

## ISOLASI DAN KARAKTERISTIK BAKTERI XILANOLITIK YANG BERPOTENSI SEBAGAI BIO-DEKOMPOSER

Sumardi\*<sup>1</sup>, Ayuni Mitra Sari<sup>2</sup>, Sri Yusraini<sup>3</sup>, Kusuma Handayani<sup>4</sup>, Rony Setiawan<sup>5</sup>

<sup>1,2,4,5</sup>Program Studi Biologi Terapan FMIPA Universitas Lampung

<sup>3</sup>Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung

Email:[sumardi\\_bio@yahoo.co.id](mailto:sumardi_bio@yahoo.co.id)

**Abstract:** Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) is a plant used for sugar production with waste products in the form of bagasse and sugarcane leaves. Sugarcane pulp and leaves are known to contain hemicellulose (xylan) which has the potential to be used as a rough substrate for xylanase-producing microorganisms. The aim of the research was to isolate xylanolytic bacteria from sugar cane plantations and to know the characteristics of xylanolytic bacteria. The research was conducted in December 2022- February 2023. This research was divided into 2 parts, namely experiment and observation. Experimental research in the form of biological characters using Completely Randomized Factorial Design (RALF). The first factor was the pH of the media, namely pH 4, pH 5, and pH 6. The second factor was temperature, using a temperature of 25°C and 45°C. Each treatment was carried out with 3 replications. To determine the characteristics of xylanolytic bacteria, an observational study was carried out by conducting a hypersensitivity test and observing the macroscopic and microscopic morphology of the bacterial colonies. The results showed that the best bacterial pH in producing the enzymatic index was at pH 4 and 25 °C. Hypersensitivity test showed that all isolates were pathogenic.

**Keywords:** bacteria, sugarcane plants, xylanase

**Abstrak:** Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman yang digunakan untuk produksi gula dengan hasil limbah berupa ampas dan daun tebu. Ampas dan daun tebu diketahui terdapat kandungan hemiselulosa (xilan) yang berpotensi dijadikan bahan substrat kasar mikroorganisme penghasil xilanase. Tujuan yang dilakukan penelitian adalah mengisolasi bakteri xilanolitik dari lahan perkebunan tebu dan mengetahui karakteristik dari bakteri xilanolitik. Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2022- Februari 2023. Penelitian ini dibagi menjadi 2 bagian yaitu eksperimen dan observasi. Penelitian eksperimental berupa karakter biologi menggunakan Rancangan Acak Faktorial Lengkap (RALF). Faktor pertama adalah pH pada media yaitu pH 4, pH 5, dan pH 6. Faktor kedua adalah suhu yaitu menggunakan suhu 25°C dan suhu 45°C. Setiap perlakuan dilakukan dengan 3 kali ulangan. Untuk mengetahui karakteristik bakteri xilanolitik dilakukan penelitian observasi dengan melakukan uji hipersensitivitas serta mengamati morfologi makroskopis dan mikroskopis koloni bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH bakteri terbaik dalam menghasilkan indeks enzimatis adalah pada pH 4 dan suhu 25 °C. Uji hipersensitivitas menunjukkan bahwa semua isolat bersifat patogen.

**Kata kunci:** bakteri, tebu, xilanase

Tebu merupakan salah satu penyumbang utama dalam produksi gula di Indonesia. Selama enam tahun terakhir (2014-2019), ada tiga provinsi yang berkontribusi paling tinggi dalam produksi gula tebu di tingkat nasional. Provinsi-provinsi tersebut adalah Jawa Timur dengan kontribusi sebesar 48,24 %, Lampung dengan kontribusi sebesar 30,48%, dan Jawa Tengah dengan kontribusi sebesar 8,12%. Pada tahun 2019, Provinsi Jawa Timur menghasilkan sekitar 1,1 juta ton gula, sedangkan Provinsi Lampung menghasilkan sekitar 0,7 juta ton gula (Triakuntari, 2020). Tingginya produksi gula ini mengakibatkan peningkatan limbah yang dihasilkan, baik berupa bagas tebu maupun daun tebu.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hidayati dkk. (2016) sekitar 50 % dari ampas tebu yang digunakan sebagai bahan bakar boiler dan sisanya ditimbun sebagai buangan yang memiliki nilai ekonomi rendah, sehingga akan berdampak pada pencemaran lingkungan. Bagas tebu mengandung polisakarida yang tersusun atas 50 %-55 % selulosa, 15 % -20 % hemiselulosa (xilan) dan lignin sekitar 20 % - 30 %, selain itu sisanya disebut senyawa abu (Samsuri *et al.*, 2009). Selain bagas tebu, daun tebu memiliki nilai ekonomi rendah dan menjadi bahan buangan yang memiliki nilai ekonomi yang rendah. Adapaun kandungan daun tebu selulosa sebanyak 36 %, 21 % hemiselulosa dan 16 % lignin (Moodly, 2017).

Kandungan hemiselulosa pada bagas tebu dan daun tebu berpotensi untuk dijadikan sebagai bio-dekomposer dengan cara menjadikan bagas tebu dan daun tebu sebagai kompos. Enzim xilanase digunakan untuk memecah struktur dari hemiselulosa pada bagas dan daun tebu. Kelompok bakteri yang memiliki kemampuan xilanolitik adalah *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Streptomyces sp.* (Mandal, 2015).

Isolasi bakteri dari lahan perkebunan tebu dilakukan dalam penelitian ini dengan tujuan untuk memperoleh mikroorganisme yang tumbuh dilahan perkebunan tebu untuk membantu mempercepat proses dekomposisi limbah tebu. Semakin besar populasi bakteri yang tumbuh maka proses dekomposisi limbah tebu akan berjalan lebih efisien. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi bakteri yang memiliki karakteristik khusus dari lahan perkebunan tebu.

## **METODE PENELITIAN**

Model Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2022- Februari 2023 di laboratorium mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Penelitian ini terbagi menjadi dua bagian yaitu observasi dan eksperimen. Dalam penelitian observasi dilakukan untuk mengetahui morfologi secara makroskopik dan mikroskopik serta untuk mengetahui patogenitas dari isolat bakteri yang diperoleh. Penelitian eksperimental berupa karakter biologi menggunakan Rancangan Acak Faktorial Lengkap (RALF). Faktor pertama adalah pH pada media yaitu pH 4, pH 5, dan pH 6. Faktor kedua adalah suhu yaitu menggunakan suhu 25°C dan suhu 45°C. Setiap perlakuan dilakukan dengan 3 kali ulangan.

### **Pembuatan Tepung Xilan**

Xilan dibutuhkan sebagai Sumber karbon, sehingga perlu ditambahkan pada media kultur. Langkah awal pembuatan tepung xilan yaitu delignifikasi dengan cara sampel limbah dicacah dihaluskan sampai ukuran 80 mesh sebanyak 20 g. Masing-masing serbuk yang dihasilkan didelignifikasi dalam NaCl 0,5%, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 6500 rpm selama 15 menit. Endapan dikeringkan, kemudian direndam dalam larutan NaOH 10% dan disentrifugasi. Supernatan yang didapatkan dinetralkan dengan HCl 6 N. Xilan yang terlarut dalam supernatan dipisahkan dengan penambahan etanol 95% dengan perbandingan etanol : sampel = 3:1. Produk akhir berupa tepung xilan yang tersebut digunakan sebagai sumber karbon dalam media pertumbuhan bakteri (Erika, 2015).

### **Pengambilan Sampel Tanah**

Sampel tanah diperoleh dari 6 titik pada areal perkebunan tebu dengan menggunakan metode purposive sampling dengan kedalaman 5-30 cm.

### **Enrichment (Pengayaan)**

Tahap *enrichment* bakteri dilakukan dengan menimbang sampel tanah, serasah tebu, bagas tebu masing-masing sebanyak 5 g dan masukkan kedalam Erlenmeyer dengan urutan sampel yang berbeda seperti pada Tabel 3. Adapun Komposisi mineral medium (per liter aquades) meliputi:  $K_2HPO_4$  (1,55 g),  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  (0,85 g),  $(NH_4)_2SO_4$  (2 g),  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  (0,1 g), EDTA (10 mg),  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  (2 mg),  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  (1 mg),  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  (5mg),  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  (0,2 mg),  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  (0,2 mg),  $C^\circ Cl_2 \cdot 6H_2O$  (0,4 mg),  $MnCl_2 \cdot 2H_2O$  (1 mg). Sampel dipanaskan pada suhu 80°C selama 20 menit pada *waterbath* dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C dengan menggunakan *shaker incubator* pada kecepatan 200 rpm.

### **Isolasi Bakteri Xilanolitik**

Sampel hasil pengayaan masing-masing kode diisolasi dengan teknik *spread plate* pada media *Minimum salt medium xylan* (MSMX) dengan pH 5 yang mengandung 0,5 % ekstrak xilan dan diinkubasi pada suhu 25° C selama 48 jam. Komposisi *Minimum salt medium xylan* (MSMX) meliputi  $K_2HPO_4$ , 4,55 g;  $NH_4NO_3$ , 5 g;  $H_3BO_3$ , 0,5 g;  $CaCl_2$ , 0.01 g;  $KH_2PO_4$ , 0,53 g;  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , 2,2 g; Mn asetat ,0,5 g;  $FeCl_3$ , 0,5 g;  $CuSO_4 \cdot 6H_2O$ , 0.16 g; Molybdic Acid, 0.11 g;  $Na_2$  EDTA 5 g; agar-agar, 17 g; air suling 1 L dan tepung xilan 0,5 %.

### **Uji Kualitatif Bakteri Xilanolitik**

Isolat bakteri murni yang diperoleh dikulturkan dengan cara dititikkan pada media *Minimum Salt Medium Xylan* (MSMX) steril dengan variasi pH menggunakan metode *replika plating*. *Replika plating* merupakan metode untuk menggandakan isolat dengan cara memberi nomor pada isolat yang akan digandakan pada masing-masing cawan petri. isolat yang telah diinokulasi diinkubasi selama 48 jam dengan variasi suhu 25°C dan 45°C. Skrining isolat bakteri penghasil xilanase dilakukan dengan menggunakan larutan indikator *congo red* 0,5 %. Isolat bakteri yang telah di inokulasi ke media MSMX (*minimum salt medium xylan*) kemudian ditetesi dengan pewarna *congo red* 0,5 % selama 15 menit dan dilakukan pembilasan zat warna *congo red* dengan menggunakan NaCl 1 m ( Sipriyadi, 2019) dan dilanjutkan dengan perhitungan indeks enzimatik menggunakan rumus:

$$IE = \frac{\text{Zona Bening} - \text{Koloni Bakteri}}{\text{Koloni Bakteri}}$$

Data hasil pengamatan perhitungan indeks enzimatik dianalisis menggunakan *Analysis of variance* (ANOVA) kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey taraf 5%.

### **Karakterisasi Bakteri Secara Makroskopik Dan Mikroskopik**

Pengamatan morfologi koloni secara makroskopik meliputi ukuran koloni bakteri, bentuk koloni bakteri, bentuk bagian tepian koloni, dan warna koloni bakteri (Lenni, 2011). Pengamatan mikroskopik meliputi pengecatan gram dan pengecatan endospora.

### **Uji Toleransi Bakteri Terhadap pH Dan Suhu**

Pada tahap ini Sampel bakteri Yang telah diperoleh diambil 1 ose kemudian disubkultur ke media MSMX (*minimum salt medium xylan*). Kemudian diinkubasi dengan variasi pH 4, 5, dan 6 masing - masing diinkubasi pada suhu 45°C dan suhu 25°C.

Setelah itu dilakukan pengamatan terhadap koloni yang tumbuh pada media tersebut.

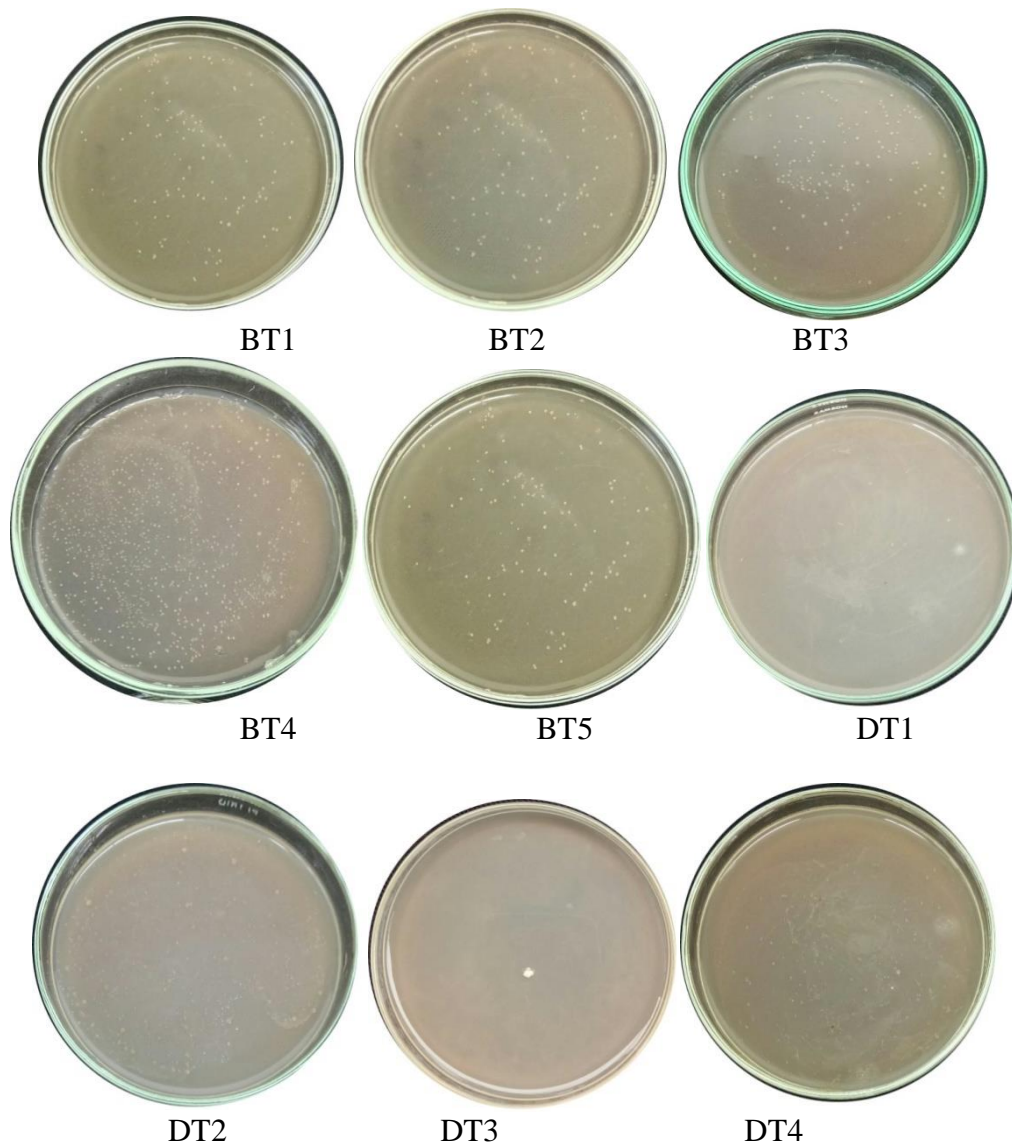
### **Uji Hipersensitivitas Bakteri**

Untuk melakukan uji Hipersensitivitas isolat pada tanaman tembakau dilakukan dengan cara isolat bakteri ditumbuhkan pada media NB dan diinkubasi pada suhu 34°C selama 24 jam. Selanjutnya sebanyak 1 ml isolat diinjeksikan ke daun tembakau secara hati-hati dengan menggunakan jarum suntik 3 ml. Titik injeksi diberi label sesuai dengan kode isolat. Kemudian amati selama 48 jam (Rahmayuni, 2018).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Isolasi Tanah Perkebunan Tebu**

Hasil isolasi tanah perkebunan tebu diperoleh 13 jenis isolat bakteri (Gambar 1).



**Gambar 1.** Hasil Isolasi Tanah Perkebunan Tebu (Dokumentasi pribadi, 2023)

Dari hasil isolasi tanah perkebunan tebu, selanjutnya diamati secara

mikroskopik dan makroskopik (Tabel 1).

**Tabel 1.** Pengamatan Mikroskopik Bakteri Hasil Isolasi Tanah Perkebunan Tebu

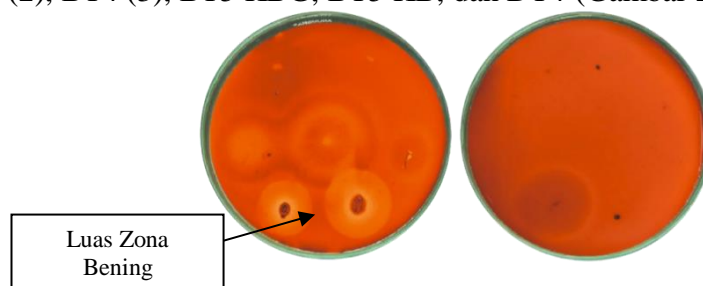
Kode Isolat	Bentuk Bakteri	Morfologi Koloni	
		Pewarnaan Gram	Endospora
<b>BT 1</b>	Basil	Negatif	+
<b>BT 2</b>	Basil	Positif	+
<b>BT 3 KTC</b>	Basil	Positif	+
<b>BT 3KTH</b>	Basil	Positif	+
<b>BT 4 (1)</b>	Basil	Negatif	+
<b>BT 4 (2)</b>	Basil	Positif	+
<b>BT 4 (3)</b>	Basil	Negatif	+
<b>BT 5 KB</b>	Basil	Positif	+
<b>BT 5 KBG</b>	Basil	Negatif	+
<b>DT 1</b>	Basil	Positif	+
<b>DT 2</b>	Basil	Positif	+
<b>DT 3</b>	Basil	Positif	+
<b>DT 4</b>	Basil	Negatif	+

Keterangan:

1. Tanda positif (+) menunjukkan bahwa bakteri menghasilkan endospora.
2. Tanda negatif (-) menunjukkan bahwa bakteri tidak menghasilkan endospora.

### Uji Kualitatif Bakteri Xilanolitik

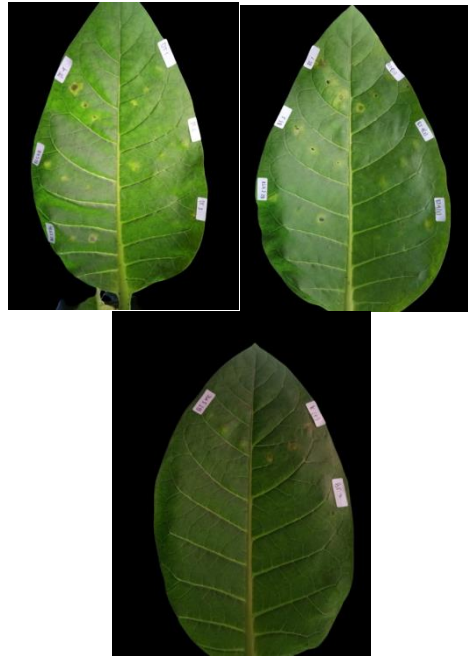
Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa dari ke 13 isolat jenis bakteri yang telah diperoleh dari isolasi tanah perkebunan tebu, terdapat 6 jenis isolat yang memiliki kemampuan xilanolitik yaitu isolat dengan kode BT3 KTC, BT3 KTH, BT4 (1), BT4 (2), BT4 (3), BT5 KBG, BT5 KB, dan DT4 (Gambar 2).



**Gambar 2.** Hasil Zona Bening dari Bakteri Xilanolitik (Dokumentsai pribadi, 2023)

### Uji Hipersensitivitas Bakteri

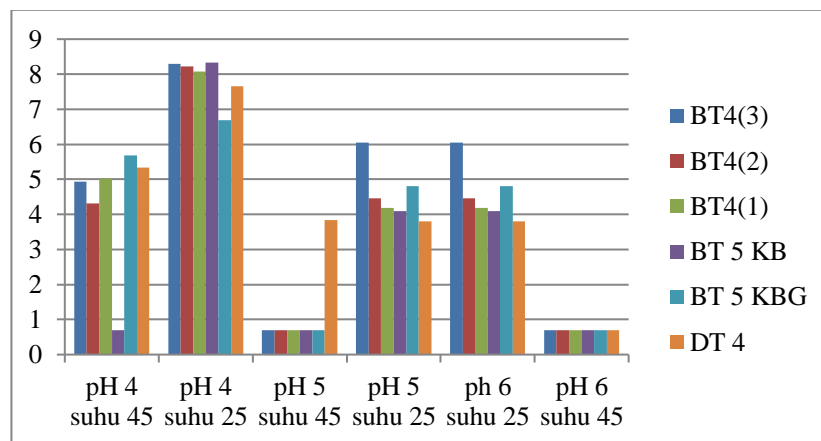
Hasil yang didapatkan dari uji hipersensitivitas terhadap isolat bakteri yang diisolasi dari tanah perkebunan tebu menunjukkan adanya nekrosis pada isolat dengan kode BT 1, BT3, BT 4(1), BT 4 (2), BT 4 (3), BT 5 KB, BT 5 KBG, DT 1, DT 2, BT3 dan DT 4, sedangkan isolat dengan kode BT 2 tidak menimbulkan gejala nekrosis. Gejala nekrosis yang ditimbulkan dapat terlihat pada 48 jam setelah dilakukannya injeksi ke tanaman tembakau (Gambar 3).



**Gambar 3.** Hasil Uji Hipersensitivitas Bakteri Xilanolitik (Dokumentasi Pribadi, 2023)

### Uji Toleransi Terhadap pH Dan Suhu

Hasil dari uji toleransi pH dan suhu menunjukkan bahwa nilai indeks enzimatik paling tinggi adalah pada media dengan pH 4 dan suhu 25°C (Gambar 4).



**Gambar 4.** Hasil Uji Toleransi Suhu dan pH (Visualisasi data pribadi, 2023)

## PEMBAHASAN

### Isolasi Tanah Perkebunan Tebu

Terdapat beberapa bakteri yang memiliki sifat gram positif dan Gram negatif. Perbedaan sifat Gram tersebut karena struktur dinding sel pada bakteri. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi. Dari hasil isolasi menunjukkan bahwa seluruh isolat yang diperoleh memiliki endospora. Dalam Pewarnaan spora bakteri menggunakan larutan *Malachite Green* 5% dan Safranin 0,5%, yang mengakibatkan pewarnaan akan tampak hijau pada spora, serta merah pada sel vegetatif (Tabel 1).

### **Uji Kualitatif Bakteri Xilanolitik**

Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa dari ke 13 isolat jenis bakteri yang telah diperoleh dari isolasi tanah perkebunan tebu, terdapat 6 jenis isolat yang memiliki kemampuan xilanolitik yaitu isolat dengan kode BT3 KTC, BT3 KTH, BT4 (1), BT4 (2), BT4 (3), BT5 KBG, BT5 KB, dan DT4 (Gambar 2). Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Inayah (2016), menunjukkan bahwa isolat dengan kode XJ20, XJ23, XJ26A, dan XJ26B menghasilkan zona bening pada pH 4 dengan kondisi suhu 25°C dan hasil pengamatan menunjukkan bahwa isolat dengan kode XJ20 didapatkan isolat bakteri pendegradasi xilan paling tinggi. Menurut penelitian yang dilakukan Lestari (2014) menyatakan bahwa Pada medium RBB-xylan, bakteri tersebut terbukti mampu mendegradasi xilan. Menurut Teather dan Wood (1982), zona bening yang terbentuk di sekitar isolat disebabkan karena adanya pemutusan ikatan  $\beta$ -1,4-D pada xilan menjadi xilosa dan xilooligosakarida, sehingga *congo red* tidak dapat diikat dengan kuat pada media karena *congo red* memiliki interaksi yang kuat dengan polisakarida yang mengandung ikatan  $\beta$ -1,4-D-glukopiranosil. Zona bening yang terbentuk pada isolat menunjukkan adanya dua degradasi warna yaitu zona bening yang lebih terang dan yang lebih gelap. Degradasi warna tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri memproduksi lebih dari satu jenis xilanase. Struktur xilan yang kompleks membutuhkan berbagai jenis enzim sehingga dapat terhidrolisis secara utuh. Warna zona bening yang semakin terang menunjukkan degradasi xilan yang semakin sempurna dan diduga memiliki xilosidase. Perbedaan warna juga menunjukkan perubahan pH pada media. Warna biru menunjukkan pH 3, warna merah-ungu menunjukkan pH 5, dan warna jingga menunjukkan pH 7-8. Diameter zona bening yang dihasilkan menunjukkan besarnya aktivitas xilanase (Yoon *et al.* 2007).

### **Uji Hipersensitivitas Bakteri**

Hasil yang didapatkan dari uji hipersensitivitas terhadap isolat bakteri yang diisolasi dari tanah perkebunan tebu menunjukkan adanya nekrosis pada isolat dengan kode BT 1, BT3, BT 4(1), BT 4 (2), BT 4 (3), BT 5 KB, BT 5 KBG, DT 1, DT 2, BT3 dan DT 4, sedangkan isolat dengan kode BT 2 tidak menimbulkan gejala nekrosis. Gejala nekrosis yang ditimbulkan dapat terlihat pada 48 jam setelah dilakukannya injeksi ke tanaman tembakau (Gambar 3). Gejala tersebut terjadi karena pada daun tembakau terjadi hubungan yang kompatibel antara bakteri patogen dan tembakau, sedangkan bakteri yang bersifat tidak patogen maka bakteri tidak dapat berkembang di dalam jaringan daun tembakau. Gejala nekrosis merupakan gejala yang diakibatkan karena kematian sel-sel jaringan tanaman yang ditandai dengan terjadinya pengeringan dan kematian sel inang di sekitar tempat invasi, selanjutnya patogen akan terisolasi dari jaringan yang hidup dengan adanya pembatas berupa sel-sel jaringan yang telah mati kemudian daerah tersebut akan terpotong, hal tersebut merupakan cara tanaman tembakau menghambat bakteri patogen agar tidak menyebar ke seluruh jaringan (Herdiyantoro, 2022).

### **Uji Toleransi Terhadap pH dan Suhu**

Hasil dari uji toleransi pH dan suhu menunjukkan bahwa nilai indeks enzimatik paling tinggi adalah pada media dengan pH 4 dan suhu 25°C (Gambar 4). Menurut penelitian Seo (2013) menyatakan bahwa enzim xilanase dari *Bacillus licheniformis* JKT 7 stabil pada suhu 20°C-40°C. Hal tersebut terjadi karena bakteri mampu tumbuh pada suhu optimum pada suhu 25°C sampai 60°C (Motta *et al.*,2013). Sedangkan pada pH 4

menunjukkan bahwa bakteri tersebut termasuk kedalam golongan bakteri asidofil atau bakteri yang mampu hidup dilingkungan asam. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Seo (2013) menyatakan bahwa aktivitas xilanase dari *Bacillus licheniformis* JKT 7 stabil pada pH 4. Perbedaan indeks enzimatik terjadi dikarenakan Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH, karena enzim memiliki sifat ionik gugus karboksil dan gugus amino mudah terpengaruh oleh pH. Perubahan pH yang tidak sesuai akan menyebabkan daerah katalitik dan konformasi enzim berubah (Sumardi, 2010). Ketika pH berubah, begitu pula derajat ionisasi enzim. Jika pH terlalu rendah, enzim akan menjadi tidak aktif, dan jika pH terlalu tinggi, enzim akan mudah terdenaturasi.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa diperoleh 13 jenis isolat bakteri dari hasil isolasi tanah perkebunan tebu yang memiliki karakteristik diantaranya memiliki endospora serta 6 isolat diantaranya memiliki kemampuan Xilanolitik yang mampu tumbuh dengan optimum pada suhu 25°C dan pH 4.

### **Saran**

Keseluruhan isolat bakteri tersebut perlu diidentifikasi secara molekuler untuk mengetahui spesies masing-masing secara tepat dan perlu ditambahkan rentang pH media dan suhu inkubasi dalam pengujian pengaruh pH dan suhu terhadap pertumbuhan isolat bakteri yang bertujuan untuk mengetahui lebih lanjut mengenai batas toleransi pH dan suhu untuk pertumbuhan semua isolat bakteri.

## **DAFTAR RUJUKAN**

- Herdiyantoro, D., M. R. Setiawati, T. Simarmata. (2022). Reaksi Hipersensitif Daun Tembakau oleh Isolat Bakteri Pelarut Kalium pada Praformulasi Pupuk Hayati. *Soilrens*. 20(2).
- Inayah, Mazidah Noer. (2016). Karakterisasi Xilanase Dari Bakteri Xilanolitik Asal Tanah Hutan Taman Nasional Bukit Duabelas Jambi Indonesia. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Lenni Fitri, Y. Yasmin. (2011). Isolasi Dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. 3(2):20-25.
- Mandal. A. (2015). Review on microbial Xilanases and their applications. *International Journal of Life Sciences*. 4.(3):178-187.
- Moodley, Preshanthan, E.B. Gueguim Kana. (2017). Comparative Study Of Three Optimized Acid-Based Pretreatments For Sugar Recovery From Sugarcane Leaf Waste: A Sustainable Feedst<sup>o</sup>Ck For Biohydrogen Production. *Engineering Science and Technology, an International Journal*. Vol. 30.
- Motta F.L., Andrade C.C.P., Santana M.H.A. (2013). A review of Xilanase production by the fermentation of Xilan: classification, characterization and applications. In: Chandel A.K., da Silva S.S. (Eds) *Sustainable Degradation of Lign<sup>o</sup>Cellulosic Biomass- Techniques, Applications and Commercialization*. InTech. Croatia.
- Oktari A, Y Supriatin, M Kamal, H. Syafrullah. (2017). The Bacterial Endospore Stain on Schaeffer Fulton using Variation of Methylene Blue Solution. *Journal of Physics: Conf. Series* 812 (2017) 012066.



- Rahmayuni, E., S. Ismiani, D.H. Muslimah, E.D.I. Wilujeng, dan M.N. Rizqulloh. (2018). Karakterisasi dan viabilitas isolat bakteri pelarut fosfat dalam bahan pembawa kompos dan zeolit. *Jurnal Agrosains dan Teknologi* 3 (1): 31-38.
- Seo. J. K., T. S. Park., I. H. Kwon., M. Y. Piao., C. H. Lee., J.K. Ha. (2013). Characterization Of Cellulolytic And Xylanolytic Enzymes Of *Bacillus Licheniformis* JK7 Isolated From The Rumen Of A Native Korean Goat. *Asian-Aust. Jurnal Anim.Sci.*26:50-58.
- Sumardi, D. Lengkana. (2010). Isolasi *Bacillus* Penghasil Protease Dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung. *FMIPA Universitas Lampung*. Hal. 5.
- Triakuntari, D., Permadhi, D., & Putra, L. K. (2020). Analisis kinerja dan prospek komoditas gula. *Opini dan Analisis Perkebunan*.1(1):1-10.
- Tuntun Maria, M. Huda. (2014). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Way Panas Bumi Natar Lampung Selatan. *Jurnal Analis Kesehatan*. 3(1): 297-304.
- Yoon, J.H., Park, J.E., Suh, D.Y., Hong, S.B., Ko, S.J, Kim, S.H. (2007). Comparison of dyes for easy detection of extracellular cellulases in fungi. *Mycobiology*. 35(1):21-24.
- Erika, R. Agustrina., Sumardi, Mulyono. (2015). Optimasi Media Produksi Xilanase Dari *Bacillus* sp. *Jurnal Selulosa*, 6(1):19-26.
- Lestari P., W. Sarmiad., N. Richana.,S. Salma., Y. Suryadi. (2014). Evaluation of Cellulase Activity from *Trichoderma* spp.and Xylanolytic Bacteria. *Jurnal Ag*