

Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* pada Ampas Sagu

Nora Idiawati^{1*}, Elliska Murni Harfinda, Lucy Arianie

Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jln. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak 78124

Diterima 1-04-2014 Disetujui 22-10-2014

ABSTRACT

Production of cellulase by *Aspergillus niger* was carried out by growing the culture on sago waste. Sago waste contains cellulose that has not been used optimally. Cellulose is a polysaccharide consisting of glucose monomers linked by β -1,4-glycosides bonds. Glycoside bonds in cellulose can be enzymatically hydrolyzed into glucose with cellulase enzymes. Solid fermentation used to produce cellulase on sago waste as substrate was influenced by pH (3 to 6), moisture content (40% to 85%), and fermentation time (4 to 10 days). Products of the cellulase enzyme activity was measured by phenol-sulfuric acid method. The results showed that the highest cellulase enzyme activity was 0.172 U/mL obtained at 85% moisture content, pH 5, and 8 days of fermentation time.

Keywords: *Aspergillus niger*, cellulase, sago waste

ABSTRAK

Produksi enzim selulase oleh *Aspergillus niger* pada ampas sagu telah dilakukan. Ampas sagu adalah salah satu bahan yang mengandung selulosa di mana ampas sagu belum dimanfaatkan secara optimal. Selulosa merupakan polisakarida yang terdiri atas monomer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4-glikosida. Ikatan glikosida pada selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa secara enzimatik dengan enzim selulase. Fermentasi padat digunakan untuk menghasilkan enzim selulase pada substrat ampas sagu yang dipengaruhi oleh faktor pH (3 sampai 6), kadar air (40% sampai 85%) dan waktu fermentasi (4 sampai 10 hari). Produk aktivitas enzim selulase diukur dengan metode fenol-asam sulfat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase tertinggi adalah 0,172 U/mL yang diperoleh pada kadar air 85%, pH 5, dan waktu fermentasi 8 hari.

Kata Kunci: Ampas sagu, *Aspergillus niger*, Selulase

PENDAHULUAN

Enzim selulase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis ikatan β (1-4) pada selulosa. Adanya selulosa dalam suatu substrat dapat menginduksi terbentuknya enzim selulase oleh mikroorganisme selulolitik. Mikroorganisme selulolitik yang dapat digunakan untuk menghasilkan enzim selulase misalnya kapang *Aspergillus niger* (Ul-haq *et al.* 2005).

Substrat yang digunakan untuk memproduksi enzim selulase adalah substrat berbahan lignoselulosa. Substrat lignoselulosa yang telah diteliti dengan kapang *A. niger* yaitu jerami padi (Sa'adah *et al.* 2008), serbuk gergaji kayu (Guruchandran & Sasikumar 2010; Acharya *et al.* 2008), ampas tebu (Guruchandran & Sasikumar 2010), tandan pisang (Retnoningtyas *et al.* 2006), jerami gandum (Jecu 2000), kulit gandum (Jecu 2000), dan ampas singkong (Pothiraj *et al.* 2006).

*Telp: +06281345177204

Email: noraidiawati_srg@yahoo.com

Ampas sagu merupakan bahan lignoselulosa yang berasal dari empelur sagu yang telah diambil patinya. Kandungan pati yang terdapat dalam empelur sagu hanya 18,5% dan sisanya 81,5% merupakan ampas sagu. Ampas sagu mengandung selulosa sebesar 20% dan lignin sebesar 21% (Kiat 2006).

Ampas sagu adalah limbah perkebunan yang saat ini belum dapat dimanfaatkan secara optimal. Pemanfaatan ampas sagu hanya sebatas pada pakan ternak saja. Kandungan selulosa yang cukup tinggi dapat dimanfaatkan untuk memproduksi enzim selulase. Saat ini, enzim selulase digunakan secara luas dalam industri makanan, tekstil, pulp dan kertas serta *biofuel* (Nakari & Pentilla 1996; Sukumaran *et al.* 2005).

Fermentasi padat dapat digunakan untuk memproduksi enzim selulase. Fermentasi media padat merupakan proses fermentasi yang berlangsung dalam substrat tidak terlarut tetapi mengandung air yang cukup sekalipun tidak mengalir bebas (Dharma 1992). Terdapat beberapa faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses fermentasi seperti kadar air, pH, dan waktu fermentasi.

Kadar air merupakan faktor penting dalam fermentasi padat. Kadar air berpengaruh pada pertumbuhan mikroorganisme, biosintesis, dan sekresi enzim (Alam *et al.* 2005). Faktor lainnya adalah pH yang merupakan salah satu faktor dalam pertumbuhan mikroorganisme. Pengaturan pH sangat penting agar mikroorganisme yang ditumbuhkan dapat menghasilkan produk yang optimal (Gandjar 2006). Selain itu, waktu fermentasi juga mempengaruhi aktivitas mikroorganisme karena mikroorganisme mengalami beberapa fase pertumbuhan (Darwis *et al.* 1995). Pengaruh dari kadar air, pH, dan waktu fermentasi untuk menghasilkan enzim selulase pada ampas sagu oleh *A. niger* belum diketahui. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk mengetahui pengaruh faktor-faktor ini terhadap aktivitas enzim selulase.

BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah agar-agar, akuades, alkohol 70%, *aluminium foil*, amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄), ampas sagu, asam klorida (HCl), asam sitrat (C₆H₈O₇·H₂O), asam sulfat (H₂SO₄), *A. niger* yang diperoleh dari IPB Bogor, fenol (C₆H₅OH),

glukosa (C₆H₁₂O₆), kalium dihidrogen fosfat (KH₂PO₄), kalsium klorida hidrat (CaCl₂·H₂O), kentang, kertas saring Whatman No. 1, magnesium sulfat heptahidrat (MgSO₄·7H₂O), natrium hidroksida (NaOH), natrium sitrat (Na₃C₆H₅O₇·2H₂O), Tween-80, urea (CO(NH₂)₂), dan *wrapping plastic*.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoclave*, *ball filler*, *centrifuge*, *hotplate*, neraca analitis, oven, peralatan gelas, pH-meter, pipet ukur, spatula, spektrofotometer UV-Vis, dan tabung reaksi.

Preparasi Sampel. Ampas sagu diperoleh dari daerah Sungai Ambawang, Kabupaten Kubu Raya. Sebelum digunakan ampas sagu diperas dan dikeringkan pada suhu 105°C selama 6 jam. Selanjutnya, ampas sagu kering dihaluskan dan diayak dengan ayakan 35 mesh.

Perbanyakan *Aspergillus niger*. Perbanyakan *A. niger* menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Kentang dikupas, dicuci bersih dan dipotong kecil. Sebanyak 40 g kentang direbus dalam 200 mL akuades sampai lunak. Kemudian dipisahkan air dan kentang. Air rebusan (115 mL) ditambah 2,3 g agar dan 2,3 g glukosa lalu direbus kembali sampai mendidih. Setelah itu, larutan disterilisasi dalam *autoclave* selama 20 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Biakan *A. niger* ditumbuhkan pada media PDA dalam cawan petri dengan menggunakan ose. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 1 minggu.

Pembuatan Larutan Nutrisi. Akuades dimasukkan ke dalam gelas beker. Kemudian ditambahkan dengan urea (3 g/L), (NH₄)₂SO₄ (10 g/L), KH₂PO₄ (3 g/L), MgSO₄·7H₂O (0,5 g/L), CaCl₂·H₂O (0,5 g/L) (Singhania *et al.* 2006) dan diaduk hingga larut. Larutan nutrisi dipindahkan ke dalam labu ukur dan ditepatkan hingga tanda batas. pH awal larutan nutrisi diukur dan diatur hingga diperoleh pH sebesar 3, 4, 5, dan 6 dengan penambahan 0,1 M NaOH atau 0,1 M HCl.

Produksi Enzim Selulase. Ampas sagu sebanyak 5 g dimasukkan ke dalam wadah fermentasi dengan menambahkan larutan nutrisi pH 3 sehingga diperoleh kadar air sebesar 40, 55, 70, dan 85%. Media disterilkan di dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit. Kemudian media didinginkan. Blok agar ukuran (1x1) cm diambil dari cawan petri yang berisi jamur berumur 7 hari digunakan

sebagai inokulum. Satu blok agar diinokulasi ke dalam tiap wadah fermentasi yang mengandung substrat (Pothiraj *et al.* 2006). Selanjutnya, diinkubasi pada suhu ruang dengan waktu fermentasi 4, 6, 8, dan 10 hari. Hal yang sama juga dilakukan pada larutan nutrisi pH 4, 5, dan 6. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak dua kali.

Ekstraksi Enzim Selulase. Ekstraksi enzim selulase dilakukan dengan menambahkan 100 mL akuades yang mengandung 0,1% Tween-80 ke dalam ampas sagu fermentasi dan dikocok pada 150 rpm selama 2 jam pada suhu ruang. Selanjutnya, disentrifugasi pada 3.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh digunakan sebagai ekstrak enzim kasar (Szendefy *et al.* 2006). Ekstrak enzim kasar disimpan dalam lemari es hingga siap digunakan untuk pengukuran selanjutnya.

Uji Aktivitas Enzim Selulase. Sebanyak 1 mL bufer Na-sitrat pH 4,8 0,05 M dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan satu strip kertas saring Whatman No. 1 ukuran 1x6 cm dimasukkan ke dalamnya. Kemudian dipanaskan pada 50°C beberapa saat. Ekstrak enzim kasar sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalamnya. Kemudian diinkubasi pada 50°C selama 1 jam dalam penangas air. Selanjutnya, tabung reaksi didinginkan dengan es dan kertas saring diambil dari tabung reaksi. Tabung reaksi dibungkus dengan *aluminium foil*. Kemudian ditambahkan dengan 0,5 mL larutan fenol 5% dan divortex. Selanjutnya, ditambahkan dengan 2,5 mL H₂SO₄ pekat dan divortex. Kemudian dilakukan pengenceran 5 kali dengan penambahan bufer Na-sitrat 0,05 M pH 4,8. Selanjutnya, larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dan ditentukan konsentrasi glukosa (Adney & Baker, 1996; DuBois *et al.* 1956). Aktivitas enzim selulase dihitung dengan persamaan sebagai berikut (Kamila 2003).

persamaan sebagai berikut (Kamila 2003).

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{G \times Fp}{t}$$

Keterangan : G = glukosa yang dihasilkan (µg/mL)

Fp = faktor pengenceran

t = waktu inkubasi (menit)

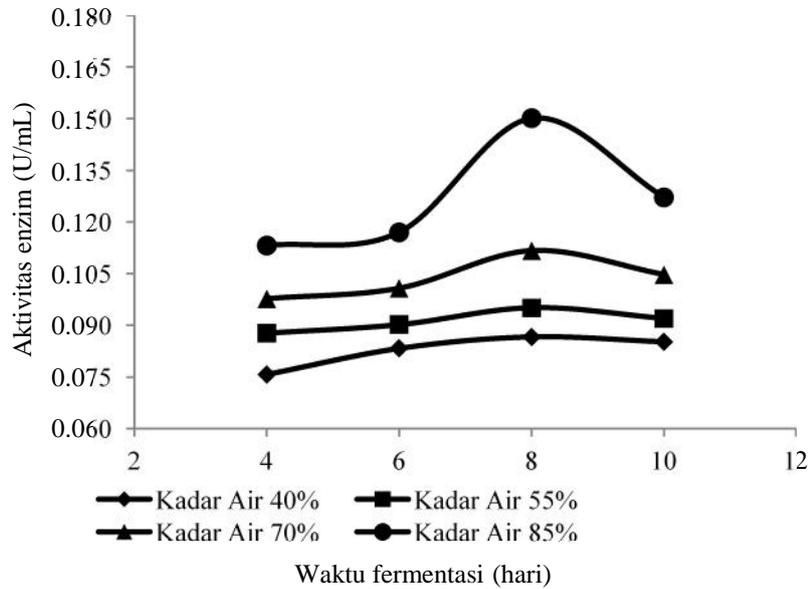
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Kadar Air Terhadap Aktivitas Enzim Selulase. Produksi enzim selulase bergantung pada kadar air dalam substrat padat. Pada fermentasi substrat padat

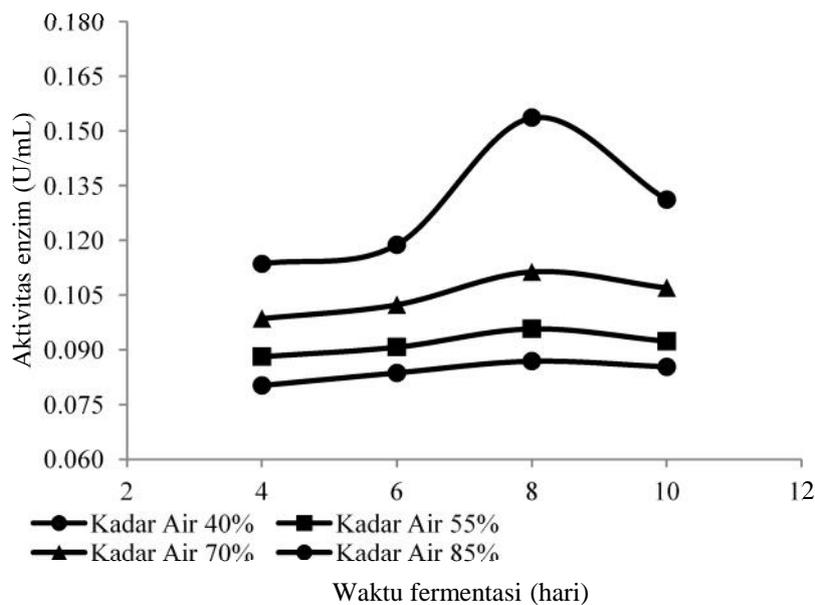
kadar air memiliki peranan penting dalam biosintesis dan sekresi dari banyak enzim, terutama selulase. Proses fermentasi berkaitan erat dengan mikroorganisme. Air memiliki fungsi yang sangat penting dalam proses metabolisme organisme, di antaranya berfungsi sebagai sumber unsur hidrogen dan oksigen yang diperlukan untuk biosintesis komponen-komponen sel, berperan penting pada proses hidrolisis enzimatis dan sangat berperan penting pada proses *transport* nutrisi dan produk-produk metabolit melalui membran sel (Sukandar 2002). Fermentasi substrat padat adalah fermentasi dengan menggunakan substrat yang tidak larut tetapi mengandung air yang cukup untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme yang diinokulasikan ke dalam substrat itu sendiri. Oleh karena itu, adanya air mempengaruhi pertumbuhan *A. niger* untuk menghasilkan enzim selulase.

Pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh kadar air dalam substrat padat. Kadar air medium berpengaruh terhadap nilai aktivitas air (a_w). Aktivitas air adalah jumlah air bebas sistem yang dinyatakan sebagai perbandingan antara tekanan parsial air dalam medium (P_w) dengan tekanan parsial air murni (P_w^o) pada temperatur yang sama (Alais 1991). Pertumbuhan mikroorganisme akan sangat kecil pada medium yang memiliki a_w rendah. Fermentasi substrat padat memerlukan kondisi kelembaban yang cukup bagi pertumbuhan kapang tetapi tidak terlalu basah (a_w tinggi) karena akan mendorong pertumbuhan bakteri.

Dengan membandingkan kurva pada Gambar 1, Gambar 2, Gambar 3, dan Gambar 4 maka dapat diketahui bahwa kadar air menunjukkan pengaruh terhadap aktivitas enzim selulase dan terbaik yang menghasilkan aktivitas enzim selulase tertinggi adalah 85%. Artinya, kadar air berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase. Semakin tinggi kadar air maka aktivitas enzim selulase akan semakin tinggi pula. Kadar air dalam proses fermentasi substrat padat bervariasi antara 40% dan 70%. Akan tetapi, kadar air bergantung pada jenis organisme dan substrat yang digunakan dalam kultivasi. Kadar air terbaik untuk kultivasi *A. niger* pada padi adalah 40% sedangkan pada kulit kopi adalah 80% (Raimbault 1998). Pada substrat jerami dengan *Aspergillus niger* menunjukkan aktivitas enzim terbaik pada kadar air 80% (Sa'adah *et al.* 2008).



Gambar 1 Kurva aktivitas enzim (U/mL) terhadap waktu fermentasi (hari) pada pH 3 dengan berbagai variasi kadar air

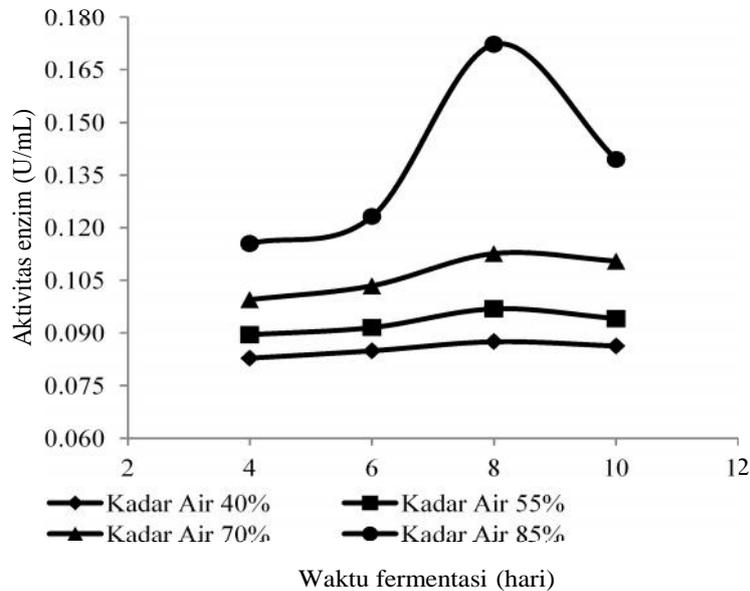


Gambar 2 Kurva aktivitas enzim (U/mL) terhadap waktu fermentasi (hari) pada pH 4 dengan berbagai variasi kadar air

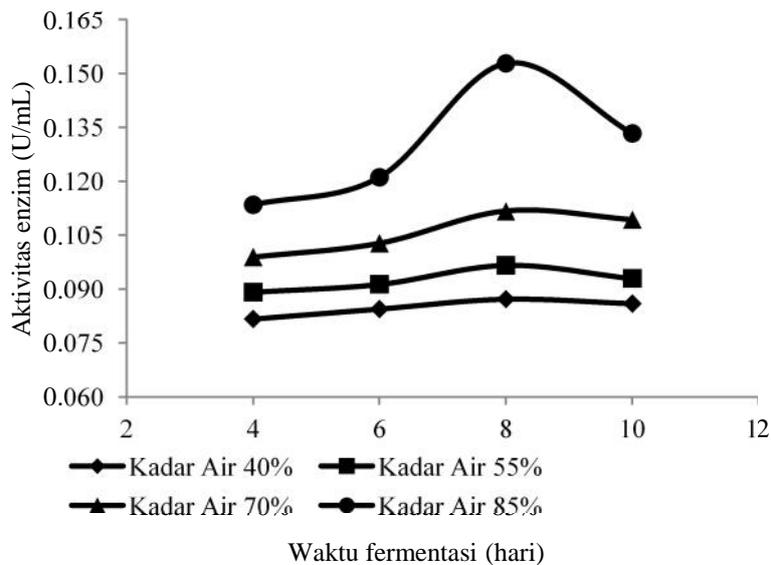
Kadar air mempengaruhi porositas media. Porositas media dipengaruhi oleh ukuran partikel substrat. Porositas media harus berada dalam keadaan yang tepat karena ketersediaan substrat terhadap kapang akan berkurang pada media yang porositasnya terlalu besar. Semakin besar ukuran partikel maka semakin besar pula porositas media, sedangkan peningkatan kadar air akan menurunkan porositas media (Kumar et al. 2002). Kadar air pada media fermentasi juga dapat mempengaruhi pertumbuhan

mikroorganisme. Hal ini dikarenakan air merupakan media untuk *transport* nutrisi sekaligus sebagai pereaksi pada proses metabolisme mikroorganisme (Pandey et al. 1994).

Kadar air pada media fermentasi yang terlalu rendah akan memperpanjang fase lag mikroorganisme sehingga pertumbuhannya menjadi lambat (Pandey et al. 1994). Kadar air yang terlalu rendah juga akan menghambat proses *transport* nutrisi, proses kimia dan metabolisme mikroorganisme. Hal ini menyebabkan mikroorganisme sulit



Gambar 3 Kurva aktivitas enzim (U/mL) terhadap waktu fermentasi (hari) pada pH 5 dengan berbagai variasi kadar air



Gambar 4 Kurva aktivitas enzim (U/mL) terhadap waktu fermentasi (hari) pada pH 6 dengan berbagai variasi kadar air

tumbuh pada media dengan kondisi kadar air yang rendah (Vu *et al.* 2010). Kadar air yang sangat tinggi dalam media fermentasi menyebabkan berkurangnya porositas media. Hal ini akan mempersulit proses aerasi dan transfer massa pada proses metabolisme mikroorganisme (Sunaryanto *et al.* 2010).

Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim Selulase.

Enzim merupakan suatu protein yang memiliki aktivitas biokimiawi sebagai katalis suatu reaksi. Enzim sangat rentan terhadap kondisi lingkungan. Adanya perubahan pH media

akan mengakibatkan aktivitas enzim ikut mengalami perubahan. Oleh karena itu, setiap enzim mempunyai pH tertentu yang menyebabkan aktivitasnya mencapai keadaan optimal. Kondisi pH yang optimal akan mendukung enzim dalam melakukan katalisa suatu reaksi dengan baik. Sedangkan pH yang kurang sesuai akan mengakibatkan kerusakan atau tidak aktifnya protein dalam suatu enzim sehingga menyebabkan fungsi dan aktivitas dari enzim tersebut berkurang. Kurva di atas menunjukkan pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase.

Dengan membandingkan kurva pada Gambar 4, Gambar 6, Gambar 7 dan Gambar 8 maka dapat diketahui bahwa pH mempengaruhi aktivitas enzim selulase. pH terbaik dalam menghasilkan enzim selulase dengan aktivitas enzim tertinggi adalah pH 5. Pada kurva tersebut dapat dilihat bahwa semakin tinggi pH maka aktivitas enzim selulase akan semakin tinggi pula tetapi terjadi penurunan seiring dengan bertambahnya pH yang mendekati pH netral.

A. niger dapat tumbuh pada rentang pH 2,2 sampai 8,8. pH tertinggi ini berada dalam rentang pH pertumbuhan *A. niger*. pH tertinggi pada fermentasi padat dengan *A. niger* cenderung sama. Hal ini dapat dilihat pada penelitian terdahulu yaitu pH 5 (Sa'adah *et al.* 2006; Soeka dan Sastraatmadja 1992; Narasimha *et al.* 2006;) dan pH antara 4 dan 4,5 (Acharya *et al.* 2008).

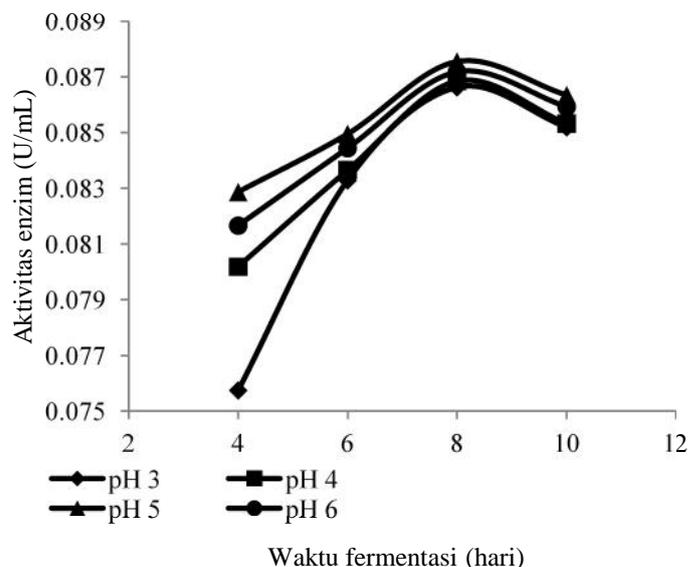
Menurut Sadikin (2002), enzim sebagai protein maka aktivitasnya dipengaruhi oleh pH. Jika pH terlalu rendah maka enzim akan menjadi tidak aktif. Jika pH terlalu tinggi maka enzim akan terdenaturasi. Apabila terjadi proses denaturasi pada enzim maka bagian aktif enzim akan terganggu dan dengan demikian efektifitas enzim menjadi berkurang sehingga aktivitas enzim pun menurun.

Aktivitas enzim ditentukan oleh gugus aktif pada rantai samping enzim. Proses hidrolisis selulosa oleh selulase terjadi pada sisi aktif asam amino glutamat. Fraksi gugus (-COOH) dari asam amino glutamat akan bermuatan

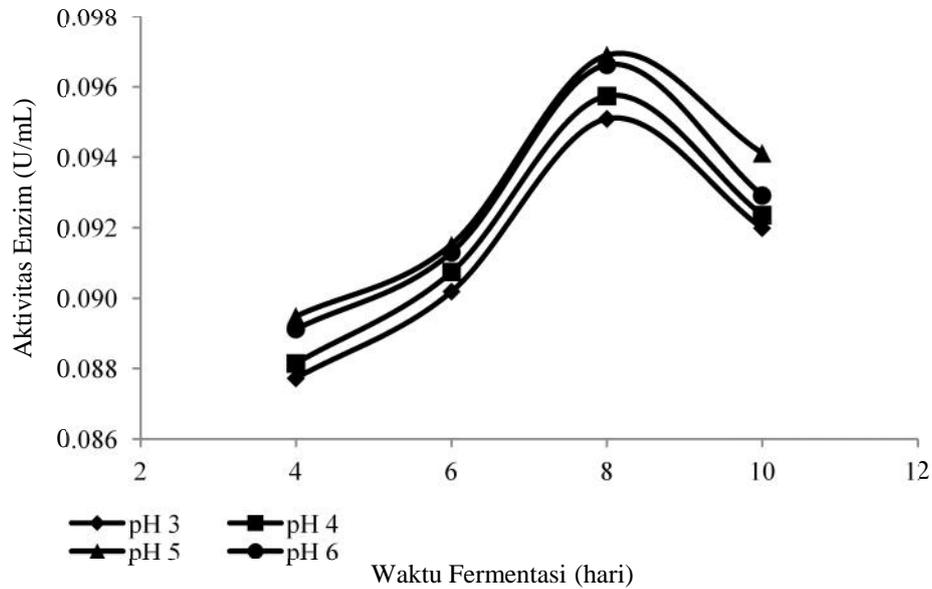
negatif membentuk (-COO⁻). Jika gugus karboksil dari enzim jumlahnya semakin meningkat maka protonasi oksigen glikosidik yang mengawali pembentukan kompleks glikosil enzim akan semakin mudah terjadi karena jumlah gugus karboksil dari enzim yang meningkat. Hal ini menyebabkan aktivitas enzim meningkat (Monica 2007).

Aktivitas selulase dihambat oleh muatan fraksi gugus sulfhidril (-SH) dari asam amino sistein. Peningkatan pH akan menyebabkan kelebihan ion (-OH) dalam larutan sehingga fraksi gugus aktif (sulfhidril) (-SH) kehilangan muatan positif membentuk gugus (-S⁻). Hal ini mengakibatkan protonasi yang melibatkan gugus fungsi sulfhidril (-SH) terhambat sehingga interaksi substrat dan enzim tidak dapat berlangsung dengan sesuai dan pembentukan kompleks enzim-substrat menjadi terhambat. Kondisi ini mengakibatkan glukosa yang diproduksi menurun sehingga aktivitas enzim menurun (Monica 2007).

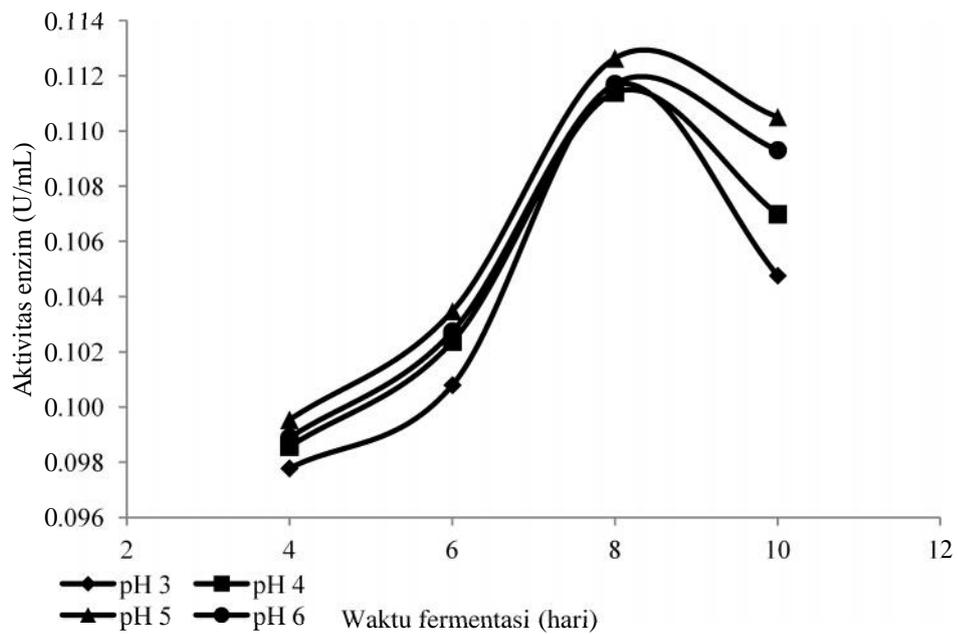
Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Aktivitas Enzim Selulase. Mikroorganisme mempunyai masa pertumbuhan yang bervariasi. Setiap mikroorganisme mempunyai kurva pertumbuhan yang terdiri dari beberapa fase yaitu: a) Fase lag, yaitu fase penyesuaian sel-sel dengan lingkungan pembentukan enzim-enzim untuk mengurai substrat; b) Fase eksponensial, yaitu fase perbanyak jumlah sel di mana aktivitas sel sangat meningkat; c) Fase stasioner, yaitu fase dengan jumlah sel yang bertambah dan jumlah sel yang mati relatif seimbang



Gambar 5 Kurva aktivitas enzim (U/mL) terhadap waktu fermentasi (hari) pada kadar air 40% dengan berbagai variasi pH



Gambar 6 Kurva aktivitas enzim (U/mL) terhadap waktu fermentasi (hari) pada kadar air 55% dengan berbagai variasi pH

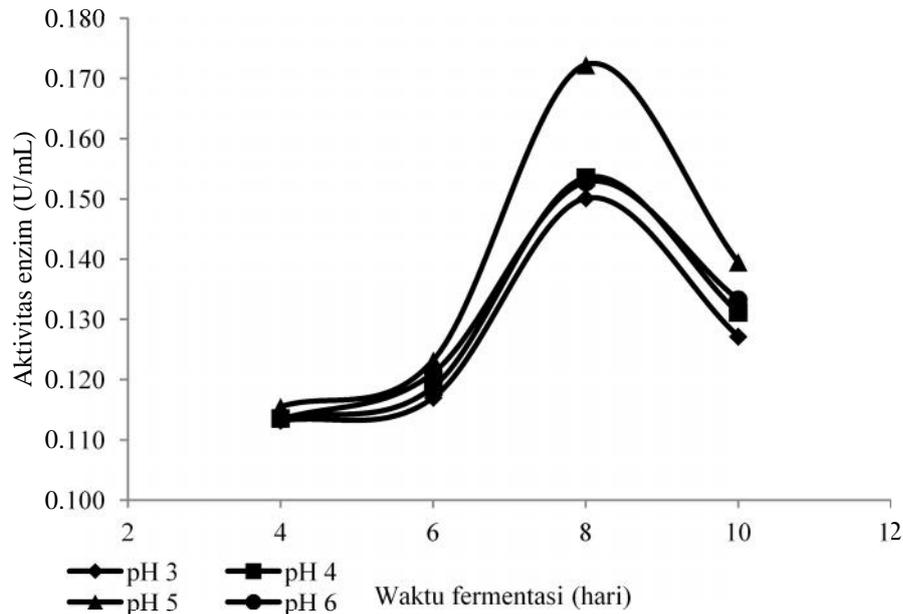


Gambar 7 Kurva aktivitas enzim (U/mL) terhadap waktu fermentasi (hari) pada kadar air 70% dengan berbagai variasi pH

di mana senyawa metabolit sekunder dapat dipanen; d) Fase kematian, yaitu fase dengan jumlah sel yang mati lebih banyak daripada jumlah sel yang hidup

Berdasarkan kurva pada Gambar 1 hingga Gambar 8 maka dapat diketahui bahwa waktu fermentasi juga mempengaruhi aktivitas enzim selulase. Waktu fermentasi terbaik dalam menghasilkan enzim selulase dengan aktivitas enzim yang tertinggi adalah 8 hari. Aktivitas enzim selulase

akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Akan tetapi, terjadi pula penurunan seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Waktu fermentasi terbaik pada fermentasi padat dengan *Aspergillus niger* bervariasi. Hal ini dapat dilihat pada penelitian terdahulu yaitu 96 jam atau 4 hari (Sa'adah *et al.* 2008; Retoningtyas, *et al.* 2006), 7 hari (Narasimha *et al.* 2006), dan 133,25 jam (Syamsuriputra *et al.* 2006).



Gambar 8 Kurva aktivitas enzim (U/mL) terhadap waktu fermentasi (hari) pada kadar air 85% dengan berbagai variasi pH

Peningkatan aktivitas enzim selulase yang terjadi pada hari ke-4 hingga hari ke-8 menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara enzim selulase dengan selulosa yang tinggi. Interaksi antara enzim selulase dengan selulosa akan membentuk kompleks enzim-substrat yang menghasilkan glukosa sebagai produk. Penurunan aktivitas enzim selulase yang terjadi pada hari ke-8 hingga hari ke-10 menunjukkan bahwa interaksi antara enzim selulase dengan selulosa mulai menurun. Hal ini disebabkan oleh akumulasi produk yang terbentuk pada hari sebelumnya menyebabkan penghambatan bagi enzim selulase. Produk dari hidrolisis selulosa dapat menjadi inhibitor bagi aktivitas enzim selulase.

Glukosa dan selobiosa adalah inhibitor enzim dalam menghidrolisis selulosa. Selobiosa menghambat enzim eksoglukanase atau selobiohidrolase pada kompleks enzim selulase. Glukosa menghambat enzim penghidrolisis selobiosa atau α -glukosidase (Ambriyanto 2010).

Hidrolisis selulosa oleh enzim selulase terdiri dari beberapa tahap. Pada tahap pertama enzim endoglukanase menyerang daerah amorf dari selulosa secara acak dan membentuk makin banyak ujung-ujung pereduksi yang memudahkan enzim eksoglukanase. Pada tahap kedua enzim eksoglukanase menghidrolisis daerah kristal dari selulosa dengan membebaskan dua unit glukosa.

Kerjasama kedua enzim ini menghasilkan unit-unit sakarida yang lebih kecil. Tahapan selanjutnya adalah unit-unit sakarida yang lebih kecil dihidrolisis oleh β -glukosidase menghasilkan glukosa (Nugraha 2006).

Selain interaksi antara enzim dengan substrat, pertumbuhan kapang sangat bergantung pada ketersediaan nutrisi. Ketersediaan nutrisi yang banyak dapat memperpanjang masa hidup dari mikroorganisme. Sebaliknya, jika ketersediaan nutrisi sedikit maka masa hidup dari mikroorganisme akan singkat.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa kadar air, pH dan waktu fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase. Aktivitas enzim selulase tertinggi adalah 0,172 U/mL pada kadar air 85%, pH 5 dan waktu fermentasi 8 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, P.B., Acharya, D.K & Modi, H.A. 2008. Optimization for cellulose production by *Aspergillus niger* using saw dust as substrat. *Afr J Biotechnol* **7**: 4147–4152.
- Adney, B & Baker, J. 1996. *Measurement of cellulase activities*. CO: National Renewable Energy Laboratory. Report nr NREL/TP-501–42628.

- Alais, C & Linden, G.** 1991. Food Biochemistr. London: Ellis Horwood.
- Alam, M.Z., Nurdina, M & Mahmat, M.E.** 2005. Production of cellulase from oil palm biomass as substrate by solid state bioconversion. *American J Applied Sci* **2(2)**: 569–572.
- Darwis, A.A., Sailah, I., Irawadi, T.T & Safriani.** 1995. Kajian kondisi fermentasi pada produksi selulase dari limbah kelapa sawit (tandan kosong dan sabut) oleh *Neurospora sitophila*. *J. Teknologi Industri Pertanian* **5(3)**: 199–207.
- DuBois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A & Smith, F.** 1956, Colorimetric method for determination of sugars and related substances, **28(3)**: 350–356. Di dalam Abadie, A.R., 2008, *Quantfying Cellulase in High-Solids Environments*, University of Kentucky, Lexington.
- Guruchandran, V & Sasikumar, C.** 2010. Cellulase production by *Aspergillus niger* fermentedd in saw dust and bagasse. *J. Cell Tissue Research* **10**: 2115–2117.
- Jecu, L.** 2000. Solid state fermentation of agricultural wates for endoglucanase production, *Industrial Crops and Products* **11**: 1–5.
- Kamila, L.** 2003. Pencirian selulolitik isolat khamir *Rhodotorula* sp. dari tanah hutan taman nasional Gunung Halimun. *Skripsi*. Bogor: IPB.
- Kiat, L.J.** 2006. Preparation and characterization of carboxymethyl sago waste and its hydrogel. *Tesis*. Serdang: Universiti Putra Malaysia.
- Kumar, D., Jain, V.K., Shanker, G & Srivastava, A.** 2002. Citric acid production by solid state fermentation using sugarcane bagasse. www.sciencedirect.com (14 Januari 2014)
- Monica, A.D.N.** 2007. Studi aktivitas spesifik selulase dari *Lactobacillus collinoides* yang dimurnikan dengan pengendapan bertingkat ammonium sulfat. *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya
- Nakari, S.T & Penttila, M.** 1995. Production of *Trichoderma ressei* cellulases on glucose containing media. *Appl. Environ. Microbiol* **61**: 3650–3655.
- Narasimha, G., Sridevi, A., Viswanath, B., Subosh, C.M & Rajasekhar, R.B.** 2006. Nutrient effects on production of cellulolytic enzymes by *Aspergillus niger*. *Afr. J. Biotechnol* **5(5)**: 472–476.
- Pandey, A., Selvakumar, P & Ashakumary, L.** 1994. Glucoamylase production by *Aspergillus niger* on rice bran is improved by adding nitrogen source. *World. J. Microbila. Biotechnol* **10**: 348–349.
- Pothiraj, C., Balaji, P & Eyini, M.** 2006. Enhanced production of cellulases by various fungal cultures in solid state fermentation of cassava waste. *Afr. J. Biotechnol* **5**: 1882–1885.
- Raimbult, M.** 1998. General and microbial aspects of solid substrate fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology* **1(3)**: 174–188.
- Retnoningtyas, E.S., Wiharsono, A & Wahyuni, A.** 2006. Pengaruh perlakuan awal substrat tandan pisang sebagai media untuk produksi selulase. *Skripsi*. Surabaya: Universitas Katolik Widya Mandala.
- Sa’adah, Z., Ika, N.S & Abdullah.** 2008. Produksi enzim selulase oleh *Aspergillus niger* menggunakan substrat jerami dengan system fermentasi padat. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Soeka, Y.S & Sastraatmadja, D.D.** 1992. Pengaruh penambahan sumber-sumber nitrogen terhadap produksi enzim selulase oleh *Aspergillus niger* terseleksi pada media dedak. *Prosiding Seminar Hasil Litbang SDH*.
- Sukumaran, R.K.; Singhanian, R.R & Pandey, A.** 2005. Microbila cellulases-Production, applications and challenges. *J. Sci. Ind. Res* **64**: 832–844.
- Sun, Y.** 2002. Enzymatic Hydrolysis of Rye Straw and Bermudagrass for Ethanol Production, Dissertation for the Degree of Doctor of Philosophy, Departenment of Biological and Agricultural Engineering, North Carolina State University, North Carolina.
- Sunaryanto, R., Irawadi, T.T., Suryani, A. & Marasabesy, A.** 2010, Pengaruh Kadar Air Awal dan Campuran Dedak:Tapioka Terhadap Produktivitas Enzim Glukoamilase, ISSN 1410-9891.
- Syamsuriputra, A.A., Setiadi, T., Kushandayani, R. & Yunus, R.F.** 2006, Pengaruh Kadar Air Substrat dan Konsentrasi Dedak Padi pada Produksi Asam Sitrat dari Ampas Tapioka Menggunakan *Aspergillus niger* ITBCCL74, Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia.
- Szendefy, J.; Szakacs, G. & Christopher, L.** 2006. Potential of solid-state fermentation enzymes of *Aspergillus oryzae* in biobleaching of paper pulp. *Enzyme and Microbial Technology* **39**: 1354–360.
- Ul-haq, I.; Javed, M.M.; Khan, T.S. and Siddiq, Z.,** 2005. Cotton Saccharifying Activity of Cellulases Produced by Co-culture of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*. *Res. J. Agric & Biol. Sci* **1(3)**: 241–245.
- Vu, V.H., Pham, T.A & Kim K.** 2010. Improvement of a fungal strain by repeated and sequential mutagenesis and optimization of solid-state fermentation for the hyper-production of rawstarch-digesting enzyme. *J. Microbiol Biotechnol* **20**: 718–726.