

The Potential of Hot Water Mudiak Sapan Thermophilic Bactery Consortium Formulation in Producing Xylanase Enzyme

Irdawati^{1*}, Indrawani Matondang¹, Linda Advinda¹, Azwir Anhar¹, Yusrizal Y²

¹Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padang State University, West Sumatera, Indonesia;

²Faculty of Animal Husbandry, Jambi University, Jambi City, Indonesia;

Article History

Received : August 01th, 2023

Revised : August 20th, 2023

Accepted : September 14th, 2023

*Corresponding Author:

Irdawati, Departemen Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam, Universitas
Negeri Padang, Padang,
Indonesia;

Email: :

irdawati.amor40@gmail.com

Abstract: The xylanase enzyme has high commercial value in the industrial sector, including the food industry, animal feed, bleaching of pulp/pulp, lignocellulosic bioconversion as fuel, and in the food industry, namely the cheese, bread and meat industries, while in the non-food industry this can be used in detergents. Xylanase enzymes can be produced from microorganisms, one of which is thermophilic bacteria. Thermophilic bacteria are known to be able to produce thermostable enzymes and proteins that are heat resistant. Xylanase production in compatible bacterial consortia was higher than monoculture. The purpose of this study was to determine the biculture consortium that has the potential to produce xylanase enzymes. This research is an experimental research. Enzyme activity testing used the Miller method with DNS (Dinitrosalicylic acid) reagent using a completely randomized design (CRD) with 3 repetitions. Data on the results of xylanase activity were analyzed by ANOVA test and DMRT follow-up test with a 5% significance level. The results of the thermophilic bacterial isolates in the consortium that have the potential to produce xylanase enzymes are MS18 & MSS15, MSS15, MS16 and MS18 & MS16.

Keywords: Biculture consortium, thermophilic bacteria, xylanase enzyme.

Pendahuluan

Enzim merupakan biokatalisator dalam semua sistem kehidupan. Berperan penting dalam reaksi biokimia yang berlangsung di dalam sel mikroorganisme, tanaman, hewan, dan manusia. Enzim sebagai biokatalisator dapat mempercepat reaksi biokimia tanpa mengalami perubahan yang permanen (Sutrisno, 2017). Pengaplikasian enzim dalam industri berkembang pesat seiring dengan kemajuan bioteknologi. Penggunaan enzim dalam bidang industri berkisar 80% dari pemasaran enzim global (Melim *et al.*, 2013). Umumnya kebutuhan enzim didominasi oleh kelompok enzim hidrolitik seperti amilase, protease, katalase, lipase dan xylanase (Ningsih, 2012).

Mikroorganisme yang dikenal sebagai bakteri termofilik dapat bertahan pada suhu tinggi dan menghasilkan enzim termostabil.

(Pratita dan Surya, 2012). Bakteri termofilik yang diketahui mampu menghasilkan xilanase termostabil adalah *Bacillus subtilis* (Li *et al.*, 2012), dan *Pseudomonas* (Susilowati *et al.*, 2012). Kelebihan lainnya dari mikroba termofilik memiliki sifat fisik medium yang menunjukkan penurunan tegangan permukaan dan viskositas serta peningkatan kelarutan substrat dan difusi pada suhu tinggi (Tolner *et al.*, 1997).

Penggunaan mikroorganisme bakteri termofilik ini terkait erat dengan produksi enzim, yang berfungsi sebagai katalis biologis dan banyak digunakan dalam bidang industri. (Irdawati dan Fifendy, 2011). Enzim dan protein tahan panas inilah yang memberi bakteri ketahanan terhadap suhu tinggi. Asam lemak jenuh juga terdapat dalam membran sel bakteri, yang membantunya beroperasi secara efektif dan tetap stabil pada suhu tinggi. (Cappucino dan Natalie, 2002). Dalam

Bergquits *et al.*, (2001) juga dikatakan dibandingkan jamur, bakteri membuat enzim yang lebih tahan panas karena memiliki banyak atom belerang dan asam amino (dari sintesis protein), bakteri termofilik dapat bertahan hidup dengan baik pada suhu 40 °C atau lebih karena dapat membentuk ikatan disulfida.

Enzim yang memiliki ikatan sulfida yang banyak akan meningkatkan kemampuan enzim tersebut dalam mempertahankan konfirmasi dan aktivitas katalitiknya dalam suhu lingkungan yang tinggi (Campbell, 2010; Ngili, 2009). Bakteri termofilik memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan yang bersifat ekstrim, seperti temperatur, kadar garam, pH, tekanan dan oksigen (Pradiati, 2014). Menurut Tuntun dan Huda (2014) habitat alami bakteri termofilik tersebar luas di seluruh permukaan bumi, diantaranya pada sumber-sumber air panas, kawah gunung berapi atau daerah vulkanik.

Kabupaten Solok Selatan tepatnya sumber air panas Mudiak Sapan, Jorong Balun, Nagari Pakan Rabaa, Kecamatan Koto Parik Gadang di Ateh, Sumatera Barat ditemukan bakteri termofilik penghasil enzim xylanase. Sumber air panas ini memiliki suhu 93°C dengan pH 8. Vegetasi yang terdapat disekitar sumber air panas ini adalah rumput-rumputan yang mempengaruhi karakteristik profil pertumbuhan dari jenis isolat yang ditentukan. Derajat keasaman (pH) juga mempengaruhi varian isolat karena keadaan disekitar sumber air panas bersifat basa maka diperkirakan isolat bakteri termofilik lebih beragam (Irdawati *et al.* 2017).

Sumber air panas Mudiak Sapan tersebut menghasilkan 19 isolat yang terdiri dari 12 isolat bakteri berasal dari sampel air dan 7 isolat bakteri dari sampel sedimen. 19 isolat bakteri termofilik menunjukkan karakteristik morfologi yang berbeda-beda. Setelah dilakukan pengujian terhadap aktivitas enzimnya terdapat 4 isolat bakteri termofilik yang mampu memproduksi enzim xilanase tertinggi yaitu isolat MS18, MSS11, MSS15, dan MS16 (Irdawati *et al.*, 2016). Untuk menghasilkan enzim xylanase yang lebih optimal tidak hanya dapat memanfaatkan bakteri tunggal atau monokultur tetapi juga bakteri dalam bentuk konsorsium (Komarawidjaja, 2009).

Konsorsium adalah campuran komunitas mikroba dalam bentuk komunitas kooperatif, simbiosis, dan saling terkait. Konsorsium mikroorganisme cenderung menghasilkan hasil yang lebih cepat dalam degradasi media hidup daripada berurusan dengan mikroorganisme individu. Ini karena tindakan enzimatik dari spesies mikroba yang berbeda saling melengkapi dan memungkinkan mereka bertahan hidup di lingkungan dengan menggunakan sumber nutrisi yang tersedia. (Siregar *et al.*, 2016). Mikroba dalam konsorsium memiliki peluang lebih besar untuk mendapatkan energi dan bertahan hidup, karena mereka dapat secara timbal balik memanfaatkan koenzim dan ekoenzim yang disekresikan oleh mikroba lain, dan dapat mendegradasi substrat yang sebelumnya didegradasi oleh satu mikroba (Septiningrum, 2011).

Konsorsium bakteri yang dipilih harus kompatibel, kompatibel adalah hubungan antara dua genus atau spesies bakteri tertentu yang aktivitasnya tidak bertentangan satu sama lain, tetapi berbagi sumber nutrisi yang sama dalam media hidup yang sama dan saling menguntungkan (Asri dan Zulaika, 2016). Isolat yang kompatibel ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat, dan isolat yang tidak kompatibel ditandai dengan terbentuknya zona hambat (Edy, 2011). Penentuan produksi enzim tertinggi dapat dilihat dari aktivitas xilanase tertinggi. Pada konsorsium bikultur memiliki produksi enzim xilanase yang lebih tinggi daripada monokultur (Vu *et al.*, 2022).

Tergantung pada lingkungan spesifik atau kondisi bakteri dalam medium pertumbuhan (konsorsium) yang sama, setiap isolat bakteri dalam konsorsium cenderung menghasilkan kelas senyawa spesifik yang berbeda yang dapat digunakan oleh bakteri lain dalam medium tersebut. Kondisi ini dapat terjadi hubungan *cross feeding* antar masing-masing kelompok bakteri. *Cross feeding* merupakan suatu simbiosis mutualistik sederhana yang terjadi dengan adanya produksi faktor tumbuh esensial tertentu dari setiap kelompok bakteri dalam konsorsium yang digunakan kelompok bakteri lain untuk menunjang pertumbuhannya sehingga menimbulkan hubungan saling ketergantungan antar masing-masing kelompok bakteri

(Valentina *et al.*, 2018).

Menurut beberapa penelitian seperti Zhang *et al.*, (2016), konsorsium bikultur mikroba XDC-2 yang terdiri dari bakteri *Bacillus* sp., dan *Clostridium* sp. masing-masing mencapai 1,2 dan 0,8, 250 IU diinokulasi ke dalam 5 ml medium DSM dapat mendegradasi lignoselulosa alami, dan juga mensekresi xilanase ekstraseluler secara efisien, hal ini disebabkan terdapatnya massa sel serta aktivasi xylanase karna efek sinergis enzim xylanolitik pada substrat. Penelitian Vu *et al.*, (2022), konsorsium bikultur antara *Bacillus subtilis* (B.01162) dan *Bacillus coagulans* (B.01123) dengan rasio konsorsiumnya 1:1, menghasilkan aktivitas enzim xilanase hampir 2x lipat dan 3x lipat lebih tinggi daripada monokultur. Penelitian Anthony *et al.*, 2016, aksi sinergis dari dua strain bakteri untuk produksi xilanase menggunakan *Acetobacter xylinum* (NCIM 2526) dan *Cellulomonas* (NCIM 2523) menghasilkan 5,85 U/mL aktivitas xilanase yang 6,9 kali lipat lebih banyak dari hasil monokultur.

Konsorsium bikultur berpotensi menghasilkan enzim xilanase yang lebih tinggi daripada isolat monokultur, hal inilah yang mendasari untuk dilakukannya penelitian tentang potensi konsorsium bikultur bakteri termofilik air panas mudiak sapan dalam menghasilkan enzim xilanase. Akan tetapi, dibutuhkan uji kompatibilitas terlebih dahulu untuk mengetahui apabila antar isolat bakteri saling berseinerjis.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2022 - Februari 2023 di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian dan eksperimen.

Pembuatan Medium

Medium NA (*Nutrient Agar*)

Medium NA ditimbang sebanyak 5 g dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquades sampai volumenya menjadi 250 ml, kemudian

dipanaskan hingga mendidih menggunakan hot plate lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 7 ml tiap tabung reaksi menggunakan pipet volumetric dan tutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi medium menggunakan autoclave suhu 121°C pada tekanan 15 psi selama 15 menit, medium ini digunakan untuk regenerasi bakteri.

Pembuatan substrat dan ekstraksi xilan dari serbuk jerami padi

Jerami dicuci dan dikeringkan, setelah setengah kering, oven dengan suhu 50°C selama 7 hari. Jerami yang telah kering digunting kecil-kecil kemudian diblender hingga menjadi serbuk. Serbuk tersebut digunakan sebagai substrat. 50 g serbuk jerami direndam dalam larutan NaOCl selama 5 jam pada suhu 28°C. Setelah itu bilas dan saring lalu direndam kembali dalam larutan NaOH 10% pada suhu 28°C selama 24 jam. Filtrat selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 30 menit. Kemudian cairan (supernatant) hasil sentrifugasi dinetralkan dengan HCl 6N untuk disentrifugasi kembali pada kecepatan 4000 rpm selama 30 menit. Supernatant yang dihasilkan sudah mengandung xilan, untuk memisahkan xilan tambahkan Etanol 95% dengan perbandingan (1:3) dan sentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 30 menit (Richana, 2007).

Medium Beechwood xilan dari ekstrak jerami

Medium untuk menumbuhkan bakteri penghasil xilanase yaitu menggunakan medium *Beechwood Xilan* dengan komposisi polipepton 0,5%, *yeast extract* 0,1%, K₂HPO₄ 0,1%, MgSO₄·7H₂O 0,02%, dan ekstrak jerami (xilam) 0,3% (Sofiyana, 2020), 0,125% Fruktosa (, 0,175% NH₄Cl (*Ammonium Chloride*). Dilarutkan dalam 1000 ml aquades dengan pH 8. Kemudian dipanaskan hingga homogen dan disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

Pelaksanaan penelitian Regenerasi bakteri

Regenerasi bakteri dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni dari stok kultur dalam medium NA di petridish. Kultur bakteri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 50°C selama 2-3 hari.

Produksi xilanase dari konsorsium bikultur bakteri termofilik

Isolat bakteri MS18, MSS11, MS16, MSS15 di aktivasi terlebih dahulu. Inokulum dipersiapkan dengan isolat bakteri dimasukkan ke dalam garam fisiologis dengan tingkat kekeruhan sesuai larutan McFarland 0.5. Apabila telah sesuai, inokulum dimasukkan sebanyak 2,5 ml ke dalam medium Beechwood Xilan 22,5 ml pada erlenmeyer 50 ml. Setelah itu inokulum diinkubasi pada suhu 60°C selama 24 jam menggunakan shaker incubator dengan kecepatan 150 rpm. Hasil dari aktivasi akan dijadikan sebagai starter pada tahap fermentasi.

Tabel 1. Perlakuan pada proses fermentasi konsorsium dan monokultur

Monokultur	Bikultur (Konsorsium)
MS18	MSS18 & MSS11
MSS11	MS18 & MSS15
MS16	MSS18 & MS16
MSS15	MSS11 & MS16
	MSS15 & MS16

Isolat bakteri yang telah diaktivasi sebelumnya dimasukkan ke dalam garam fisiologis masing – masing 9 ml, kekeruhannya disamakan dengan larutan Mc Farland 0.5 dengan bakteri dari petridish dimasukkan ke dalam garam fisiologis hingga sesuai tingkat kekeruhannya dengan larutan Mc. Farland tersebut. Bakteri di garam fisiologis masing – masing dimasukkan sebanyak 10% ke medium beechwood xilan sesuai perlakuan. Perlakuan monokultur sebanyak 5 ml sedangkan untuk konsorsium bikultur masing – masing isolat sebanyak 2,5 ml ke dalam 40,5 ml medium beechwood xilan pada erlenmeyer 50 ml. Seluruhnya difermentasi dalam *shaker incubator* selama 55 jam, suhu 60°C, dengan agitasi 140 rpm.

Pengamatan

Kurva Standar Xilosa

Larutan standar xilosa dibuat dalam kisaran 20, 40, 60, 80 dan 100 µg/ml. Masing-masing larutan standar sebanyak 0,5 ml dicampur dengan 0,5 ml akuades. Pengukuran absorbansi kurva standar xilosa menggunakan persamaan regresi linear pada persamaan 1.

$$y = ax + b \quad (1)$$

Keterangan:

y : Nilai absorbansi pada panjang gelombang $\lambda = 540 \text{ nm}$

a dan b : Perhitungan gula standar xilosa

x : Kadar xilosa

Aktivitas enzim xilanase

Sebanyak 1 ml sampel di sentrifus, lalu pisahkan antara pelet dan supernatan. Setelah itu dicampurkan 0,25 ml sampel dan 0,5 ml xilan dalam buffer fosfat (pH 8,5) dan diinkubasi pada suhu 60°C selama 10 menit. Kemudian menambahkan 0,5 ml Dinitrosalicylic Acid (DNS) dan diinkubasi pada suhu 90°C selama 15 menit. Mengukur absorbansi pada panjang gelombang 540 nm untuk menentukan aktivitas enzim. Pengujian aktivitas enzim xilanase dilakukan dengan menentukan kadar xilosa berdasarkan hasil dari pengujian kurva standar menggunakan persamaan regresi linear pada persamaan 2.

$$y = ax + b \quad (20)$$

Keterangan:

y : Nilai absorbansi pada panjang gelombang $\lambda = 540 \text{ nm}$

a dan b : Perhitungan gula standar xilosa

x : Kadar xilosa

Analisis data

Data hasil konsorsium bikultur bakteri termofilik MS dianalisis secara statistik dengan ANOVA (*Analisis of Variance*) dan apabila terdapat perbedaan nyata maka akan dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

Hasil dan Pembahasan

Konsorsium bakteri termofilik MS secara bikultur dan monokultur dalam produksi enzim xilanase

Hasil produksi enzim xilanase pada konsorsium bikultur bakteri termofilik MS (Mudiak Sapan) dapat dilihat pada Tabel dibawah. Produksi enzim tertinggi pada konsorsium secara bikultur adalah MS18 dan MSS15 yaitu 34,292 U/ml diikuti MSS15 dan MS16 sebesar 32,464 U/ml, Selanjutnya diikuti MS18 dan MS16 sebesar 29,651 U/ml. Hal ini terlihat dari hasil analisis Anova lanjut (DMRT)

yang menunjukkan perbedaan tidak nyata atau tidak signifikan pada taraf $\alpha=5\%$. Lalu diikuti oleh MS16 dan MSS11 sebesar 21,578 U/ml, lalu MSS15 sebesar 14,855 U/ml, dan MSS11 sebesar 11,507 U/ml yang tidak terlihat perbedaan yang nyata antara perlakuan tersebut. Produksi enzim xilanase terendah terdapat pada perlakuan MS18 dan MSS11 sebesar 4,66 U/ml yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan MS18 dan MS16.

Tabel 2. Produksi enzim

No	Perlakuan	Rata-rata
1.	MS18, dan MSS11	4,644 ^a
2.	MS16	5,966 ^a
3.	MS18	6,894 ^a
4.	MSS11	11,507 ^{ab}
5.	MSS15	14,855 ^{ab}
6.	MS16 dan MSS11	21,578 ^{bc}
7.	MS18, dan MS16	29,651 ^{cd}
8.	MSS15, dan MSS16	32,464 ^{cd}
9.	MSS18 dan MSS15	34,292 ^d

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada $\alpha=5\%$ menurut uji DMRT

Hasil statistik produksi enzim xilanase pada perlakuan konsorsium bikultur bakteri termofilik MS18 & MSS15, MSS15 & MS16, MS18 & MS16 dan MS16 & MSS11 mendapatkan hasil produksi tertinggi, pada keempat pasangan konsorsium tersebut terlihat produksi enzim xilanase meningkat 4x lipat lebih tinggi dibandingkan dengan isolat monokultur. Hal ini sesuai dengan Penelitian Vu *et al.*, (2022), konsorsium bikultur antara *Bacillus subtilis* (B.01162) dan *Bacillus coagulans* (B.01123) dengan rasio konsorsiumnya 1:1, menghasilkan aktivitas enzim xilanase hampir 2x lipat dan 3x lipat lebih tinggi daripada monokultur, serta penelitian Anthony *et al.*, 2016, menyatakan bahwa aksi sinergis dari dua strain bakteri untuk produksi xilanase menggunakan *Acetobacter xylinum* (NCIM 2526) dan *Cellulomonas* (NCIM 2523) menghasilkan 5,85 U/mL aktivitas xilanase yang 6,9 kali lipat lebih banyak dari hasil monokultur.

Menurut Septiningrum (2011), Mikroba dalam konsorsium memiliki peluang lebih besar untuk mendapatkan energi dan bertahan hidup karena secara timbal balik dapat memanfaatkan koenzim dan ekoenzim yang disekresikan oleh mikroba lain, serta dapat mendegradasi substrat

yang sebelumnya didegradasi oleh satu mikroba. Isolat bakteri yang berikatan satu sama lain saling berikatan dan lebih mampu memecah senyawa dibandingkan dengan isolat tunggal. Hubungan antara bakteri yang kompatibel dalam kondisi substrat yang cukup tidak mengganggu satu sama lain dan bertindak secara sinergis untuk mencapai efisiensi degradasi yang lebih tinggi (Okoh, 2006). Pada konsorsium juga terjadi hubungan *cross feeding* antar masing-masing kelompok bakteri. *Cross feeding* merupakan suatu simbiosis mutualistik sederhana yang terjadi dengan adanya produksi faktor tumbuh esensial tertentu dari setiap kelompok bakteri dalam konsorsium yang digunakan kelompok bakteri lain untuk menunjang pertumbuhannya sehingga menimbulkan hubungan saling ketergantungan antar masing-masing kelompok bakteri (Valentina *et al.*, 2018).

Terdapat banyak bakteri dengan kekhususan metabolisme. Metabolisme yang dapat digunakan untuk mendegradasi zat, terutama senyawa organik. Senyawa dapat dirangkai secara kompleks dan heterogen, mengakibatkan ketidakmampuan satu spesies bakteri untuk mendegradasi senyawa, sehingga diperlukan interaksi konsorsium antar bakteri (Nugroho, 2007). Perlakuan konsorsium MS18 & MSS11 di dapatkan hasil konsorsium yang rendah dan tidak berbeda nyata dengan monokultur MS18 dan MS16, hal ini kemungkinan disebabkan kedua isolat tersebut berkompetisi dalam penyerapan nutrisi pada satu medium yang sama, Rifai *et al.*, (2020) mengatakan bahwa adanya Interaksi antar mikroba yang hidup pada habitat yang sama dapat bersifat positif, saling menguntungkan, atau negatif, saling merugikan atau menghambat pertumbuhan. Penelitian Vu *et al.*, (2022) juga menguatkan pendapat tersebut, bahwa penurunan enzim xilanase oleh konsorsium bakteri termofilik bisa disebabkan oleh adanya senyawa tertentu yang dihasilkan oleh salah satu isolat sehingga produksi enzim rendah. Zhang (2016), berpendapat tidak semua bakteri xilanolitik dapat bergabung satu sama lain untuk memberikan efek positif pada degradasi lignoselulosa dan produksi xilanase ekstraseluler.

Perlakuan pada isolat monokultur bakteri termofilik mendapatkan hasil yang rendah yaitu pada isolat MSS15, MSS11, MS18 dan MS16.

Dilihat dari produksi yang dihasilkan perlakuan pada konsorsium lebih tinggi dalam memproduksi enzim xylanase, terbukti bahwa perlakuan konsorsium lebih menguntungkan jika dibandingkan dengan perlakuan monokultur. Ahmed (2022), mengungkapkan bahwa dalam konsorsium mikroba, organisme bekerja sama dalam sistem yang kompleks dimana semua mikroba mendapat manfaat dari aktivitas organisme lain dalam suatu komunitas. Keuntungan tersebut dapat dikaitkan dengan efek interaksi sinergis antara anggota asosiasi. Faktor yang mengakibatkan hal ini dapat terjadi kemungkinan karena salah satu mikroba memiliki kemampuan untuk menghilangkan zat-zat beracun yang dapat menghambat aktivitas mikroba dari spesies lainnya. Kemungkinan juga terdapat kerja sama antar mikroba yang dapat mengolah kembali hasil dari degradasi senyawa yang telah diolah oleh mikroba sebelumnya.

Kesimpulan

Konsorsium bikultur bakteri termofilik yang telah di uji kompatibilitas sebelumnya yang optimum yaitu MSS18 & MS15, serta MSS15 & MS16, dan MS18 & MS16 berpotensi terhadap peningkatan produksi enzim xylanase yang tertinggi.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Universitas Negeri Padang (UNP) yang sudah memberikan support moril dan materil sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan artikel ini.

Referensi

- Ahmed, Zakaria. (2022). Microbial consortium: A new approach in jute retting of preserved dry ribbons. *International Journal of Scientific Research Updates*. Orion Scholar Journal. DOI:10.53430/ijrsu.2022.4.1.0106
- 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. DOI: 10.1016/j.bcab.2016.10.003
- Asri, Anindya Citra dan Enny Zulaika. (2016). Sinergisme Antar Isolat *Azotobacter* yang Di konsorsiumkan. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. Vol.5, No.2, (2016) 2337-3520. DOI: 10.12962/j23373520.v5i2.20693
- Campbell. (2010). *Biologi Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Cappucino, J.G., & N. Sherman. (2012). *Microbiology: A Laboratory Manual*. The Benjamin Cummings Publishing Company. California.
- Deng, Y, dan S. Y. Wang. (2016). Synergistic growth in bacteria depends on substrate complexity, *Jurnal Microbiologi*. 54(1): 23-30 DOI: 10.1007/s12275-016-5461-9
- Irdawati and M, Fifendy. (2011). Isolation Bacteria Thermophilic Producer Amylase from Hot Springs Rimbo House Pasaman. *Report Research*. University Country of Padang.
- Irdawati, S., Agustien, A., & Rilda, Y. (2016). Xylanase enzyme stability and biochemical characteristics thermoxylanolytic bacteria from mudiak sapan hot springs at Solok Selatan district. *Der Pharm Lett*, 8, 254-261.
- Irdawati, Syamsuardi, Agustien., A., Rilda, Y., Alberida, H. (2017). Profil Pertumbuhan Bakteri Termofilik Penghasil Xylanase Alkali Dari Sumber Air Panas Mudiak Sapan, Solok Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan dan Sains Biologi 2*. ISBN: 978-602-742242-1.
- Irdawati., Syamsuardi., Anthoni, A., Yetria R., Heffi, A. (2016). Profil Pertumbuhan Bakteri Termofilik Penghasil Xylanase Alkali dari Sumber Air Panas Mudiak Sapan, Solok Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan dan Sains Biologi 2*, 19,25, dan 26 November, Bengkulu.
- Komarawidjaja, W. (2009). Karakteristik dan Pertumbuhan Konsorsium Mikroba Lokal dalam Media Mengandung Minyak Bumi. Jakarta. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 10 (1) : 114 – 119. DOI: <https://dx.doi.org/10.29122/jtl.v10i1.1510>
- Li S., X. Yang, S. Yang, M. Zhu, and X. Wang. (2012). Technology Prospecting on Enzymes: Application, Marketing and

- Engineering. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. Vol 1, No. 2.
- Li, M., Liao, X., Zhang, D., Du, G., and Chen, J. (2011). Yeast Extract Promotes Cell Growth and Induces Production of Polyvinyl; Alcohol-Degrading Enzymes. *Enz Research*. 1: 1-8. doi: 10.5936/csbj.201209017
- Melim, Miguel, A. S., Martins-Meyer, T. S., da Costa Figueiredo, E. V., Paulo-Lobo, P. W., & Dellamora-Ortiz, G. M. (2013). Enzymes in bakery:
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428.
- Ngili, Y. (2009). *Biokimia Struktur dan Fungsi Biomolekul*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Ningsih, D. R., Rastuti, U., & Kamaludin, R. (2012). Karakterisasi enzim amilase dari bakteri *Bacillus amyloliquefaciens*. *Prosiding*, 3(1).
- Nugroho, A. (2007). Dinamika populasi konsorsium bakteri hidrokarbonoklastik: studi kasus biodegradasi hidrokarbon minyak bumi skala laboratorium. *Jurnal Ilmu Dasar*, 8(1), 13-23.
- Okoh, Al. (2006). Biodegradation alternative in the cleanup of petroleum hydrocarbon pollutants. *Biotechnol. And Molecular Biology Review*. 1, (2), hlm. 38-50.
- Pangesti, N. W. I., Pangastuti, A., & Retnaningtyas, E. (2012). Pengaruh penambahan molase pada produksi enzim xilanase oleh fungi *Aspergillus niger* dengan substrat jerami padi. *Asian Journal of Tropical Biotechnology*, 9(2), 41-48. Pasca Sarjana. Medan. Universitas Sumatera Utara.
- Pramiadi, D., Yulianti, E., Rakhmawati, A. (2014). Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Lipase Termotabil dari Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Sains Dasar*. Vol 3 (1).
- Pratita, M. Y. E., dan Surya, R. P. (2012). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air Panas di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits*. 1(1): 1-5.
- Richana, N., Tedja, I. T., Anwar, N. M., Sailah, I., & Khaswar, K. (2007). The Process of Xylanase Production from *Bacillus pumilus* RXAIII-5. *Microbiology Indonesia*.
- Rifai MR, Widowati H & Susanto A. (2020). Sinergisme dan Antagonisme Beberapa Jenis Isolat Bakteri yang Dikonsorsiumkan. *BIOLOVA*. 1(1): 21-26
- Septiani, V., Choirunnisa, A., & Syam, A. K. (2017). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Karuk (*Piper sarmentosum roxb.*) Terhadap *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(1), 7-14. DOI:10.26874/kjif.v5i1.87
- Septiningrum, Krisna, dan Apriana, Chandra. (2011). "Produksi Xilanase dari Tongkol Jagung dengan Sistem Bioproses menggunakan *Bacillus circulans* untuk Pra-Pemutihan Pulp Production of Xylanase from Corn cob by Bioprocess System Using *Bacillus circulans* for PreBleaching Pulp". Bandung: *Balai Besar Pulp dan Kertas, Kementerian Perindustrian Indonesia*. Vol. V, No. 1 Hal. 87-97.
- Siregar, M., & Prayitno, S. B. (2016). Pengaruh Konsentrasi Konsorsium Bakteri K1, K2 Dan K3 Terhadap Status Kesehatan Rumput Laut (*Eucheuma Cottonii*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 5(1), 91-97.
- Sofiyayana, A. (2020). Optimasi Substrat Limbah Pertanian sebagai Media Alternatif Pengganti Xilan dalam Menghasilkan Enzim Xilanase Oleh bakteri Termofilik. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Padang.
- 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. DOI:10.31258/jnat.14.3.199-204
- Sutrisno, A. (2017). *Teknologi enzim*. Universitas Brawijaya Press.
- Taha, M., Shahsavari, E., Al-Hothaly, K., Mouradov, A., Smith, A. T., Ball, A. S., & Adetutu, E. M. (2015). Enhanced Biological Straw Saccharification through Coculturing of Lignocellulose-Degrading

- Microorganisms. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 175(8), 3709-3728.
- Tolner, B., Poolman, B., & Konings, W. N. (1997). Adaptation of microorganisms and their transport systems to high temperatures. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 118(3), 423-428.
- Tortora, G. J., B. R. Funke and C. L. Case. (2013). *Microbiology, An Introduction, 11st Ed.* San Francisco: Pearson Education Inc.
- Tuntun, M., Misbahul, H. (2014). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Way Panas Bumi Natar Lampung Selatan. *Jurnal Analisis Kesehatan*. Vol 3 (1).
- Valentina, F., Yuliani, L. L., & Lisdiana, L. (2018). Potensi Konsorsium Dua Isolat Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Ubi Jalar Var. Papua patippi dalam Menghasilkan Hormon Indole-3-Acetic-Acid (IAA). *Jurnal Lantera Bio*. Vol 7 (1)
- Vu, V., Farkas, C., Riyad, O., Bujna, E., Kilin, A., Sipiczki, G., & Nguyen, Q. D. (2022). Enhancement of the enzymatic hydrolysis efficiency of wheat bran using the Bacillus strains and their consortium. *Bioresource Technology*, 343, 126092.
- Wahyudi, P., Suwahyono, U., & Mulyati, S. (2010). Pertumbuhan *Trichoderma harzianum* pada Medium yang Mengandung Xilan. *Jurnal Ilmu kefarmasian*, 1-7.
- Wahyuna, Dina. (2012). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Termo-Proteolitik Sumber Air Panas Sungai Medang, Sungai Penuh, Jambi. *Skripsi*. Padang. Universitas Andalas.
- Wejse PL, Ingvorsen K dan Mortensen KK. (2011). Xylanase production by a novel halophilic bacterium increased 20-fold by response surface methodology. *Enz Microb Technol* 32: 721–727.
- Zhang D, Wang Y, Guo P, Wei C, Cui Z. (2016). New combination of xylanolytic bacteria isolated from the lignocellulose degradation microbial consortium XDC-2 with enhanced xylanase activity. *Jurnal Elsevier. Teknologi Sumber Daya Hayati* 221 (2016) 686–690. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.087>