

Limbah Berlignoselulosa Sebagai Media Produksi Xilanase Kapang Asal Jerami Padi Sawah Pantai

Using Lignosellulose Waste as a Xylanase Production Media of Mold Isolated from Rice Straw of Coastal-field

Esti Utarti^{*}), Siswanto

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember

^{*}E-mail: adiest.95@gmail.com

ABSTRACT

Hemicellulose is one of lignocellulose waste component, so that xylanase is one of importance enzyme of lignocellulose waste biodegradation. Molds as main decomposer lignosellulose waste has enzyme activities higher than yeast and bacteria. The aim of the research is to find mold that have xylanolytic activity using lignocellulose waste as media production. The research consist of isolations and screening mols from coastal-field of watu Ulo Jember, xylanase production using lignocellulose waste and idntification of mold which has the highest xylanase activity. A total of 66 molds isolated from rice straw in coastal-field of Watu Ulo Jember. There were screened for their xylanase activity. In semiquantitatively screen on Oat Spelt Xylan plate, the result showed that 62 have xylanolytic activities. Based on clearing zone production, isolates ESW A1 (3.2), ESW A5 (3.1), ESW C 16 (3.26), ESW D4 (3.0) and ESW D15 (3.21) have xilanase activity index higher than others. Furthermore, quantitative analysis using wheat bran, rice straw and baggase in basic salt Mandel's modification media showed that xylanase activity of isolate ESW D4 was higher on rice straw 3% as substrate production with activity 2.66 U/mL. Isolate ESW D4 identified as *Aspergillus foetidus* so that called as *Aspergillus foetidus* ESW D4.

Keywords: Rice straw, Coastal-field, *Aspergillus foetidus* ESW-D

PENDAHULUAN

Xilanase merupakan kelompok enzim yang memiliki kemampuan menghidrolisis hemiselulosa, dalam hal ini xilan atau polimer dari xilosa dan xilooligosakarida. Xilanase dan mikroba yang menghasilkannya biasanya digunakan dalam pengelolaan sampah untuk mendegradasi xilan menjadi produk daur ulang, industri makanan, industri kertas dan pulp sehingga mengurangi pemakaian bahan kimia yang berpengaruh buruk bagi lingkungan. Oligosakarida yang dihasilkan dari aktivitas xilanase bahkan dapat berperan sebagai makanan tambahan dan pemanis makanan (Goswami dan Pathak, 2013; Motta *et al.* 2013). Xilanase juga berperan dalam produksi pakan broiler, suplemen pada pakan ayam serta proses *deinking* (Adam, 2000).

Pada industri pulp dan kertas, xilanase digunakan sebagai pengganti klorin, yang dapat menyebabkan pencemaran lingkungan. Peranan xilanase pada industri pulp dan kertas berkaitan dengan hidrolisis xilan sehingga ikatan antara lignin dan karbohidrat terputus tanpa merusak selulosa. Reaksi ini akan membuka struktur pulp dan menghasilkan dihasilkan kertas yang lebih cerah serta berkualitas tinggi (Motta *et*

al. 2013). Penggunaan xilanase dalam proses pra pemutihan kertas pada pulp selulosa merupakan alternatif pengurangan penggunaan klorin proses pemutihan kertas. Sejumlah kajian pengaruh xilanase dari *Trichoderma* sp. pada pemutihan kertas ternyata mengurangi penggunaan klorin hingga mencapai 20-30% (Viikari *et. al.*, 1994). Klorin akan bereaksi dengan senyawa organik dalam kayu membentuk senyawa toksik seperti dioksin. Dioksin ditemukan dalam proses pembuatan kertas, air limbah dan produk kertas (Rini, 2002).

Xilanase dapat dihasilkan oleh bakteri, alga, khamir, kapang, protozoa, gastropoda dan anthropoda. Sebagai mikroba penghasil xilanase, kapang memiliki tingkat hidrolisis xilan yang lebih tinggi dari khamir dan bakteri. Kapang berfilamen mempunyai kemampuan hidrolitik pada dinding sel tanaman, karena mampu mensekresikan enzim lebih tinggi pada media kulturnya.

Faktor utama untuk efisiensi produksi enzim adalah komposisi media dan pemilihan substrat yang mampu menginduksi mikroba untuk menginduksi dan mensekresikan enzim. (Goswami dan Pathak, 2013). Adanya substrat tertentu dalam media produksi akan memacu

mikrob untuk mensekresi metabolit selnya, sehingga keberadaan xilan dalam media produksi akan memacu mikrob untuk menghasilkan xilanase ekstraseluler. Xilan merupakan komponen utama hemiselulosa pada dinding sel tanaman dengan kadar 25-30% berat kering tanaman (Perez *et al.*, 2002) yang terikat secara kovalen dan nonkovalen pada selulosa, pectin, lignin dan polisakarida lainnya untuk membentuk dinding sel. β -1,4 xilan merupakan polisakarida heterogen yang banyak ditemukan sebagai hasil samping dari tanaman pertanian seperti, jerami padi, dedak padi, dedak gandum, tongkol jagung, tangkai jagung dan ampas tebu.

Limbah berlignoselulosa yang tinggi potensinya di Indonesia antara lain jerami, ampas tebu, ampas tapioka, bonggol jagung, kulit jagung dan dedak gandum seringkali tidak tertangani sehingga menyebabkan pencemaran lingkungan. Pada umumnya limbah tidak memiliki nilai ekonomi, namun jika ditelaah limbah lignoselulolitik tersebut merupakan bahan organik sehingga dengan penanganan yang benar akan lebih bermanfaat, misalnya sebagai media produksi xilanase.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kapang yang mempunyai aktivitas xilanolitik terbaik, mendapatkan jenis media produksi dan konsentrasi optimal yang paling sesuai untuk produksi xilanase dan mengidentifikasi satu kapang yang mempunyai aktivitas xilanolitik terbaik.

METODE

Penapisan Kapang Xilanolitik Secara Semikuantitatif.

Sampel kapang berasal dari jerami padi sawah pantai Watu Ulo Jember. Isolasi kapang dilakukan pada media PDA yang sebelumnya ditambahkan streptomisin 0,01% untuk mencegah pertumbuhan bakteri. Isolat murni yang didapatkan selanjutnya diremajakan pada media *Potato Dextrosa Agar* (PDA) miring sebelum digunakan untuk perlakuan. Analisis aktivitas secara semi kuantitatif dilakukan pada media *Oat Spelt Xylan Agar* dalam basal mineral Paul Mayerhoff pada pH sesuai habitat kapang, yang dibuat dengan dua lapis (*two layer*).

Penentuan indeks aktivitas xilanase secara semi kuantitatif dilakukan dengan metode *congo red*. *Congo red* akan berikatan dengan polisakarida yang mengandung ikatan β -(1-4)-D-Glukopiranosil (Theater dan Wood, 1981). Xilan yang sudah terhidrolisis akan terlihat jernih pada pewarnaan *congo red* (terbentuk zona bening) sedangkan yang belum terhidrolisis berwarna ungu. Indeks aktivitas xilanase dihitung berdasarkan perbandingan diameter zona bening dan diameter koloni.

Seleksi Kapang Xilanolitik Secara Kuantitatif.

Pembuatan inokulum diawali dengan pengukuran kepadatan spora. Lima isolat kapang diinokulasikan secara merata pada media PDA miring dan diinkubasi pada suhu 30°C. Pengukuran kepadatan spora dilakukan dengan hemasitometer berdasarkan cara Hadioetomo (1993) yang dilakukan setiap hari berturut-turut sampai hari ketujuh. Spora yang digunakan sebagai sumber inokulum adalah sebesar 10^8 .

Seleksi kapang xilanolitik secara kuantitatif dilakukan dengan menginokulasikan kelima isolat dalam media produksi jerami padi, dedak gandum dan ampas tebu pada konsentrasi 1, 2 dan 3%. Sebanyak 2.5 ml inokulum ditumbuhkan masing-masing pada media produksi jerami padi, dedak gandum dan ampas tebu, dalam basal mineral modifikasi Mandel pada pH sesuai pH habitat asal isolat dan diinkubasi pada inkubator bergoyang 90 U/min pada suhu 30°C selama 96 jam.

Ekstraksi xilanase dilakukan setelah inkubasi 96 jam, dengan sentrifugasi 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Substrat yang digunakan untuk uji aktivitas xilanase adalah *Birchwood xylan* (Mandels *et al.*, 1976), selanjutnya produksi gula (gula reduksi) dideteksi dengan metode DNS berdasarkan Miller (1959). Pengukuran aktivitas xilanase dilakukan dengan menggunakan *Birchwood xylan* 1% dalam pH habitat asal isolat pada suhu 30°C selama 60 menit. Pembacaan absorbansinya dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Satu unit aktivitas xilanase merupakan banyaknya xilanase yang dapat memproduksi 1 μ mol xilosa dalam 1 menit pada kondisi uji tertentu. Penentuan aktivitas xilanase berdasarkan kurva standar xilosa.

Identifikasi Kapang Xilanolitik.

Satu isolat kapang dengan aktivitas xilanase terbaik diidentifikasi baik secara makroskopis maupun mikroskopis untuk identifikasi primer. Identifikasi makroskopis meliputi diameter koloni, warna pigmentasi, warna koloni, ada tidaknya eksudat dan warnanya, garis radial, ada tidaknya zonasi, ada tidaknya bau yang khas. Pengamatan mikroskopis meliputi bentuk dan ukuran seluruh organ. Identifikasi dilakukan berdasarkan Samson dan Hoekstra (1995) dalam bukunya *Introduction to Food-Borne Fungi* serta Klich dan Pitt (1988) dalam *A Laboratory Guide To Common Aspergillus Species And Their Telemorphs*. Medium yang digunakan untuk identifikasi kapang adalah CYA (*Czapek Yeast Extract Agar*), Sukrosa, MEA (*Malt Extract Agar*), dan *Czapek* konsentrat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi Kapang Xilanolitik secara Semi Kuantitatif.

Sebanyak 66 kapang telah berhasil diisolasi dari 5 lokasi tanah sawah pasca tanam padi di pantai Watu Ulo Jember. Selanjutnya dilakukan seleksi aktivitas xilanolitiknya secara

semi kuantitatif. Seleksi kapang secara semikuantitatif dapat dilihat dengan mengamati indeks aktivitas xilanase, yaitu perbandingan antara diameter zona bening dengan metode 'congo red'. Beguin (1983) menyatakan bahwa *congo red* berikatan kuat dengan polisakarida yang mengandung ikatan $\beta(1-4)$ D-glukopiranosil. Hidrolisis xilan oleh kapang xilanolitik menyebabkan tidak terjadi pengikatan oleh *congo red* pada proses pewarnaannya, sehingga menyebabkan penampakan zona bening. Indeks aktivitas selulase ditentukan berdasarkan perbandingan diameter zona bening terhadap diameter koloni.

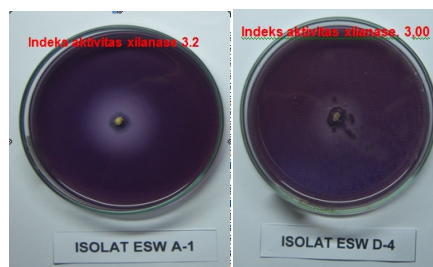
Hasil seleksi secara semi kuantitatif terhadap 66 isolat kapang yang pada menunjukkan bahwa terdapat 62 isolat yang mempunyai aktivitas xilanolitik (Tabel 1). Kemampuan kapang untuk bersifat xilanolitik dipengaruhi oleh kondisi lingkungan pertumbuhannya. Kapang yang diisolasi dari jerami dengan kandungan hemiselulosa cukup tinggi (26%) dapat menstimulasi terbentuknya xilanase, yaitu sebagai substrat atau induser.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Indeks Aktivitas Xilanolitik 62 Kapang

Nama Isolat	Diameter koloni	Diameter zona bening	Indeks xilanase
ESW A-1	0.78	2.50	3.20
ESW A-2	2.07	3.60	1.74
ESW A-3	1.76	2.97	1.69
ESW A-4	2.80	3.60	1.30
ESW A-5	0.70	2.20	3.14
ESW A-7	1.10	1.70	1.55
ESW A-8	1.20	2.50	2.06
ESW B-1	3.50	3.80	1.09
ESW B-2	5.00	5.40	1.08
ESW B-3	1.23	2.33	1.89
ESW B-5	1.90	2.20	1.16
ESW B-6	1.45	2.50	1.72
ESW B-7	2.00	2.50	1.25
ESW B-8	1.30	2.10	1.62
ESW B-9	1.38	2.00	1.45
ESW B-10	1.10	1.70	1.55
ESW B-11	1.07	1.74	1.62
ESW B-14	0.85	1.50	1.76
ESW B-15	1.90	2.30	1.22
ESW C-2	1.70	2.80	1.65
ESW C-3	1.60	2.65	1.66
ESW C-4	0.50	1.20	2.40
ESW C-5	9.60	10.00	1.04
ESW C-6	2.10	3.30	1.57
ESW C-7	2.80	3.30	1.18
ESW C-8	1.18	3.10	2.64
ESW C-9	2.60	3.07	1.18
ESW C-10	4.80	5.40	1.13
ESW C-11	2.10	3.60	1.72

ESW C-12	2.60	3.20	1.23
ESW C-13	3.60	2.40	1.50
ESW C-14	3.45	3.75	1.09
ESW C-15	0.55	0.90	1.64
ESW C-16	0.78	2.53	3.26
ESW C-17	2.10	2.40	1.14
ESW C-18	0.98	2.80	2.88
ESW C-20	1.15	1.80	1.57
ESW C-22	0.30	0.40	1.33
ESW C-23	2.00	2.40	1.20
ESW C-24	0.97	2.63	2.72
ESW C-25	4.20	5.00	1.19
ESW D-1	1.60	2.80	1.75
ESW D-2	1.95	3.30	1.69
ESW D-3	2.00	2.20	1.10
ESW D-4	1.00	3.00	3.00
ESW D-5	1.90	2.20	1.16
ESW D-6	1.10	1.30	1.18
ESW D-7	1.10	2.35	2.13
ESW D-8	1.20	2.60	2.16
ESW D-9	1.23	2.85	2.31
ESW D-10	0.60	0.75	1.25
ESW D-11	1.00	1.20	1.20
ESW D-12	6.00	6.20	1.03
ESW D-13	2.50	3.10	1.24
ESW D-14	1.45	2.90	2.00
ESW D-15	0.70	2.25	3.21
ESW E-1	2.45	2.97	1.22
ESW E-3	0.45	0.65	1.44
ESW E-4	2.47	3.43	1.39
ESW E-5	2.45	2.65	1.08
ESW E-6	2.35	3.35	1.43
ESW E-7	3.28	3.50	1.07

Berdasarkan hasil pengukuran indeks aktivitas xilanase tersebut juga didapatkan 5 isolat kapang yang mempunyai aktivitas xilanolitik lebih baik daripada isolat yang lain. Isolat-isolat tersebut adalah ESW-A1, ESW A-5, ESW C16, ESW-D4 dan ESW-D15 dengan indeks aktivitas xilanase masing-masing 3.20 ; 3.15; 3.26; 3.0 dan 3.21. Selanjutnya dilakukan seleksi secara kuantitatif terhadap kelima isolat tersebut.

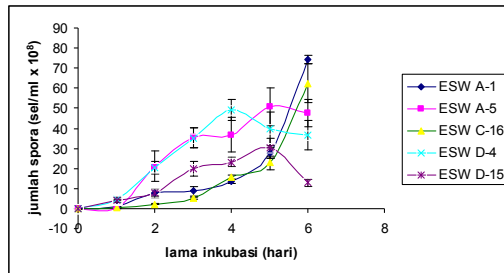


Gambar 1. Aktivitas xilanolitik kapang pada media *Oat Spelt Xylan* agar yang diuji dengan *Congo Red*

Seleksi Kapang Xilanolitik secara Kuantitatif.

Seleksi secara kuantitatif diawali dengan

penghitungan kepadatan spora. Pertumbuhan kapang dapat dilihat dari germinasi kepadatan spora (Fardiaz, 1992), sehingga untuk mengetahui pola pertumbuhan kapang dapat dilakukan dengan penghitungan kepadatan spora (Suriawiria, 1999).



Gambar 2. Hubungan antara jumlah spora lima isolat terpilih (sel/ml) dengan waktu perhitungan spora (hari)

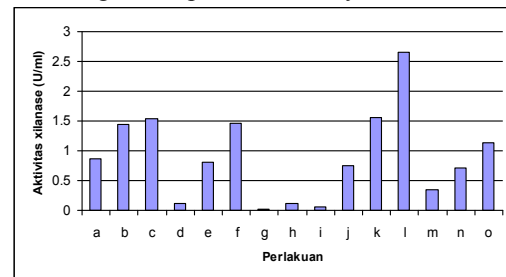
Jumlah spora yang digunakan sebagai sumber inokulum untuk produksi xilanase adalah 10^8 . Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebagai sumber inokulum, kelima isolat diambil dari pertumbuhan pada waktu inkubasi 2 hari. Hal ini dilakukan karena pada waktu inkubasi dua hari jumlah spora dari isolat-isolat EWS-A1, ESW-A2, ESW-C16, ESW-D4 dan ESW-D15 masing-masing sebesar $7.67 \times 10^8 \pm 2.3 \times 10^8$, $2.11 \times 10^9 \pm 5.08 \times 10^8$, $2.25 \times 10^8 \pm 6.60 \times 10^7$, $2.06 \times 10^9 \pm 4.88 \times 10^8$ dan $8.06 \times 10^8 \pm 3.56 \times 10^8$ sel/ml.

Produksi xilanase

Aktivitas xilanase terbaik kelima isolat pada umumnya terdapat pada media produksi jerami padi. Hal ini kemungkinan terjadi karena isolat-isolat tersebut berasal dari jerami pasca tanam padi. Jika suatu mikroba ditumbuhkan pada suatu media yang sama dengan habitat asalnya, maka mikroba tersebut tidak membutuhkan waktu lama untuk beradaptasi. Mikroba akan lebih cepat mencapai fase aktif tumbuh sehingga akan mengaktifkan sintesis xilanase. Xilanase merupakan enzim yang bersifat *inducible*, sehingga keberadaan xilan dalam medium akan menstimulasi sintesis xilanase. Xilan sebagai polimer berukuran besar dan tidak dapat melakukan penetrasi ke dinding sel tanaman. Induksi enzim distimulasi oleh fragmen molekul kecil seperti xilobiosa, xilotriosa, xilooligosakarida dari xilosa dan glukosa yang diproduksi oleh sel, dalam

jumlah kecil secara konstitutif (Walia *et al.* 2017). Xilanase digunakan oleh mikroba untuk merombak xilan menjadi gula yang lebih sederhana sehingga dapat digunakan untuk pertumbuhan.

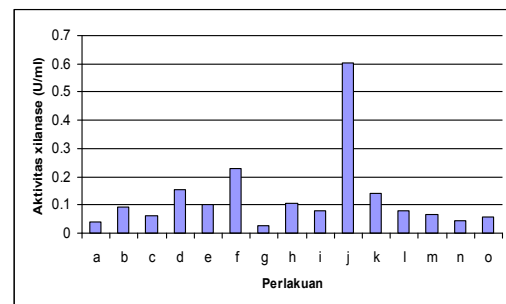
Hasil uji aktivitas xilanase (Gambar 3) menunjukkan bahwa isolat ESW-D4 mempunyai nilai aktivitas xilanase tertinggi (2.66 U/ml) pada media jerami padi dengan konsentrasi 3% (D4J3), yang lebih baik dibandingkan empat isolat lainnya.



Gambar 3. Aktivitas xilanase lima isolat terpilih yang diproduksi pada media jerami padi

Keterangan : (a) A1J1; (b) A1J2; (c) A1J3; (d) A5J1; (e) A5J2; (f) A5J3; (g) C16J1; (h) C16J2; (i) C16J3; (j) D4J1; (k) D4J2; (l) D4J3; (m) D15J1; (n) D15J2; (o) D15J3

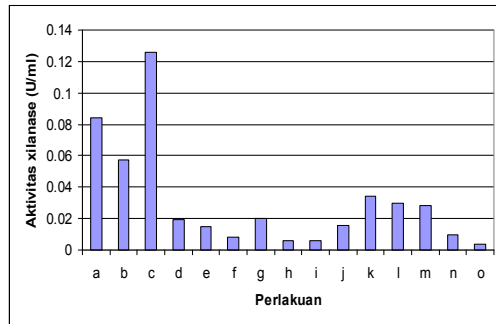
Hasil uji aktivitas xilanase yang diproduksi pada media dedak gandum (Gambar 4) juga menunjukkan bahwa isolat ESW-D4 mempunyai nilai aktivitas xilanase tertinggi (0.61 U/ml) yaitu pada konsentrasi 1% (D4P1) yang lebih baik daripada empat isolat lainnya.



Gambar 4. Aktivitas xilanase lima isolat terpilih yang diproduksi pada media dedak gandum

Keterangan : (a) A1P1; (b) A1P2; (c) A1P3; (d) A5P1; (e) A5P2; (f) A5P3; (g) C16P1; (h) C16P2; (i) C16P3; (j) D4P1; (k) D4P2; (l) D4P3; (m) D15P1; (n) D15P2; (o) D15P3

Hasil uji aktivitas xilanase yang diproduksi pada media ampas tebu (Gambar 5) menunjukkan bahwa isolat isolat ESW-A1 mempunyai nilai aktivitas xilanase tertinggi (0.126 U/ml) yaitu pada konsentrasi 3% (A1T3). yang lebih baik daripada empat isolat lainnya.



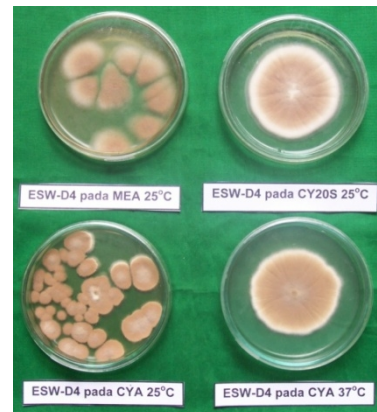
Gambar 5. Aktivitas xilanase lima isolat terpilih yang diproduksi pada media ampas tebu

Keterangan : (a) A1P1; (b) A1P2; (c) A1P3; (d) A5P1; (e) A5P2; (f) A5P3; (g) C16P1; (h) C16P2;(i) C16P3;(j) D4P1;(k) D4P2; (l)D4P3;(m)D15P1;(n) D15P2; (o) D15P3

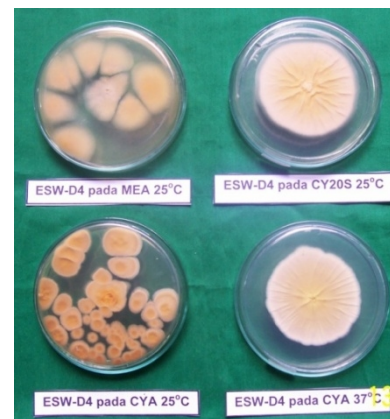
Hasil analisis terhadap produksi xilanase pada media jerami padi, dedak gandum dan ampas tebu menunjukkan bahwa isolat kapang yang dapat memproduksi xilanase dengan aktivitas lebih tinggi adalah ESW-D4, yaitu sebesar 2.66 U/ml. Media yang paling baik untuk produksi xilanase bagi isolat ESW-D4 adalah jerami padi dengan konsentrasi 3%.

Identifikasi Kapang Selulolitik

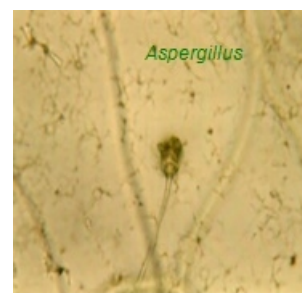
Hasil identifikasi primer isolat ESW-A1, ESW-A5, ESW-D4 dan ESW-D15 merupakan genus *Aspergillus*, sedangkan isolat ESW-C16 merupakan *Basidiomycetes*. Selanjutnya berdasarkan kunci Identifikasi genus *Aspergillus* (Klich dan Pitt, 1988), hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis (Tabel 2) menunjukkan bahwa ESW-D4 merupakan *Aspergillus foetidus*.



Gambar 6. Morfologi permukaan atas isolat ESW-D4 pada media MEA, CY20S dan CYA



Gambar 7. Morfologi permukaan bawah isolat ESW-D4 pada media MEA, CY20S dan CYA



Gambar 8. Slide Culture isolat ESW-D4

Tabel 2. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat ESW-D4

No	Media	Makroskopis					Mikroskopis				
		Diameter (mm)	Warna Konidia	Solubilitas	Reveksi	Miselium	Karakter	Bentuk	Panjang (μm)	Lebar (μm)	Warna
1	CY A 25°C	38 – 41	Cokelat	Kuning-kehijauan	Krem	Putih	Stipe	-	> 200	6.25 - 7,5	Tidak berwana
							Vesikel	Sferikal	15	-	-
							Metulae	-	5	2,5	-
							Phialide	-	7.5	2,5	-
2	CY A 37°C	58 – 71	Cokelat	-	Krem	Putih	Stipe	-	> 200	6.25 - 7,5	-
							Vesikel	Sferikal	15	-	-
							Metulae	-	5	2,5	-
							Phialide	-	7.5	2,5	-
3	ME A 25°C	35 – 36	Cokelat	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Putih	Stipe	-	> 200	6.25 - 7,5	-
							Vesikel	Sferikal	15	-	-
							Metulae	-	5	2,5	-
							Phialide	-	7.5	2,5	-
4	CY 20S 25°C	64 – 68	Cokelat	-	-	Putih	Stipe	-	> 200	6.25 - 7,5	-
							Vesikel	Sferikal	15	-	-
							Metulae	-	5	2,5	-
							Phialide	-	7.5	2,5	-
							Konidia	Bulat	2.5	2,5	Kehijauan

Keterangan Aspergilla: Radiate dan Biseriate

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil seleksi secara semi kuantitatif terhadap 66 isolat kapang yang berhasil diisolasi dari jerami pasca tanam padi sawah pantai Watu Ulo Jember, terdapat 62 isolat kapang yang bersifat xilanolitik, dimana 5 isolat kapang mempunyai indeks aktivitas xilanase terbaik, yaitu isolat ESW-A1, ESW A-

5, ESW C16, ESW-D4 dan ESW-D15 dengan indeks aktivitas xilanase masing-masing 3.20 ; 3.15; 3.26; 3.0 dan 3.21. Selanjutnya seleksi secara kuantitatif terhadap 5 isolat tersebut menunjukkan bahwa kapang isolat ESW-D4 mempunyai aktivitas xilanase lebih baik (2.66 U/ml) dibandingkan 4 isolat lainnya. Media yang paling sesuai untuk produksi xilanase isolat ESW-D4 adalah jerami padi dengan

konsentrasi 3%. Identifikasi terhadap ESW-D4 menunjukkan bahwa spesies kapang tersebut diduga adalah *Aspergillus foetidus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, C. 2000. *Feed Mix Special* (Online). <http://www.siauliote.tripod.com/art-012-07.html>. diakses pada 9 September 2004.
- Beguín, P. 1983. Detection of cellulase activity in polyacrylamide gels using congo red-stained agar replicas. *Analytical Biochemistry*. 131: 333 – 336.
- Goswami, G.K and Pathak, R.R. 2013. Microbial xylanases and their biomedical applications: a review. *Intl. Journal of Basic & Clinical Pharm.* 2: 237-246.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama
- Klich, M.A. and Pitt J.I. 1988. *A Laboratory Guide To Common Aspergillus Species And Their Telemorphs*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. North Ryde, New South Wales.
- Mandel, M. Adreotti R., and Roche C. 1976. Measurement of saccharifying cellulase. *Biotechnol Bioeng. Symp.* 6:21-33.
- McCleary, B.V and McGeough P. 2015. A comparison of polysaccharide substrates and reducing sugar methods for the measurements of *endo*-1,4- β -xylanase. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2015:1-12.
- Motta F.L, Andrade, C.C.P and Santana H.A. 2013. A Review of xylanase production by the fermentation of xylan: classification, characterization and applications. <http://dx.doi.org.10.5772/53544>
- Perez, J., Munoz-Dorado J., De La Rubia T., and Martinez J. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicelullose and lignin. *Int. Microbiol.* 5:53-63.
- Rini, D.S. 2002. Minimasi limbah dalam industri pulp and paper. Lembaga Kajian Ekologi dan Konservasi lahan Basah
- Samson, R.A dan Hoekstra E.S. 1995. *Introduction to Food-Borne Fungi*. Ponsen and Looyen. Wageningen, Netherlands.
- Theather, R.M. and Wood P.J. 1981. Use congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* 43:777-780.
- Viikari, L., Kantelinen A., Sundquist J. and Linko M. Xylanase in bleaching: from an idea to the industry. *FEMS Microbiol. Rev.* 13:335-350.
- Walia, A., Guleria, S.,Metha P., Chauhan A. and Parkash J. 2017. Microbial xylanases and their industrial application in pulp and paper biobleaching: a review. *Biotech.* 7: 1-12.

