

PRODUKSI ENZIM SPESIFIK XILANASE PADA VARIASI SUHU KONSORSIUM TRIKULTUR BAKTERI TERMOFILIK

Production of Specific Xylanase Enzyme at Various Temperature Variations in Thermophilic Bacterial Triculture Consortium

Rada Armiliandi & Irdawati

Universitas Negeri Padang

Irdawati.amor40@gmail.com

Article Info:

Submitted:	Revised:	Accepted:	Published:
Feb 1, 2024	Feb 9, 2024	Feb 12, 2024	Feb 15, 2024

Abstract

Xylanase is an extracellular enzyme that is capable of hydrolyzing xylan (hemicellulose) into xylose and xylo-oligosaccharides. Xylanase can be produced by microbes through a fermentation process, the microbes used are thermophilic bacteria. Thermophilic bacteria are microorganisms that are capable of producing thermostable enzymes through fermentation. The bacteria used are MSS11, MS 16 and MS 18. These thermophilic bacteria can live at temperatures above 45°C-80°C. To determine specific enzyme activity, enzyme and protein activity values were tested using a 540 nm (enzyme) and 750 nm (protein) spectrophotometer. The method used in this research is descriptive in triplicate. The research was carried out at the Microbiology Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padang State University on December 23 2023. Beechwood medium which had been mixed with MSS 11, MS 16, and MS 18 bacteria was then incubated at temperatures of 55°C, 65°C and 75°C so that specific enzyme activity was obtained. Of these three temperatures, the optimum specific enzyme activity of xylanase is 65°C, where the specific enzyme value obtained at 65°C is 3.31 U/mg. Meanwhile, at low temperatures, namely at 55°C, the enzymatic reaction is slow, namely it has an enzyme activity value of 1.02 U/mg. Finally, at a temperature of 75,

there was a decrease in specific enzyme activity, where the specific enzyme activity value was 3.12 U/mg.

Keywords : Xylanase, Thermophilic Bacteria, Enzyme Activity, Proteins, Specific Enzymes

Abstrak: Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang mampu menghidrolisis xilan (hemiselulosa) menjadi xilosa dan xilo-oligosakarida. Xilanase dapat dihasilkan oleh mikroba melalui proses fermentasi, mikroba yang digunakan merupakan bakteri termofilik. Bakteri termofilik merupakan mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim termostabil melalui fermentasi, adapun bakteri yang digunakan yaitu MSS11, MS 16 dan MS 18. Bakteri termofilik ini dapat hidup pada suhu di atas 45°C-80°C. 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 55°C, 65°C dan 75°C sehingga diperoleh aktivitas enzim spesifiknya. Dari ketiga suhu tersebut yang menghasilkan Aktivitas enzim spesifik xilanase yang optimum yaitu suhu 65°C, yang mana nilai enzim spesifik diperoleh pada suhu 65°C yaitu 3,31 U/mg. Sedangkan pada suhu rendah, yaitu pada suhu 55°C reaksi enzimatik berlangsung lambat yaitu memiliki nilai aktivitas enzim sebesar 1,02 U/mg. Terakhir pada suhu 75°C mengalami penurunan aktivitas enzim spesifik yang mana nilai aktivitas enzim spesifik sebesar 3,12 U/mg.

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

PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu bioteknologi telah menempatkan penggunaan enzim sebagai salah satu alternatif untuk berbagai keperluan, misalnya bidang industri (Noviyanti dan Ardiningsih 2013). Penggunaan enzim dalam industri menyumbang sekitar 80% dari komersialisasi enzim global (Miguel *et al.*, 2013). Enzim biasanya dihasilkan dari organisme hidup, baik dari hewan, tumbuhan, atau mikroorganisme (Asnawi *et al.*, 2014). Salah satu enzim yang banyak digunakan dalam bidang industri adalah enzim xilanase (Trismillah *et al.*, 2000).

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). 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).

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 enzim spesifik merupakan 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. Lehninger (2006) menyatakan bahwa 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, spektrofotomer, 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 Penelitian

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 beecwood 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

Sebanyak 1 ml sampel di sentrifuge, lalu pisahkan antara pelet dan supernatan. Seelanjutnya diambil 0,25 ml supernatan kemudian ditambhkan 0,5 ml xilan dalam buffer fospat ph 8, lalu diinkubasi pada thermoshaker pada suhu 60°C selama 10 menit. Lalu tambahkan 0,5 ml larutan DNS dan diinkubasi pada watherbath dengan suhu 90°C selama 15 menit, terakhir yaitu mengukur absorpsi dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm untuk menentukan aktivitas enzim.

e. Pengukuran Aktivitas Protein

Sebanyak 1 ml sampel di sentrifuge, lalu pisahkan antara pelet dan supernatan. Setelah itu campurkan 0,1 ml sampel dan 0,5 ml reagen D, lau divorteks hingga homogen. Kemudian diinkubasi kedalam watherbath suhu 50°C selama 10 menit. Selanjutnya menambahkan 0,5 ml forlin dan diinkubasi disuhu ruang selama 30 menit. Mengukur absorbansi pada panjang gelombang dengan menggunakan spektrofotometer 750 nm untuk menentukan aktivitas protein.

f. Enzim Spesifik

Penentuan enzim spesifik dilakukan dengan mencari rata-rata dari setiap hasil aktivitas enzim dan protein, kemudian hasil rata-rata dari masing-masing aktivitas enzim dan protein tersebut dibagi 2, dengan menggunakan rumus enzim spesifik sebagai berikut:

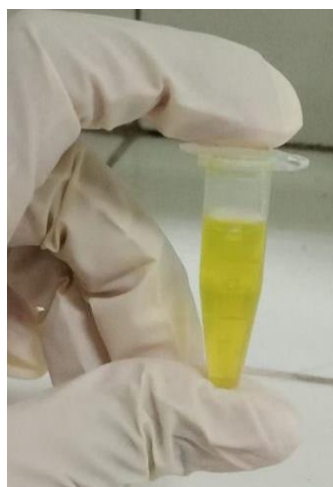
$$**Pengkuran Enzim Spesifik = \frac{Aktivitas Enzim}{Protein}**$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran protein dan enzim pada isolat bakteri MSS 11, MS 16 dan MS 18 pada variasi suhu 55°C, 65°C dan 75°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)	Ulangan	Aktivitas Enzim (U/mL)	Ulangan	Protein (mg/mL)	Enzim Spesifik (U/mg)
55 °C	1	0,238	1	0,218	
	2	0,115	2	0,170	
	3	0,220	3	0,171	
Rata-rata		0,191		0,186	1,02
65 °C	1	0,511	1	0,145	
	2	0,688	2	0,154	
	3	0,580	3	0,283	
Rata-rata		0,593		0,179	3,31
75 °C	1	0,418	1	0,128	
	2	0,487	2	0,152	
	3	0,473	3	0,162	
Rata-rata		0,459		0,147	3,12



Gambar 1 Larutan *Crude Protein*



Gambar 2 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 65°C menunjukkan hasil aktivitas enzim sangat tinggi, yaitu 0,593 U/mL. Dan nilai proteinnya lebih rendah dibanding aktivitas enzimnya yaitu 0,179 mg/mL, sehingga didapatkan nilai enzim spesifiknya sebesar 3,31 U/mg. Semakin tinggi nilai enzim spesifik maka semakin bagus kualitas dari enzim tersebut, hal ini sesuai dengan Agustini *et al.*, (2017) berpendapat bahwa aktivitas enzim spesifik mengindikasikan tingkat kemurnian enzim. Bisswanger (2014) menyatakan bahwa nilai aktivitas spesifik suatu enzim yang semakin besar menunjukkan bahwa semakin murni kadar enzim tersebut pada suatu larutan.

Dapat dilihat bahwa suhu 65°C aktivitas enzim spesifiknya lebih tinggi dibandingkan suhu 75°C dan 55°C. Karena faktor-faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah suhu, konsentrasi enzim, substrat, senyawa inhibitor dan aktivator serta pH. (Noviyanti & Ardiningsih 2013).

Suhu sangat mempengaruhi aktivitas suatu enzim. Pada suhu rendah, yaitu pada suhu 55°C reaksi enzimatik berlangsung lambat yaitu memiliki nilai aktivitas enzim sebesar 0,191 U/mL, nilai protein sebesar 0,186 mg/mL, dan didapatkan nilai aktivitas enzim spesifik juga lebih rendah yaitu 1,02 U/mg. Hal ini dikarenakan sebagian protein telah mengalami kerusakan atau terdenaturasi. Suhu lingkungan yang meningkat di sekitar enzim akan menyebabkan putusannya 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). Suhu juga sangat mempengaruhi laju pertumbuhan mikroorganisme, laju sintesis enzim, dan juga laju inaktivasi enzim (Knob dan Carmona 2008). Kemampuan enzim dalam bekerja pada suhu tinggi dipengaruhi oleh banyaknya ikatan disulfida pada struktur protein enzim. Ikatan disulfida (-S-S- atau sistin) merupakan ikatan kovalen yang sangat kuat, sehingga diperlukan suhu yang sangat tinggi untuk memutuskan ikatan tersebut. Ikatan disulfida dapat menstabilkan struktur sekunder dan struktur tersier protein enzim sehingga protein termoenzim tetap stabil pada suhu tinggi dan tidak kehilangan kemampuan katalitiknya. Kemudian, menaikkan suhu sampai suhu tertentu akan meningkatkan jumlah tumbukan antara sisi aktif enzim dan substrat, sehingga kecepatan reaksi dan aktivitas enzim dapat meningkat (Murray *et al.*, 2003)..

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). Pada suhu 75°C menunjukkan penurunan aktivitas enzim spesifik yang mana nilai aktivitas enzim spesifik sebesar 3,12 U/mg. Dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0,459 U/mL dan nilai protein sebesar 1,47 mg/mL. 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 (Lehninger, 1997).

Apabila suhu inkubasi meningkat di atas suhu optimum maka dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim akibat terjadinya denaturasi xylanase, 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).

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.

KESIMPULAN

Nilai aktivitas enzim spesifik yang diperoleh dari suhu 65°C dengan nilai rata-rata sebesar 3,31 U/mg, untuk suhu 55°C dan 75°C diperoleh nilai rata-rata sebesar 1,02 dan 3,12 U/mg.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, L., R.S.B. Irianto, M. Turjaman, S.A. Faulina, R. Ariantari, S. Stephandra, H. Yuniar, Aryanto, Najmulah dan A. Yani. (2013). Pengaruh kondisi kultur pada aktivitas selulase isolat *Pycnoporus* sp. dan *Phlebiopsis* sp. *Jurnal Selulosa* 7(2): 79- 90.
- 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.
- Bachaki, A. (2008). Purifikasi dan karakterisasi protease dari bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal Teknologi*.
- Bisswanger, H. (2014). Enzyme assays. *Perspectives in Science* 1: 41-55
- Deng, Y. J., & Wang, S. Y. (2016). Synergistic growth in bacteria depends on substrate complexity. *Journal of Microbiology*, 54, 23-30.
- 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,
- Knob, A., & Carmona, E. C. (2008). Xylanase production by *Penicillium sclerotiorum* and its characterization. *World Appl Sci J*, 4(2), 277-283.
- Lehninger, A. L. (1997). *Dasar-Dasar Biokimia. Jilid I (Edisi Revisi)*. Erlangga, Jakarta
- Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA & 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.

- Malau, N. D., & Sianturi, M. (2017). Analisa Jembatan Garam untuk Meningkatkan Kestabilan Termal Enzim Xilanase *Aspergillus niger*. *Jurnal Pendidikan, Matematika dan Sains*, 1(2), 191-201.
- Malau, N. D., & Sianturi, M. (2019). Analisa interaksi hidrofobik terhadap kestabilan termal enzim xilanase *Aspergillus niger*. *EduMatSains: Jurnal Pendidikan, Matematika dan Sains*, 3(2), 215-227.
- 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.
- MurrayRK, GrannerDK, MayesPA &RodwellVW. (2003). Biokimia Harper. Terj. Harper's biochemistry. Jakarta: EGC
- 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).
- 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*.
- 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, Midwivory, 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.