

AKTIVITAS SPESIFIK XILANASE BAKTERI TERMOFILIK AMOBIL SSA2 DENGAN VARIASI SUMBER KARBON

XYLANASE SPECIFIC ACTIVITY OF IMMOBILIZED THERMOPHILIC BACTERIA SSA2 ON VARIOUS CARBON

Irdawati^{1*}, Zahara Nurfatihah¹, Dwi Hilda Putri¹, Linda Advinda¹ dan Yusrizal²

¹ Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Sumatera Barat, Indonesia

² Fakultas Peternakan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

*Corresponding Author. E-mail address: irdawati.amor40@gmail.com

PERKEMBANGAN ARTIKEL:

Diterima: 16 April 2023
Direvisi: 1 Desember 2023
Disetujui: 17 Mei 2024

KEYWORDS:

Carbon source, thermophilic bacteria, xylanase, xylose.

KATA KUNCI:

Bakteri termofilik, sumber karbon, xylanase, xylosa.

ABSTRACT

Xylanase enzymes have great potential in various industries. One of its uses is in the pharmaceutical and food industries because of its ability to convert xylan into xylose, a low-calorie sugar. Immobilized Thermophilic bacteria SSA2 can produce xylanase by using xylan from rice straw extract as a substrate. Enzyme production is affected by available nutrients, such as carbon sources. This research aimed to enhance xylanase enzyme production by identify the optimal carbon source. To calculate xylanase-specific activity, divide the xylanase activity by the protein concentration. The research was conducted in the laboratory of the Biology Department, FMIPA UNP, from November 2021 to January 2022, using an experimental method that followed a completely randomized design (CRD) and involved 5 treatments repeated 3 times. This study's findings indicated that adding xylose as a carbon source resulted in the highest activity of the xylanase and specific activity of the xylanase enzyme of 90.714 Units/mL and 1.536 Units/mg. Conversely, sucrose was identified as the least optimal carbon source, exhibiting enzyme activity of 9.703 Units/mL with specific enzyme activity of 0.24 Units/mg.

ABSTRAK

Enzim xilanase memiliki potensi besar dalam berbagai industri. Salah satu kegunaannya adalah dalam industri farmasi dan makanan karena kemampuannya mengubah xilan menjadi xilosa, sebuah gula rendah kalori. Xilanase dapat diproduksi oleh bakteri termofilik amobil SSA2 menggunakan substrat xilan dari ekstrak jerami padi. Produksi enzim dipengaruhi oleh nutrisi yang tersedia, seperti sumber karbon. Penelitian ini dilakukan untuk meningkatkan produksi enzim xilanase dengan menentukan sumber karbon yang optimal. Produksi enzim xilanase ditentukan oleh aktivitas spesifik enzim yang diperoleh dari perbandingan aktivitas enzim dengan kadar protein. Penelitian dilakukan di laboratorium departemen biologi FMIPA UNP dari November 2021 hingga Januari 2022 dengan menggunakan metode eksperimen yang mengikuti rancangan acak lengkap (RAL) dan melibatkan 5 perlakuan dengan 3 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan xilosa sebagai sumber karbon menghasilkan aktivitas enzim dan aktivitas spesifik xilanase tertinggi sebesar 90,714 Unit/mL dan 1,536 Unit/mg sedangkan sukrosa merupakan sumber karbon yang paling tidak optimal yang menghasilkan aktivitas enzim 9,703 Unit/mL dengan aktivitas spesifik enzim sebesar 0,241 Unit/mg.

1. PENDAHULUAN

Enzim xilanase adalah enzim yang bekerja di luar sel dengan optimal pada suhu 55°C dan pH 9, memiliki bobot molekul sekitar 15.000-30.000 dalton. Richana (2002) menyatakan bahwa enzim ini memiliki daya tahan pada suhu 60°C dan pH netral, serta memiliki kapasitas untuk menguraikan xilan menjadi xilosa (Susilowati *et al.*, 2012). Xilosa yang dihasilkan oleh enzim ini dapat dimanfaatkan sebagai pengganti gula bagi penderita diabetes karena memiliki rendah kalori (Mulyani, 2010). Selain itu, enzim xilanase juga berguna pada industri kertas sebagai agen pemutihan pulp yang ramah lingkungan (biobleaching), dengan memutus ikatan xilan pada selulosa yang terikat oleh lignin menjadi monomernya. Penggunaan xilanase sebagai agen biobleaching ini menjadi alternatif pengganti bahan kimia khlorin yang menyebabkan polusi lingkungan (Irdawati *et al.*, 2020).

Bakteri termofilik dapat menghasilkan enzim xilanase dan dapat bertahan hidup di lingkungan dengan suhu yang tinggi dan menghasilkan enzim yang stabil pada suhu tersebut (Pratita & Surya, 2012). Enzim termostabil yang dihasilkan oleh bakteri termofilik memiliki potensi besar dalam penggunaannya pada proses industri karena telah terbukti efektif dan memberikan keuntungan seperti meningkatkan kecepatan reaksi, mengurangi biaya produksi, dan menghemat waktu pengerjaan (Irdawati *et al.*, 2015). Keuntungan lainnya yaitu dapat meningkatkan produksi, mengurangi terjadinya kontaminasi (Martin *et al.*, 2007), pemisahan senyawa volatil menjadi lebih mudah dan dapat disimpan lebih lama karena lebih stabil (Irdawati *et al.*, 2015). Bakteri termofilik memiliki penyebaran yang luas di alam, ditemukan di berbagai lokasi seperti kawasan aktif gunung vulkanik, mata air panas, dan dasar laut dalam tempat mata air panas terletak (Sianturi, 2008). Penelitian oleh Rakhmawati dan Evy (2012) membuktikan berhasilnya mengisolasi 14 jenis bakteri termofilik dari sampel air dan pasir Kali Gendol Atas hasil erupsi gunung Merapi. Proses isolasi dilakukan pada suhu inkubasi 70°C, di mana 9 jenis isolat mampu menghasilkan enzim amilase, 4 jenis isolat memproduksi protease, dan 1 jenis isolat memproduksi selulase. Studi oleh Irdawati *et al.*, (2018) menemukan 12 jenis bakteri termofilik, termasuk bakteri termofilik Isolat SSA2 yang mampu memproduksi xilanase dengan indeks xilanolitik mencapai 0.74.

Penggunaan bakteri termofilik bebas untuk produksi xilanase dianggap tidak efisien karena hanya dapat digunakan dalam satu reaksi saja (Widyanti & Bintang, 2016). Untuk mengatasi tantangan ini, strategi amobilisasi sel diterapkan, di mana sel mikroba dipertahankan dalam matriks agar dapat digunakan secara berulang (Fleming, 2004). Pemilihan natrium alginat sebagai matriks dalam amobilisasi sel memberikan keunggulan karena bersifat tidak beracun, mampu membentuk gel yang kuat, memiliki harga yang terjangkau, dan mudah diaplikasikan untuk produksi xilanase (Anwar *et al.*, 2009). Bakteri termofilik yang diamobilisasi menggunakan natrium alginat dapat menghasilkan enzim xilanase dengan aktivitas mencapai 8,992 U/mL pada suhu 70°C (Irdawati *et al.*, 2019). Penelitian Zetri (2020) melaporkan bahwa produksi enzim xilanase dengan menggunakan bakteri termofilik amobil isolat MS18 dapat mencapai aktivitas tertinggi sebesar 9,788 U/mL. Selain itu, penelitian Aini (2021) juga mencatat bahwa penggunaan bakteri termofilik amobil isolat SSA2 dengan agitasi 150 rpm mampu menghasilkan enzim xilanase dengan aktivitas sebesar 10,753 U/mL.

Produksi xilanase yang efisien dapat diperoleh melalui pengaturan pertumbuhan mikroorganisme. Faktor-faktor seperti nutrisi, suhu, dan tekanan osmotik memiliki dampak signifikan pada pertumbuhan bakteri (Juariah & Wulan, 2018). Sumber karbon merupakan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri (Pelczar & Chan, 2007). Hasil penelitian Seyis & Nilufer (2005) melaporkan bahwa penambahan sukrosa sebagai sumber karbon ke medium fermentasi menyebabkan peningkatan produksi xilanase oleh bakteri *Trichoderma harzianum* dengan aktivitas spesifik enzim sebesar 27,9 U/mg. Penelitian Lima *et al.*, (2021) menunjukkan peningkatan produksi xilanase oleh bakteri *Aspergillus* sp yang ditambahkan xilosa dengan nilai aktivitas spesifik xilosa sebesar 0,271 U/mg.

Aktivitas spesifik enzim adalah jumlah enzim yang terdapat dalam satu miligram protein (Djarkasi *et al.*, 2017). Kemurnian suatu enzim dapat diidentifikasi melalui aktivitas spesifik enzim (Wijaya, 2002). Irdawati *et al.*, (2021) mengungkapkan bahwa untuk menentukan aktivitas spesifik xilanase diukur dengan membandingkan nilai aktivitas xilanase dengan kadar proteinnya. Metode Lowry dapat digunakan untuk menentukan kandungan protein enzim xilanase. Melihat latar belakang masalah ini, peneliti tertarik untuk mengeksplorasi sumber karbon terbaik yang dapat meningkatkan aktivitas spesifik xilanase oleh bakteri termofilik amobil isolat SSA2. Temuan ini memiliki implikasi dalam merancang strategi yang lebih efektif untuk meningkatkan produksi enzim xilanase dengan mempertimbangkan seleksi sumber karbon yang optimal.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada November 2021 hingga Januari 2022 di Laboratorium Mikrobiologi, yang terletak di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. Metode penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pemberian 5 perlakuan dan 3 ulangan. Dalam perlakuan tersebut, variasi dilakukan dengan menambahkan sumber karbon berbeda, seperti xilosa, fruktosa, glukosa, laktosa, dan sukrosa ke dalam medium fermentasi.

Bahan yang digunakan meliputi isolat bakteri SSA2 Sapan Sungai Aro (koleksi Irdawati), xilan jerami, polipepton, yeast extract, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, NA-alginat, $CaCl_2$, sumber karbon (sukrosa, laktosa, fruktosa, xilosa, glukosa), medium NA (nutrien agar), gellum gum, aquades, HCl, NaOH, etanol 96%, buffer fosfat, DNS (Dinitrosalicylic), aluminium foil, kapas dan kain kasa.

Penelitian ini dimulai dengan peremajaan bakteri SSA2 dengan menginokulasikan isolat bakteri ke dalam medium nutrient agar miring. Kemudian, dua ose bakteri diaktivasi dalam 25 ml medium beechwood xilan menggunakan shaker inkubator selama 24 jam pada suhu 60°C dengan kecepatan 150 rpm. Untuk stabilisasi produksi xilanase, sel bakteri diamobilisasi. Sebanyak 6 ml suspensi bakteri dicampur dengan larutan Na-Alginat 3%, kemudian campuran diteteskan pada beaker glass berisi $CaCl_2$ 4% menggunakan syring sehingga terbentuk butiran alginat. Butiran alginat disimpan selama 1 jam pada suhu 4°C agar mengeras. Setelah itu, dilakukan pencucian menggunakan aquades steril sebanyak 3 kali. Bakteri yang sudah diamobilisasi ini digunakan untuk memproduksi xilanase.

Produksi xilanase dilaksanakan dengan menambahkan 125 butir alginat untuk setiap perlakuan pada media fermentasi yang terdiri dari 50 ml medium fermentasi dengan komposisi 0,5% polipepton, 0,1% yeast extract, 0,1% K_2HPO_4 , 0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, dan 0,3% xilan jerami. Tiap kelompok perlakuan ditambahkan 0,0625 g sumber karbon berbeda, seperti sukrosa, laktosa, fruktosa, xilosa, dan glukosa. Kemudian diinkubasi pada suhu 60°C selama 6 jam dengan tekanan 150 rpm. Aktivitas xilanase diukur berdasarkan kurva standar xilosa menggunakan metode 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS). Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan memperhitungkan absorbansi larutan sampel pada panjang gelombang 540 nm. Satu unit aktivitas enzim (U) dinyatakan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk menghasilkan 1 mol xilosa setiap menit dalam kondisi uji.

Pemeriksaan aktivitas enzim dilaksanakan dengan cara menginkubasi 1 ml substrat xilan bersamaan dengan 0,5 ml larutan kasar. Sebelum dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 540 nm, campuran tersebut ditambahkan 1 ml DNS (asam dinitrosalisilat). Data hasil pengukuran absorbansi nantinya dimanfaatkan untuk menilai kandungan xilosa, yang mencerminkan aktivitas enzim, menggunakan persamaan regresi linier berikut ini:

$$Y = a + bx \quad (1)$$

Keterangan: Y = nilai absorbansi pada panjang gelombang $\lambda = 540$ nm, a dan b = perhitungan gula standar xilosa, x = kadar xilosa.

Pemeriksaan konsentrasi protein dilaksanakan dengan cara menginkubasi 0,1 ml supernatan sampel bersamaan dengan 0,5 ml reagen D pada suhu 50°C selama 10 menit. Campuran tersebut ditambahkan 0,05 ml Folin dan dibiarkan 30 menit sebelum dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 750 nm. Hasil absorbansi dibandingkan dengan kurva standar bovine serum albumin (BSA) untuk menentukan konsentrasi protein pada sampel. Setelah pengukuran aktivitas xilanase dan konsentrasi protein, aktivitas spesifik xilanase dihitung dengan membandingkan aktivitas xilanase (satuan Unit/ml) dengan kadar protein (satuan mg/ml). Data aktivitas xilanase dianalisis dan ditampilkan dalam bentuk tabel.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Temuan dari penelitian menunjukkan bahwa penambahan sumber karbon memiliki dampak yang signifikan terhadap produksi enzim xilanase. Berbagai sumber karbon menghasilkan tingkat aktivitas spesifik enzim yang beragam, dan terlihat peningkatan yang signifikan pada aktivitas enzim xilanase ketika xilosa digunakan sebagai sumber karbon.

3.1 Aktivitas Xilanase

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa sumber karbon memiliki pengaruh yang signifikan terhadap produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil isolat SSA2. Sumantha *et al.*, (2006) mengungkapkan bahwa kemampuan pertumbuhan dan produksi enzim oleh mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh ketersediaan sumber karbon. Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa penambahan xilosa sebagai sumber karbon menghasilkan aktivitas enzim xilanase tertinggi, yakni sebesar 90,714 Unit/mL. Hasil ini secara signifikan berbeda dengan perlakuan lainnya. Sebaliknya, penambahan sukrosa menghasilkan aktivitas enzim xilanase terendah, yaitu 9,703 Unit/mL. Namun, hasil ini tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan penambahan laktosa sebagai sumber karbon, yang menghasilkan aktivitas enzim sebesar 13,325 Unit/mL.

3.2 Kadar Protein

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan sumber karbon yang berbeda memberikan dampak pada variabilitas kandungan protein. Kandungan protein mencerminkan total enzim yang terdapat dalam sampel. Kandungan protein tertinggi mencapai 59,059 mg/mL pada bakteri SS2 dengan penambahan xilosa sebagai sumber karbon, yang juga menunjukkan aktivitas enzim tertinggi. Berdasarkan data penelitian, mayoritas kandungan protein dalam sampel berasal dari enzim xilanase karena semakin tinggi aktivitas enzim maka semakin tinggi kadar protein.

Tabel 1. Aktivitas Xilanase pada Penambahan Sumber Karbon yang Berbeda

No.	Perlakuan	Rata-Rata Aktivitas Xilanase (Unit/mL)
1	Sukrosa	9,703 ^a
2	Laktosa	13,325 ^a
3	Glukosa	46,929 ^b
4	Fruktosa	58,059 ^b
5	Xilosa	90,714 ^c

Tabel 2. Kadar Protein pada Penambahan Sumber Karbon yang Berbeda

No.	Perlakuan	Kadar Protein (mg/mL)
1	Sukrosa	40,264
2	Laktosa	40,625
3	Glukosa	56,135
4	Fruktosa	57,314
5	Xilosa	59,059

Tabel 3. Aktivitas Spesifik Enzim Xilanase pada Penambahan Sumber Karbon yang Berbeda

No.	Perlakuan	Rata-Rata Aktivitas Spesifik Enzim (Unit/mg)
1	Sukrosa	0,241
2	Laktosa	0,328
3	Glukosa	0,836
4	Fruktosa	1,013
5	Xilosa	1,536

3.3 Aktivitas Spesifik Xilanase

Hasil penelitian menunjukkan penambahan sumber karbon untuk produksi xilanase dapat meningkatkan aktivitas spesifik enzim xilanase. Aktivitas spesifik dapat dihitung sebagai jumlah unit enzim per protein dan merupakan indikator dari kemurnian enzim. Enzim akan semakin murni apabila aktivitas spesifik enzim semakin tinggi (Wijaya, 2002). Enzim yang memiliki kemurnian tinggi diartikan bahwa protein yang dihasilkan oleh mikroorganisme ialah protein target yang diinginkan (Dhaver *et al.*, 2022).

Berdasarkan Tabel. 3, diketahui bahwa penambahan xilosa menghasilkan aktivitas spesifik xilanase tertinggi, mencapai 1,536 Unit/mg. Temuan ini mengindikasikan bahwa xilosa dapat dianggap sebagai sumber karbon yang optimal, karena mampu menghasilkan enzim xilanase dengan aktivitas lebih tinggi dan tingkat kemurnian yang lebih unggul dibandingkan dengan jenis gula lainnya. Xilosa, yang merupakan gula paling sederhana yakni 5 atom C, memainkan peran kunci dalam meningkatkan aktivitas enzim tersebut. Pangesti *et al.* (2012) menyebutkan sumber karbon yang berasal dari gula dengan struktur yang lebih kompleks akan mengalami proses pemecahan sebelum digunakan untuk metabolisme.

Penambahan sukrosa sebagai sumber karbon menghasilkan aktivitas spesifik enzim xilanase terendah yaitu 0,241 Unit/mg. Hal ini menunjukkan bahwa penyerapan sukrosa lebih lambat dibandingkan gula lainnya sehingga menghasilkan xilanase lebih sedikit dengan tingkat kemurnian lebih rendah. Cahyani *et al.* (2017) mengatakan bahwa aktivitas spesifik enzim yang rendah menunjukkan adanya protein dari enzim lain (protein struktural bakteri yang terkandung).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan temuan dari penelitian, kesimpulan yang dapat diambil adalah bahwa xilosa adalah sumber karbon yang paling optimal dalam produksi xilanase oleh bakteri termofilik amobil SSA2 menggunakan substrat jerami padi. Penambahan xilosa pada media dapat meningkatkan aktivitas spesifik dari enzim xilanase.

5. DAFTAR PUSTAKA

Aini, N. 2021. Optimasi starter dan agitasi bakteri termofilik amobil pada substrat ekstrak xilan jerami padi untuk produksi xilanase sebagai pemutih limbah kertas Bertinta. *Skripsi*. Tidak diterbitkan. Padang: Program Studi Biologi, Universitas Negeri Padang.

- Fraser, J.E. & G.F. Bickerstaff. 1997. *Process Immobilisation of Enzymes and Cells*: Humana Press. 61-66.
- Anwar. 2009. Calcium Alginate: a support material for immobilization of proteases from newly isolated strain of *Bacillus subtilis*. *World Applied Sciences Journal*. 7 (10): 1281-1286.
- Cahyani, P., R. Wijanarka, & Budi. 2017. Aktivitas spesifik selulase *Serratia marcescens* dengan variasi konsentrasi amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄) dan pH. *Jurnal Biologi*. 6 (2): 41-49.
- Djarkasi, G.S.S., R. Sri, & N. Zuheid. 2017. Isolasi dan aktivitas spesifik enzim lipase indigenous biji kenari. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 8 (1): 28-35.
- Fleming, D.L. 2004. Evaluating bacterial cell immobilization matrices for use in a biosensor. *Thesis*. Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Irdawati, R. Elfah, A. Linda, A.F. Siska, S. Salvia, Samsuwardi, A. Antoni, R. Yetria, & Y. Yahya. 2021. The activity xylanase enzyme thermophilic bacteria SSA₂ in starter. *Serambi Biologi*. 6 (1): 18-22.
- Irdawati, A. Fauzana, Syamsuwardi, A. Antoni, & R. Yetria. 2020. The effect of temperature on the activities of amobil xylanase enzymes in the paper biobleaching process (Pulp). *Serambi Biologi*. 5 (2): 67-72.
- Irdawati, D.P. Dewi, Syamsuardi, A. Antoni, & R. Yetria. 2019. Characterization extrinsic factors of immobilized cells thermoxylanolytic bacteria in producing xylanase. *Journal of Physics*. 1317 (1): 1-8.
- Irdawati, Syamsuardi, A. Antoni, & R. Yetria. 2018. Screening of thermophilic bacteria produce xylanase from sapan sungai aro hot spring South Solok. *Materials Science and Engineering*. 335.
- Irdawati, F. Mades, & Y. Nofri. 2015. Penapisan bakteri termofilik penghasil enzim amilase dari sumber air panas sapan sungai aro Kabupaten Solok Selatan. *Eksakta*. 18(1): 73-81.
- Juariah, S., & P.S. Wulan. 2018. Pemanfaatan limbah cair industri tahu sebagai media alternatif pertumbuhan *Bacillus* sp. *Jurnal Analis Kesehatan Klinik Sains*. 6 (1): 24-29.
- Lima, A.K.R, R.D. Batista, L.P. Araujo, S.R. Silvia, E.C. Vieira, & A.F. Almeid. 2021. Production of xylanase by *Aspergillus* sp. ART500.1 on agroindustrial residues and its biochemical properties. *Scientia Plena*. 17 (8): 081510.
- Martin, M.L.L., A.B.S. Delatorre, & R. Camila. 2007. Effect of culture conditions on the production of extracellular protease by thermophilic *Bacillus* sp. and some properties of the enzymatic activity. *Brazilia Microbiol*. 38(2): 253 - 258.
- Mulyani, N. S. 2010. Penentuan temperatur dan pH optimum pada uji aktivitas xilanase hasil isolasi dari *Aspergillus niger* dengan menggunakan media pertumbuhan sekam padi. *Seminar*. Disajikan dalam Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia di Semarang. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Pangesti, N.W.I., Artini, P., & R.N. Estu. 2012. Pengaruh penambahan molase pada produksi enzim xilanase oleh fungi *Aspergillus niger* dengan substrat jerami padi. *Bioteknologi*. 9 (2): 41-48.
- Pelczar, M. J., & E.C.S. Chan. 2007. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Terjemahan oleh Hadioetomo. Jakarta. UI Press.
- Pratita, M.Y.E., & R.P. Surya. 2012. Isolasi dan identifikasi bakteri termofilik dari sumber mata air panas di songgoriti setelah dua hari inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits*. 1(1): 1-5.
- Rakhmawati, A., & Y. Evy. 2012. Eksplorasi bakteri termofilik pasca erupsi merapi sebagai penghasil enzim ekstraseluler. *Jurnal Penelitian Saintek*. 17(1): 1-12.
- Richana, N. 2002. Produksi dan prospek enzim xilanase dalam pengembangan bioindustri di indonesia. *Buletin AgroBio*. 5(1): 29-36.
- Seyis, I., & A. Nilufer. 2005. Xylanase production from *Trichoderma harzianum* 1073 D3 with alternative carbon and nitrogen sources. *Biotechnol*. 43(1): 37-40.
- Sianturi, D.C. 2008. Isolasi bakteri dan uji aktivitas amilase termofil kasar dari sumber air panas penen sibirubiru Sumatera Utara. *Tesis*. Tidak diterbitkan. Universitas Sumatera Utara. Medan.

- Sugiyono, A.G., R.A. Lintang, & Sabe. 2003. Penapisan dan karakterisasi protease bakteri termofilik asal mata air laut panas Poso Sulawesi Tengah. *Skripsi*. Tidak diterbitkan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Sumantha, A., L. Christian, and P. Ashok. 2006. Microbiology and industrial biotechnology of food-grade proteases: a perspective. *food technol. Biotechnol.* 44(2): 211-220.
- Susilowati, P.E., R. Sapto, K. Desi, R. Rahmawati, Sumarlin, & Ardiansyah. 2012. Produksi xylanase dari isolat sumber air panas sonai, Sulawesi Tenggara menggunakan limbah pertanian. *Jurnal Natur Indonesia*. 14(3): 199-204.
- Widyanti, E.M., & I.M. Bintang. 2016. Proses pembuatan etanol dari gula menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* Amobil. *Metana*. 12(2): 31-38.
- Wijaya, S. 2002. Isolasi kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzianum*. *Jurnal Ilmu Dasar*. 3 (1): 30-35.
- Dhaver, P., B. Pletschke, B. Sithole, & R. Govinden. 2022. Optimization, purification, and characterization of xylanase production by a newly isolated *Thricoderma harzianum* strain by a Two Step Statistical Experimental Design Strategy. *Sci Rep*. 12(1): 17791.
- Zetri, P.W. 2020. Potensi bakteri termofilik amobil untuk produksi xylanase pada variasi konsentrasi starter dan agitasi. *Skripsi*. Tidak diterbitkan. Program Studi Biologi, Universitas Negeri Padang. Padang.
- Zuhri, R., A. Antoni, & R. Yetria. 2013. Pengaruh sumber karbon dan nitrogen terhadap produksi protease alkali dari *Bacillus* sp termofilik. *Jurnal Biologika*. 2 (1):1-10.