

EKSTRAKSI XILAN DARI TONGKOL JAGUNG UNTUK MEDIUM PERTUMBUHAN *Bacillus pumilus* RXAIII-5 PENGHASIL-XILANASE

Nur Richana¹, Tun Tedja Irawadi, M Anwar Nur²,
Illah Sailah, Khaswar Syamsu³, Yandra Arkenan

¹ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen, Bogor

² Departemen Kimia, FMIPA, IPB, ³ Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fateta, IPB

ABSTRAK

Tongkol jagung merupakan limbah jagung terbesar (45%) yang mengandung sekitar 12% xilan dan belum banyak dimanfaatkan. Penelitian ini bertujuan meningkatkan nilai guna tongkol jagung dengan mengekstraksi xilan dan memanfaatkannya sebagai medium pertumbuhan *Bacillus pumilus* RXAIII-5 penghasil-xilanase. Ekstraksi dilakukan dalam dua tahap, yaitu delignifikasi menggunakan NaOCl (0.5, 1.0, 2.5, 5, dan 7.5%) dan pengendapan dengan nisbah supernatan-etanol 1:1, 1:2, 1:3, dan 1:4. Kelarutan xilan diuji pada pelarut organik, asam, basa, serta dalam air panas dan dingin. Analisis kualitatif dan kuantitatif xilan juga dilakukan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC). Xilan kemudian digunakan untuk formulasi medium pertumbuhan *B. pumilus* RXAIII-5, dikombinasikan dengan pepton, ekstrak khamir, dan K₂HPO₄. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen tertinggi (12.95%), yang berdasarkan analisis HPLC mengandung xilan sebesar 63 mg/g, dihasilkan dengan perlakuan NaOCl 0.5% dan nisbah supernatan-etanol 1:3 (v/v). Kelarutan xilan tertinggi ialah dalam pelarut basa (NaOH 1%). Namun, xilan juga larut dalam air panas dan dingin. Berdasarkan hasil tersebut, xilan diharapkan dapat digunakan sebagai medium cair untuk pertumbuhan bakteri alkalofilik. Berdasarkan aktivitas xilanasenya, formulasi medium terpilih ialah campuran pepton 0.125%, ekstrak khamir 0.05%, xilan tongkol jagung 3.04%, dan K₂HPO₄ 0.08%.

Kata kunci: xilan, tongkol jagung, xilanase, *Bacillus pumilus*.

ABSTRACT

Corn cob is the biggest part of corn waste (45%) containing about 12% of xylan which has not been much utilized. This research objective is to increase the added value of corn cob by extracting xylan and using it as growth media for xylanase-producer *Bacillus pumilus* RXAIII-5. The extraction was carried out in two steps: first, delignification using NaOCl (0.5, 1.0, 2.5, 5, and 7.5%) and then precipitation with the ratio of supernatant and ethanol 1:1, 1:2, 1:3, and 1:4. The solubility of xylan in organic, acid, and alkaline solvents, and in cold and hot water were observed as well. Quantitative and qualitative analysis of xylan were also carried out using high performance liquid chromatography (HPLC). The xylan was then used in media formulation for *B. pumilis* RXAIII-5, combined with pepton, yeast extract, and K₂HPO₄. The research results showed that the highest yield (12.95%), containing 63 mg/g of xylan based on HPLC analysis, was produced by 0.5% NaOCl and 1:3 supernatant-ethanol ratio treatment. The highest solubility of xylan was in alkaline solvent (1% NaOH). However, xylan was also soluble in cold and hot water. Based on these results, xylan is expected to be used as liquid media for alkalophilic bacteria growth. Based on xylanase activities, selected medium formulation was a mixture of 0.125% pepton, 0.05% yeast extract, 3.04 xylan of corn cob, and 0.08% KH₂PO₄.

Keywords: xylan, corn cob, xylanase, *Bacillus pumilus*.

PENDAHULUAN

Dalam satu dekade terakhir ini, produksi jagung mengalami peningkatan yang cukup besar meskipun agak berfluktuasi. Pada tahun 1989–1993 produksi mencapai 6.7 juta ton/tahun dengan produktivitas 2.2 ton/ha (Subandi & Hermanto 1998). Pada tahun 2003 mencapai 9.66 juta ton/tahun, atau meningkat sebesar 1.42% dibandingkan dengan tahun 2002 yang sebesar 9.53 juta ton/tahun. Di tahun 2004, produksi jagung diperkirakan telah mencapai 11.75 juta ton/tahun dengan produktivitas 3.8 ton/ha (Deptan 2003).

Selain sebagai bahan pangan, jagung juga banyak digunakan untuk pakan dan bahan industri. Sampai saat ini kebutuhan dan permintaan jagung terus meningkat. Peningkatan produksi dan kebutuhan jagung berarti pula peningkatan limbah baik berupa jerami maupun tongkol jagung. Saat ini, penggunaan jerami jagung semakin populer untuk pakan ternak, sementara tongkol jagung belum dimanfaatkan. Padahal, tongkol jagung merupakan bagian terbesar dari limbah jagung, yaitu sekitar 50–60% dari jagung bertongkol, bergantung pada varietasnya. Oleh karena itu, dapat diperkirakan jika produksi jagung 11.75 juta ton, akan dihasilkan limbah tongkol jagung sekitar 12 juta ton/tahun. Berdasarkan hal tersebut, diperlukan perhatian dan penanganan untuk pemanfaatan limbah tongkol jagung agar lebih bernilai guna dan ekonomis. Tongkol jagung merupakan bahan berlignoselulosa (kadar serat 38.99%) yang mengandung xilan tertinggi (12.4%) di antara limbah pertanian lainnya (Richana *et al.* 2004). Ekstrak xilan dari tongkol jagung dapat dimanfaatkan di antaranya sebagai sumber karbon dalam medium kultivasi bakteri penghasil xilanase.

Xilanase merupakan kelompok enzim ekstraselular yang memiliki kemampuan menghidrolisis hemiselulosa (xilan) menjadi xilosa dan xilo-oligosakarida. Berdasarkan substrat yang dipecahnya, enzim xilanase digolongkan menjadi 3 kelompok, yaitu β -xilosidase, eksoxilanase, dan endoxilanase.

Beberapa mikroorganisme diketahui mampu menghasilkan xilanase secara ekstraselular. Beberapa penelitian yang telah dilaporkan antara lain xilanase dari bakteri (Gilbert & Hazlewood 1993; Sunna & Antranikan 1997), kapang (Sunna & Antranikan 1997), *Actinomycetes* (Ball & McCarthy 1989; Beg *et al.* 2000), dan khamir (Hrmova *et al.* 1984; Liu *et al.* 1999). Xilanase dari bakteri alkalofilik diharapkan dapat digunakan sebagai pemutih kertas (Arribas *et al.* 1995).

Produksi xilanase oleh mikroorganisme menggunakan substrat xilan. Xilan merupakan polimer yang kompleks dengan xilosa sebagai komponen utama. Pada umumnya substrat yang digunakan sebagai medium pertumbuhan mikroorganisme penghasil-xilanase adalah xilan komersial dari Sigma yang harganya mahal sehingga tidak ekonomis bila digunakan dalam skala pabrik. Untuk mengantisipasi masalah tersebut, perlu dicari bahan baku terbarukan (*renewable raw material*) dari bahan berlignoselulosa limbah pertanian lokal, salah satunya adalah tongkol jagung. Karena itu, penelitian ini bertujuan mengekstraksi xilan dari tongkol jagung dan memanfaatkannya sebagai medium pertumbuhan *Bacillus pumilus* RXAIII-5 penghasil-xilanase sehingga akan meningkatkan nilai guna limbah jagung.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioproses, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen dan Laboratorium Rekayasa Bioproses, PAU-Bioteknologi, IPB. Lingkup penelitian meliputi ekstraksi dan pencirian xilan dari tongkol jagung, dan optimalisasi medium pertumbuhan *B. pumilus* RXAIII-5 penghasil-xilanase menggunakan xilan tersebut.

Ekstraksi Xilan dari Tongkol Jagung

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap. Tahap awal adalah analisis proksimat bahan baku yang meliputi kadar air, abu, dan serat (AOAC 1984). Tahap selanjutnya adalah ekstraksi xilan dengan memodifikasi metode dari Yoshida *et al.* (1994). Konsentrasi NaOCl pada proses delignifikasi dan nisbah supernatan terhadap etanol (v/v) yang tepat untuk ekstraksi xilan ditentukan, lalu ekstrak xilan yang diperoleh diuji kelarutannya serta dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif dengan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC).

Tongkol jagung kering digiling sampai lolos saringan 40 mesh. Contoh sebanyak 50 g dimasukkan ke dalam wadah plastik kemudian direndam dalam larutan NaOCl dengan konsentrasi 0.5, 1, 2.5, 5, dan 7.5% selama 5 jam pada suhu 28 °C (proses delignifikasi). Setelah 5 jam, contoh dibilas dengan air dan disaring. Selanjutnya padatan direndam kembali dalam larutan NaOH 10% selama 24 jam pada suhu 28 °C. Perendaman ini bertujuan mengekstraksi xilan. Setelah 24 jam, suspensi disaring. Filtrat yang dihasilkan diukur pH-nya, lalu dinetralkan dengan HCl 6 N. Setelah itu, disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan yang dihasilkan mengandung xilan.

Xilan yang larut dalam air dapat dipisahkan dengan menambahkan etanol 95%. Etanol ditambahkan pada supernatan dengan nisbah supernatan-etanol 1:1, 1:2, 1:3, dan 1:4 untuk mengetahui pada nisbah berapa xilan dihasilkan secara optimum.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap faktorial 5×4 dengan dua kali ulangan. Parameter yang diamati adalah rendemen xilan. Diagram alir penelitian diberikan pada Gambar 1.

Kelarutan xilan diuji dengan melarutkannya dalam NaOH 1%, HCl 1 N, etanol, air panas, dan air dingin. Analisis kualitatif dan kuantitatif xilan dilakukan menggunakan HPLC dengan mengukur waktu retensi. Alat yang digunakan adalah HPLC Shimadzu C-R3A, dengan jenis kolom LC-18, fase gerak air, fase diam supelcosil LC 18, dan detektor indeks bias, dengan laju alir 0.8 ml/menit.

Formulasi Medium

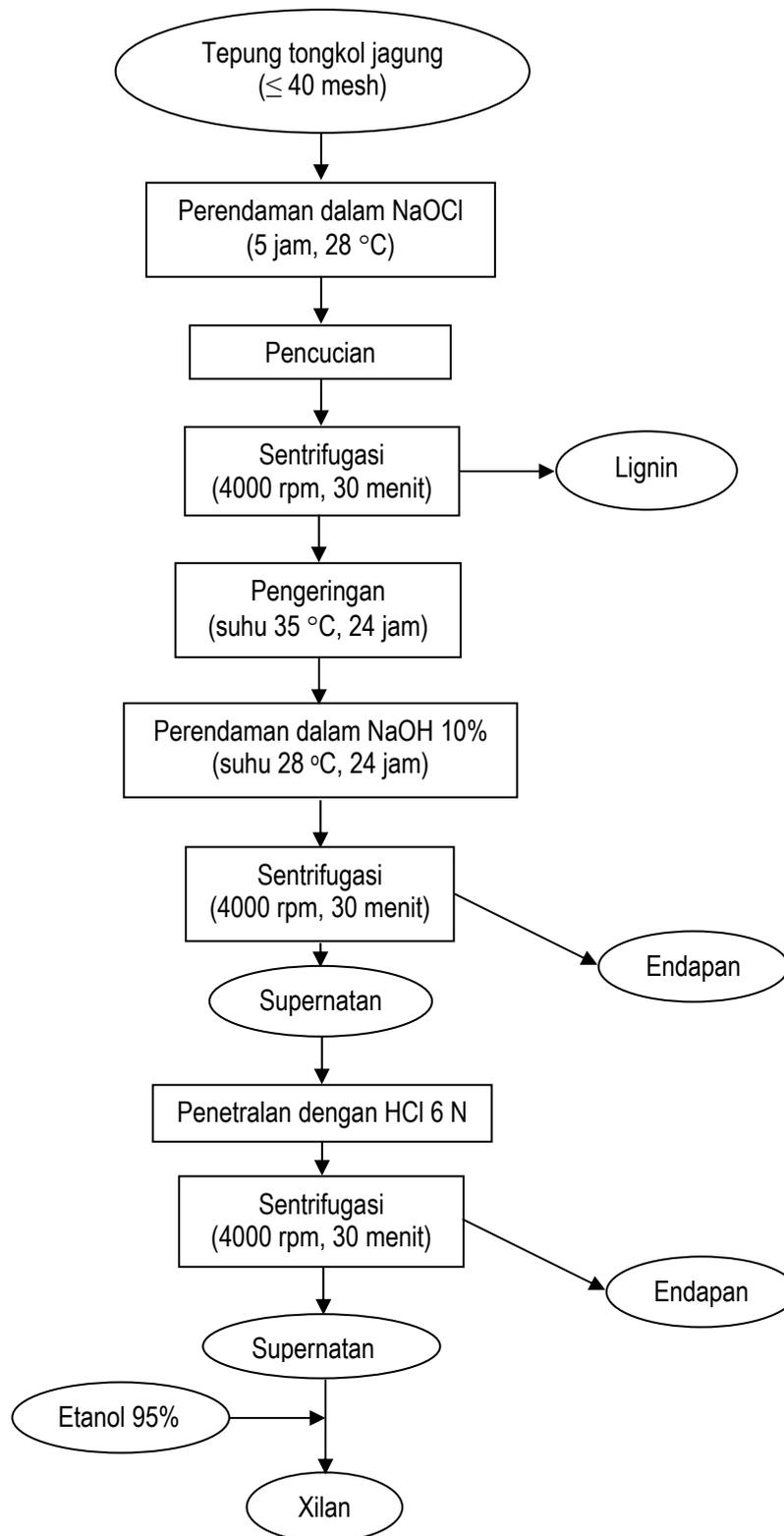
Formulasi medium untuk pertumbuhan *B. pumilus* RXAIII-5 memanfaatkan ekstrak xilan dari tongkol jagung sebagai sumber karbon. Di samping itu juga dikaji pengaruh pepton dan ekstrak khamir sebagai sumber nitrogen, dan K_2HPO_4 sebagai sumber mineral. Kultivasi dilakukan di dalam labu Erlenmeyer 100 ml menggunakan konsentrasi inokulan 10%. Contoh dipanen sesudah 3 hari inkubasi, kemudian diukur biomasanya sebagai rapat optik pada panjang gelombang 660 nm, protein terlarutnya diukur dengan metode Bradford (1976), dan aktivitas enzim xilanasenya diukur menurut metode Winterhalter & Liebl (1995).

Formulasi medium dilakukan dengan rancangan komposit pusat faktorial penuh 2^4 . Empat peubah yang dioptimalisasi ialah polipepton (X1), ekstrak khamir (X2), xilan (X3), dan mineral (X4).

$$Y_1 = b_0 + b_1 X_{1i} + b_2 X_{2i} + b_3 X_{3i} + b_4 X_{4i} + b_{11} X_{1i}^2 + b_{22} X_{2i}^2 + b_{33} X_{3i}^2 + b_{44} X_{4i}^2 + b_{12} X_{1i} X_{2i} + b_{13} X_{1i} X_{3i} + b_{14} X_{1i} X_{4i} + b_{23} X_{2i} X_{3i} + b_{24} X_{2i} X_{4i} + b_{34} X_{3i} X_{4i} + r_i$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum melakukan ekstraksi xilan, bahan baku dicirikan kadar air, abu, dan seratnya. Kadar air tongkol jagung 6.43%, kadar abu 1.86%, dan kadar serat 25.43%. Kadar abu tersebut lebih besar dibandingkan dengan data yang disampaikan Koswara (1991), yaitu 1.33%. Namun, seratnya lebih banyak dibandingkan dengan penelitian Maynard (1993), yaitu 35.5%. Perbedaan ini diduga karena adanya perbedaan varietas dan umur panen jagung.

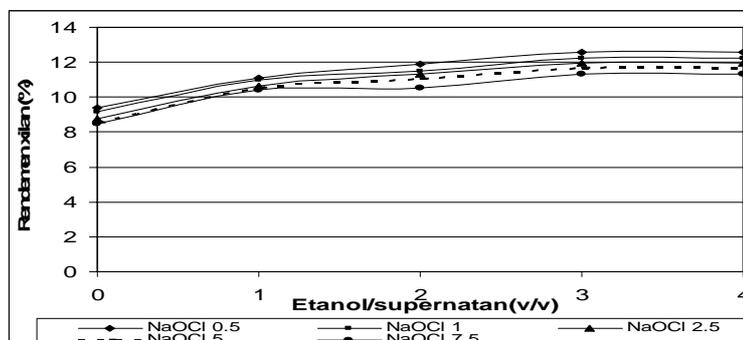


Gambar 1 Diagram alir ekstraksi xilan dari tongkol jagung (Yoshida *et al.* [1994] dimodifikasi pada penambahan konsentrasi NaOCl dan etanol).

Rendemen dan Neraca Massa

Ekstraksi xilan menghasilkan rendemen antara 7.64 dan 12.94% (g xilan/g tongkol jagung) dengan rerata 10.95%. Rendemen terendah dihasilkan dengan menggunakan etanol pada nisbah 1:1

(v/v) dan proses delignifikasi menggunakan NaOCl 7.5%, sedangkan rendemen tertinggi diperoleh pada ekstraksi dengan etanol pada nisbah 1:3 (v/v) dengan menggunakan NaOCl 0.5% untuk delignifikasi (Gambar 2). Konsentrasi NaOCl yang tinggi (7.5%) dapat membuat hemiselulosa hilang atau larut dalam proses delignifikasi. Sebaliknya, pada konsentrasi yang rendah (0.5%) hanya sebagian hemiselulosa yang larut.



Gambar 2 Grafik hubungan antara rendemen dan nisbah etanol-supernatan pada ekstraksi xilan dari tongkol jagung dengan berbagai konsentrasi NaOCl dalam delignifikasi.

Kelarutan Xilan

Tabel 1 menunjukkan bahwa xilan larut sempurna dalam basa (NaOH 1%) dan air panas, tetapi hanya sedikit larut pada air dingin dan tidak larut dalam asam (HCl 1 N). Menurut Austin (1984), kelarutan suatu polimer (termasuk karbohidrat) akan berkurang dengan bertambahnya bobot molekul. Xilan sukar larut dalam air dingin, tetapi larut dalam air yang dipanaskan pada suhu 100 °C (Vandamme & Derycke 1983). Demikian pula dalam penelitian ini, xilan hanya sedikit larut dalam air dingin. Berdasarkan hasil tersebut, xilan tongkol jagung dapat dimanfaatkan dalam medium cair untuk bakteri alkalofilik, karena bersifat larut dalam basa, serta dalam air panas maupun dingin.

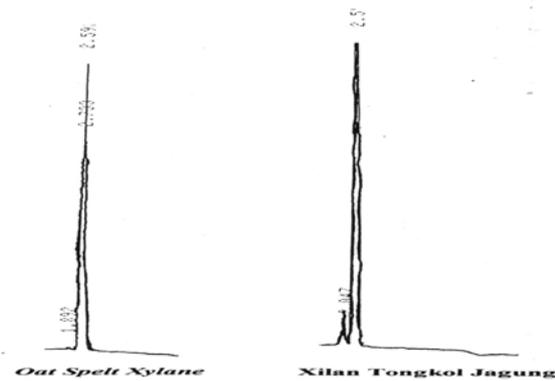
Tabel 1 Kelarutan xilan dalam beberapa pelarut

Pelarut	Kelarutan
NaOH 1%	+++ (sangat larut)
Air panas	++ (larut)
Air dingin	+ (sedikit larut)
HCl 1 N	- (tidak larut)

Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Xilan

Setelah diperoleh, ekstrak xilan dianalisis dengan HPLC untuk menentukan mutu dan kemurniannya. Kromatogram menunjukkan bahwa waktu retensi contoh tidak berbeda jauh dengan waktu retensi standar xilan *oat spelt* (Sigma), yaitu berturut-turut 2.57 dan 2.592 menit (Gambar 3). Dengan demikian, ekstrak yang diperoleh merupakan xilan.

Tongkol jagung mempunyai satu puncak yang sangat tinggi dan satu puncak kecil. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak xilan dari tongkol jagung hampir murni. Dengan menambahkan kromatogram standar xilan pada kromatogram ekstrak xilan dari tongkol jagung, diperoleh kemurnian xilan sebesar 97.47%.



Gambar 3 Kromatogram ekstrak xilan dari tongkol jagung dan xilan *oat spelt* sebagai standar.

Formulasi Medium Pertumbuhan *B. Pumilus* RXA III-5 Bersubstrat Xilan dari Tongkol Jagung

Optimalisasi medium kultivasi *B. pumilus* RXA III-5 dilakukan untuk menentukan kadar xilan dari tongkol jagung, serta konsentrasi pepton dan ekstrak khamir sebagai sumber N. Biomassa tertinggi berdasarkan hasil analisis statistik diperoleh pada komposisi medium dengan polipepton sebesar 0.32%, ekstrak khamir 0.25%, xilan 3.17%, dan K_2HPO_4 0.13%, dengan bobot kering 2.8154 g/l. Tingginya nilai biomassa menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada medium tersebut, tetapi tidak menjamin tingginya produk metabolit sekunder. Hal tersebut terjadi pada penelitian Fontes *et al.* (2000) pada pertumbuhan mikrob *Cellvibrio mixtus* penghasil-xilanase yang menggunakan glukosa dan xilan sebagai sumber karbon. Kedua sumber karbon tersebut menghasilkan biomassa yang tinggi, dan pada medium glukosa pertumbuhan sel lebih cepat (36 jam) dibandingkan dengan xilan (84 jam). Akan tetapi, dalam medium glukosa aktivitas xilanase tidak terdeteksi. Hal tersebut terjadi karena pada medium xilan, mikrob akan berupaya membentuk xilanase untuk menghidrolisis xilan menjadi xilosa, yang kemudian digunakan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Sementara pada medium glukosa hal tersebut tidak terjadi; mikrob langsung menggunakan glukosa sebagai sumber karbon.

Aktivitas xilanase tertinggi (70.22 U/ml) dicapai pada komposisi polipepton 0.125 g/l, ekstrak khamir 0.059 g/l, xilan 3.048 g/l, dan K_2HPO_4 0.089 g/l. Aktivitas spesifik maksimum dicapai saat protein 263.007 U/mg, dengan formulasi medium 3.013% xilan, 0.164% polipepton, 0.172% ekstrak khamir, dan 0.141% K_2HPO_4 (Tabel 2). Formulasi inilah yang kemudian dipilih, karena optimalisasi produksi enzim xilanase ialah yang diutamakan di dalam penelitian ini.

Tabel 2 Formulasi medium berdasarkan hasil pengamatan protein, aktivitas xilanase, dan aktivitas spesifik

Pengamatan	Hasil maksimum	Formulasi medium (%)			
		Xilan	Polipepton	Ekstrak khamir	K_2HPO_4
Biomassa	2.82 g/l	3.17	0.32	0.25	0.13
Protein	0.51 g/l	3.04	0.16	0.21	0.02
Aktivitas xilanase	70.22 U/ml	3.048	0.125	0.059	0.089
Aktivitas spesifik	263.007 U/mg	3.013	0.164	0.172	0.141

Hasil penelitian ini selaras dengan hasil penelitian Yang *et al.* (1995), yaitu aktivitas spesifik xilanase dipengaruhi oleh sumber karbon. Sumber karbon dari xilan *birchwood* menghasilkan aktivitas spesifik xilanase yang lebih tinggi daripada xilan *oat spelt*. Demikian juga medium yang menggunakan

bekatul gandum mempunyai aktivitas spesifik xilanase lebih tinggi daripada medium tepung batang jagung.

Sumber karbon di samping berpengaruh terhadap aktivitas xilanase juga berpengaruh terhadap aktivitas gen penghasil xilanasenya. Penelitian Prabhu *et al.* (1999) terhadap *Melanocarpus albomyces* menggunakan medium ampas tebu, xilosa, dan glukosa. Untuk xilosa dan glukosa aktivitas xilanase tidak terdeteksi sedangkan dengan ampas tebu terdeteksi 2 gen penghasil xilanase, yaitu gen *xyl IA* dan gen *xyl IIIA*. Demikian juga hasil penelitian Tonukari *et al.* (2002), yang menyatakan bahwa jenis sumber karbon dalam medium dipengaruhi oleh jenis gen mikrobnnya. Tonukari telah mencoba menggunakan medium pertumbuhan yang mengandung glukosa, sukrosa, xilosa, xilan, pektin, dan selulosa pada *Cochliobolus carbanum* penghasil endo-1,4- β -xilanase. Hasilnya, *C. carbanum* yang mengandung gen *xyl1* dan gen *xyl2* dapat tumbuh pada medium xilan dan selulosa, sedangkan *C. carbanum* yang mengandung gen *xyl3* dan *xyl4* tumbuh pada xilosa dan xilan, dan *C. carbanum* yang mengandung gen *xyp* dapat tumbuh pada medium xilosa, xilan, pektin, dan selulosa. Akan tetapi, tak satupun *C. carbanum* yang mengandung gen-gen tersebut dapat tumbuh pada medium glukosa dan sukrosa.

SIMPULAN

Konsentrasi NaOCl yang digunakan pada proses delignifikasi serta nisbah supernatan dan etanol pada ekstraksi xilan berpengaruh terhadap peningkatan rendemen xilan. Kombinasi perlakuan konsentrasi NaOCl 0.5% dan nisbah supernatan-etanol 1:3 (v/v) menghasilkan rendemen xilan tertinggi (12.95%). Analisis HPLC membuktikan bahwa xilan yang dihasilkan murni. Kelarutan xilan dipengaruhi oleh jenis pelarut. Dari empat jenis pelarut yang dicobakan, xilan sangat larut dalam basa (NaOH 1%), dan larut dalam air panas dan dingin. Berdasarkan hasil tersebut, xilan diharapkan dapat dimanfaatkan dalam medium cair untuk pertumbuhan bakteri alkalofilik penghasil xilanase murni. Komposisi medium terpilih untuk pertumbuhan *B. pumilus* RXAIII-5 berdasarkan aktivitas xilanasenya ialah pepton 0.164%, ekstrak khamir 0.172%, xilan tongkol jagung 3.013%, dan K₂HPO₄ 0.141%.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists*. Volume IIA. Washington: AOAC Int.
- Arribas RA, Abalos JMF, Sanches P, Gardu AL, Santamaria RI. 1995. Over production, purification and biochemical characterization of xylanase I (xys 1) from *Streptomyces halstedii*. JM8. *Appl Environ Microbiol* 6:2414-2419.
- Austin HY. 1984. Di dalam: Morison, editor. *Starch Chemistry and Technology*. Ed. ke-2. London: Academic Pr.
- Ball AS, McCarthy AJ. 1989. Production and properties of xylanases from *Actinomycetes*. *J Appl Bacteriol* 66:439-444.
- Beg QK, Kapoor M, Mahajan L, Hoondal GS. 2001. Microbial xylanases and their industrial applications: A review. *J Appl Microbiol Biotechnol* 56:326-338.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive methods for quantitative proteins utilizing the principles of protein dye binding. *Anal Biochem* 72:248-354.
- [Deptan] Departemen Pertanian. 2003. *Rencana Pembangunan Pertanian Tahun 2004*. Jakarta: Deptan.
- Fontes CM *et al.* 2000. A novel *Cellvibrio mixtus* family 10 xylanase that is both intracellular and expressed under non-inducing conditions. *J Microbiol* 145:1959-1967.
- Gilbert HJ, Hazlewood GP. 1993. Bacterial cellulase and xylanases. *J Gen Microbiol* 139:187-194.

- Hrmova M, Biely P, Vrsanska M, Petrakova E. 1984. Induction of cellulose and xylanase-degrading enzyme complex in the yeast *Trichosporon cutaneum*. *Arch Microbiol* 138:371-376
- Koswara J. 1991. *Budi Daya Jagung*. Bogor: Jurusan Budi Daya Pertanian, IPB.
- Liu W, Lu Y, Ma G. 1999. Induction and glucose repression of endo- β -xylanase in the yeast *Trichosporon cutaneum* SL409. *Process Biochem* 34:67-72.
- Maynard LA, Loosli JK. 1993. *Animal Nutrition*. Ed ke-7. New Delhi: Hill Publ.
- Prabhu KA, Ramesh M. 1999. Biochemical properties of xylanases from a thermophilic fungus, *Melanocarpus albomyces*, and their action on plant cell walls. *J Biosci* 24:461-470.
- Richana N, Lestina P, Irawadi TT. 2004. Karakterisasi lignoselulosa: Xilan dari limbah tanaman pangan dan pemanfaatannya untuk pertumbuhan bakteri RXA III-5 penghasil-xilanase. *J Penelitian Pertanian* 23:171-176.
- Subandi IGI, Hermanto. 1998. *Jagung: Teknologi Produksi dan Pascapanen*. Bogor: Badan Litbang Pertanian.
- Sunna A, Antranikan G. 1997. Xylanolytic enzyme from fungi and bacteria. *Crit Rev in Biotechnol* 17:39-67.
- Tonukari NJ, Craig JSS, Walt JD. 2002. Influence of carbon source on the expression of *Cochliobolus carbonum* xylan-degrading enzyme genes. *African J Biotechnol* 1:64-66.
- Vandamme EJ, Derycke DG. 1983. Microbial inulinases process, properties, and application. *Adv Appl Microbiol* 29:139-176.
- Winterhalter C, Liebl W. 1995. Two extremely thermostable xylanase of the hyperthermophilic bacterium *Thermotoga maritima* MSBB. *Appl Environ Microbiol* 61:1810-1815.
- Yang VW, Zhuang Z, Elegir G, Jeffries TW. 1995. Alkaline-active xylanase produced by an alkaliphilic *Bacillus* sp (VI-4), isolated from kraft pulp. *J Industrial Microbiol* 15:434-441.
- Yoshida S *et al.* 1994. Substrate specificity of *Streptomyces* β -xylanase toward glucoxytan. *Biosci Biotechnol Biochem* 58:1041-1044.