., Baranangsiang, K. I., Pajajaran, J., & Syamsu, K. 2008. Isolasi Identifikasi Bakteri Penghasil Xilanase serta Karakterisasi Enzimnya. *Jurnal AgroBiogen* 4(1):24-34
- Sarkar, P., Rai, A. R., & Ghosh, S. (2013). Degradation of Aromatic Petroleum Hydrocarbons (BTEX) by A Solvent Tolerant Bacterial Consortium. *J. Urban Environ. Eng*. 7, 274-279. doi: 10.4090/juee.2013.v7n2.274279
- Sugiyono, A. J., Lintang, R. A dan Sabe. 2003. Penapisan dan Karakterisasi Protease Bakteri Termofilik Asal Mata Air Laut Panas Poso Sulawesi Tengah. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Sutiamihaija, N. 2008. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Kasar dari Sumber Air Panas Guru Kinayan Karo Sumatera Utara. *Tesis*. Universitas Sumatera Utara.
- Zhang, D., Wang, Y., Zhang, C., Zheng, D., Guo, P., & Cui, Z. (2018). Characterization of A Thermophilic Lignocellulose-Degrading Microbial Consortium with High Extracellular Xylanase Activity. *J. Microbiol. Biotechnol*. 2018; 28(2): 305-313