

**Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim Selulase dari Kultur Campuran *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada Media Kulit Pisang**

Rodiyatul Fitrianti, Liliek Harianie, M.P, Mujahidin Ahmad, M.Sc  
Jurusan Biologi-Fakultas Sains dan Teknologi- Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim  
Malang-Jalan Gajayana No.50-Malang

**ABSTRAK**

Selulase merupakan enzim yang potensial digunakan dalam hidrolisis bahan berselulosa menjadi gula-gula sederhana. Aplikasi enzim selulase sangat luas dalam bidang industri. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh suhu, pH dan interaksi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media bagas tebu. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor. Faktor pertama adalah variasi suhu yang terdiri dari tiga taraf yaitu 40°C, 50°C, dan 60°C. Faktor kedua adalah variasi pH yang terdiri dari tiga taraf yaitu 4, 5, dan 6. Masing-masing faktor dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Data dianalisis dengan ANOVA *Two Way* dan dilanjutkan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas optimal enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. diperoleh dari perlakuan interaksi suhu 50°C pada pH 6, dengan nilai aktivitas enzim selulase sebesar 32.56 U/ml sedangkan nilai aktivitas enzim selulase terendah diperoleh dari perlakuan suhu 40°C pada pH 5 dengan nilai aktivitasnya sebesar 19.07 U/ml.

**Kata Kunci:** Suhu, pH, Enzim selulase, *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., *Botrytis* sp

**PENDAHULUAN**

Industri enzim telah berkembang pesat dan menempati posisi penting dalam bidang industri. Kesadaran masyarakat terhadap masalah lingkungan yang semakin tinggi serta adanya tekanan dari para ahli dan pecinta lingkungan, menjadikan teknologi enzim sebagai salah satu alternatif untuk menggantikan berbagai proses kimiawi yang tidak ramah lingkungan dalam bidang industri (Falch, 1991). Selulase merupakan enzim yang secara luas banyak digunakan dalam industri tekstil, kimia, kertas dan bahan pakan. Selain itu, selulase dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi biomassa yang mengandung selulosa menjadi biofuel seperti bioetanol (Mtui, 2009).

Selulase merupakan enzim kompleks yang terdiri dari eksoglukanase, endoglukanase dan  $\beta$ -glukosidase (Hermiati, 2010). Komponen enzim tersebut bekerja bersama-sama dan secara bertahap menguraikan selulosa menjadi unit glukosa (Lynd *et al.*, 2002).

Produksi selulase secara komersial biasanya menggunakan kapang atau bakteri, tetapi kemampuan kapang sebagai mikroba pendegradasi selulosa dan hemiselulosa lebih efektif dibandingkan dengan bakteri, karena pada kapang komponen enzim yang menguraikan selulosa menghasilkan aktivitas enzim yang lebih tinggi dibandingkan pada bakteri (Purwadaria dkk, 2003).

Produksi enzim selulase oleh kapang memerlukan substrat yang biasanya berasal dari bahan yang mengandung glukosa, pati, dan selulosa, karena kapang hanya akan menghasilkan selulase jika ditumbuhkan pada medium yang mengandung glukosa, pati dan selulosa (Lyn dkk, 2002).

Kulit buah pisang kepek mengandung senyawa lignin, selulosa dan hemiselulosa. Hasil penelitian Bestari (2013) juga menunjukkan bahwa kulit pisang kepek memiliki kadar glukosa yang lebih tinggi dari pisang jenis lainnya, yaitu 7,72% (Yusraini, 2007).

Untuk memaksimalkan aktivitas enzim ini maka perlu dilakukan optimalisasi aktivitas enzim selulase dengan mengkombinasikan beberapa variabel yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim tersebut seperti suhu dan pH (Rumiris, 2010). Ketika suhu bertambah sampai suhu optimum, kecepatan reaksi enzim naik karena energi kinetik bertambah, disamping itu pH rendah atau pH tinggi dapat pula menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan ini akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim (Poedjiadi, 2006).

**A. METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Maret 2014 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains

dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor. Faktor pertama adalah variasi suhu yang terdiri dari tiga taraf yaitu 40°C, 50°C, dan 60°C. Faktor kedua adalah variasi pH yang terdiri dari tiga taraf yaitu 4, 5, dan 6. Masing-masing faktor dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

#### Pembuatan Media PDA

PDA sebanyak 3,9gr dimasukkan kedalam 100 ml aquades. Campuran tersebut dipanaskan dan diaduk sampai homogen. Larutan PDA dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 15 atm.

#### Pengembangbiakan Kapang

*Trichoderma* sp. dibiakkan pada media PDA miring dengan bantuan kawat ose dan api bunsen di dalam LAF. Biakan kapang *Trichoderma* sp. diinkubasi pada suhu kamar selama 6 hari (Sutarno *et al*, 2013). Sedangkan kapang *Gliocladium* dan *Botrytis* sp. diinkubasi selama 7 hari.

#### Persiapan Bahan Baku

Kulit pisang dipotong-potong dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 100°C selama 6 jam. Setelah kering kulit pisang dihancurkan dengan alat penggiling hingga menjadi bubuk dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Hasil ayakan digunakan sebagai bahan baku substrat.

#### Delignifikasi Sampel

Bubuk kulit pisang sebanyak 100g dimasukkan dalam larutan NaOH 6% dengan perbandingan 1 : 15 (serbuk bagas tebu : larutan NaOH) selama 12 jam pada suhu 121°C. Kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dengan dicuci menggunakan aquades sampai pH netral (7). Residu berupa bagas tebu dikeringkan pada suhu 105°C selama 6 jam (Gunam *et al*, 2011).

#### Pembuatan Media Pertumbuhan (Larutan Nutrisi)

Media pertumbuhan merupakan larutan nutrisi yang berfungsi untuk menyediakan unsur-unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba agar dapat meningkatkan produksi enzim. Komponen media pertumbuhan terdiri dari:

Komponen	Komposisi gram/liter aquades
<i>Yeast Ekstrak</i>	2
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.5
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.2
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0.2
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2

Sumber : (I-Son, 2010)

#### Pembuatan Media Inokulum

Substrat yang telah digiling halus ditimbang sebanyak 20 gram, kemudian ditambahkan 100 ml larutan nutrisi. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian didinginkan.

#### Produksi Enzim Selulase

Masing-masing spora biakan murni *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. dari media agar miring disuspensikan dalam 10 mL larutan 0,1% tween 80, dilakukan pelepasan spora menggunakan jarum inokulasi. Kemudian suspensi dari kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. masing-masing diambil sebanyak 10 ml dan diinokulasikan ke dalam media inokulum yang telah disterilkan secara terpisah, kemudian diinkubasi pada suhu kamar sampai kapang berada pada fase eksponensial. Untuk *Trichoderma* sp. diinkubasi selama 6 hari (Sutarno *et al*, 2013), sedangkan *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari.

#### Pemanenan Enzim Selulase

Pemanenan enzim dilakukan dengan cara menambahkan 100 ml larutan 0,1% tween 80, di shaker pada 150 rpm selama 120 menit pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi pada 4.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang terbentuk merupakan ekstrak enzim kasar yang digunakan dalam uji aktivitas selulase (Wahyuningtyas *et al*, 2013). Supernatan hasil sentrifugasi disimpan dalam kulkas pada suhu 4°C (Anggrawati, 2012).

#### Pembuatan Kurva Standar Glukosa dengan Metode Nelson-Somogy

Kurva standar glukosa dibuat dengan membuat larutan stok glukosa standart 100 ppm (10 mg glukosa/100 ml aquades). Kemudian diencerkan hingga didapatkan larutan glukosa dengan konsentrasi 0,20, 40,60,80, dan 100 ppm dari larutan stok. Masing-masing konsentrasi larutan glukosa

diambil 1 ml, lalu ditambahkan 1 ml reagen Nelson, kemudian dididihkan selama 20 menit, dan didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Setelah dingin ditambahkan 1 ml reagen arsenomolibdat, kemudian dihomogenkan. Selanjutnya campuran tersebut ditambah dengan 6 ml aquades kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 751 nm (Saropah *et al*, 2012).

#### Uji Aktivitas Enzim Selulase

Sebanyak 1 ml CMC 1% ditambah 1 ml campuran enzim kasar dari *Trichoderma* sp. *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. kemudian dihomogenkan dan diinkubasi sesuai dengan variasi suhu dan pH yang telah ditetapkan selama 30 menit. Variasi suhu yang ditetapkan adalah 40°, 50° dan 60°C. Sedangkan variasi pH yang ditetapkan adalah 4, 5 dan 6. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 1 ml TCA.

Suspensi yang diperoleh dihomogenkan kemudian diambil 1 ml dan ditambah 1 ml reagen Nelson, selanjutnya dipanaskan dalam air mendidih selama 20 menit, kemudian didinginkan hingga mencapai suhu ruang, setelah dingin ditambah 1 ml arsenomolibdat dan dihomogenkan. Selanjutnya campuran tersebut ditambah dengan 6 ml aquades kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 751 nm (Saropah *et al*, 2012).

Perlakuan kontrol dan blanko dilakukan secara bersamaan dengan metode dan tahapan yang sama pada pengujian sampel. Kontrol merupakan enzim yang telah diinaktivasi terlebih dahulu kemudian direaksikan dengan substrat, sedangkan blanko tidak menggunakan enzim melainkan menggunakan akuades (Anggrawati, 2012).

Aktivitas enzim dihitung dengan rumus (Anggrawati, 2012):

$$(U/ml) = \text{konsentrasi glukosa sampel} \times \frac{1000}{V \times t \times BM}$$

Absorbansi glukosa sampel : [(As–Ab)–(Ak– Ab)]

Keterangan :

As = Absorbansi sampel

Ab = Absorbansi blanko

Ak = Absorbansi kontrol

t = waktu inkubasi

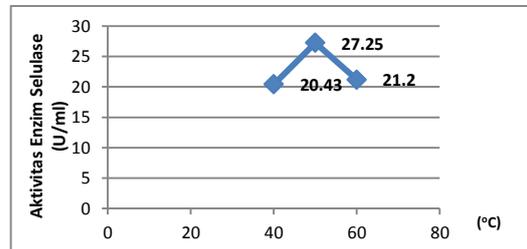
V = volume enzim

BM = berat molekul glukosa = 180

Dari rumus absorbansi glukosa sampel, kemudian dimasukkan kedalam persamaan yang didapatkan dari kurva standar glukosa untuk mendapatkan konsentrasi glukosa sampel.

### C. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1. Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Selulase



Gambar 4.1 Grafik Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim selulase dari kultur campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp.

Kurva pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa pada suhu 40°C aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp. *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. adalah sebesar 20,43 U/ml, kemudian pada suhu 50°C aktivitas enzim selulase mengalami peningkatan dengan nilai aktivitas enzim sebesar 27,25 U/ml, sedangkan pada suhu 60°C aktivitas enzim selulase mengalami penurunan dan menghasilkan aktivitas enzim sebesar 21,2 U/ml.

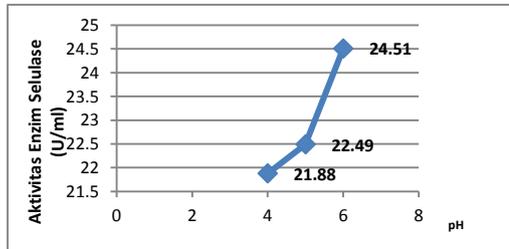
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa enzim selulase yang dihasilkan dari campuran kapang *Trichoderma*, *Gliocladium* dan *Botrytis* sp. bekerja optimum pada suhu 50°C. Suhu optimum ini merupakan suhu yang menyebabkan terjadinya reaksi kimia berjalan dengan kecepatan paling besar. Pada suhu ini kecepatan reaksi enzim naik karena energi kinetik bertambah. Bertambahnya energi kinetik akan mempercepat gerak vibrasi, translasi, dan rotasi baik enzim maupun substrat. Hal ini akan memperbesar peluang enzim dan substrat bereaksi (Meryandini, 2009).

Namun menurut Iswari, (2006) bertambahnya suhu yang melebihi batas optimum seperti pada suhu 60°C dapat menyebabkan enzim terdenaturasi dan mematikan aktivitas katalisnya. Hal tersebut akan mengakibatkan aktivitas enzim turun karena tidak terbentuk kompleks enzim substrat, sehingga konsentrasi produk rendah.

Semua enzim bekerja dalam rentang suhu tertentu pada tiap jenis mikroorganismenya. Sebagian besar enzim memiliki aktivitas optimum pada suhu 20–50°C yang termasuk dalam golongan mesozim (Saropah *et al*, 2012). Sedangkan enzim selulase yang memiliki aktivitas optimum pada suhu 50°C

sampai dengan 80°C disebut termozim atau sering disebut termostabil (tahan panas) (Meryandini *et al*, 2009).

**2. Pengaruh pH terhadap Aktivitas Selulase**



Gambar 4.2 Grafik Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase dari kultur campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp.

Kurva pada gambar 4.2 menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. terus mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya pH sampai pada pH 6. Pada pH 4 nilai aktifitas enzim selulase sebesar 21.88 U/ml dan terus meningkat sampai pada pH 6 dengan nilai aktivitas enzim selulase sebesar 24.51 U/ml.

Terjadinya perubahan nilai pH sangat mempengaruhi kerja enzim karena perubahan pH menyebabkan terjadinya perubahan pada daerah katalitik dan konformasi dari enzim, dimana sifat ionik dari gugus karboksil dan gugus amino enzim tersebut sangat mudah dipengaruhi oleh pH (Pelczar dan Chan, 1986). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pH merupakan salah satu faktor yang memiliki potensi untuk mempengaruhi aktivitas enzim, serta sangat erat kaitannya dengan fungsi aktif enzim, kelarutan substrat, dan ikatan enzim-substrat. Hal ini pula yang menyebabkan terjadinya perubahan kerja enzim selulase yang dihasilkan oleh campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang.

Setiap enzim memiliki pH optimum dimana pada pH tersebut struktur tiga dimensinya paling kondusif untuk mengikat substrat. Bila konsentrasi ion hidrogen berubah dari konsentrasi optimal maka aktivitas enzim secara progresif hilang sampai akhirnya enzim menjadi tidak fungsional (Lehninger, 1982).

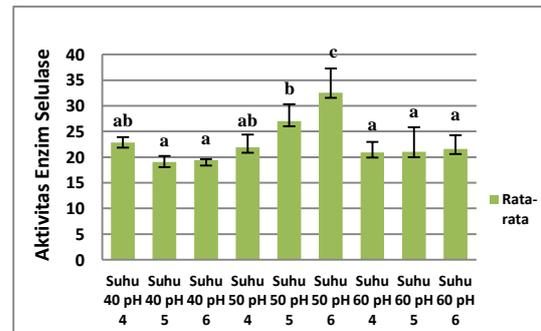
**3. Pengaruh Interaksi Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim Selulase**

**Tabel 4.2** Ringkasan uji DMRT Pengaruh interaksi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim

selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp.

No	Suhu	pH	Aktivitas Enzim (U/ml)	Notasi
1	40	4	22.84 ± 1.060	ab
		5	19.07 ± 1.150	a
		6	19.32 ± 0.245	a
2	50	4	21.89 ± 2.520	ab
		5	27.03 ± 3.279	b
		6	32.56 ± 4.690	c
3	60	4	20.92 ± 2.069	a
		5	21.01 ± 4.794	a
		6	21.59 ± 2.693	a
9				

Hasil uji Duncan pada tabel 4.1 dan gambar 4.3 menunjukkan bahwa aktivitas tertinggi enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang ditumbuhkan pada media kulit pisang ditunjukkan pada perlakuan interaksi suhu 50°C dan pH 6 dengan aktivitas enzim sebesar 32.56 U/ml.



Gambar 4.3 Grafik Pengaruh interaksi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim selulase dari Campuran Kapang *Trichoderma* sp. *Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp.

Tingginya aktivitas enzim selulase dikarenakan seiring bertambahnya suhu menyebabkan terus meningkatnya aktivitas enzim, sampai seluruh tapak enzim berikatan dengan substrat dan membentuk kompleks enzim substrat, hal ini terjadi hingga sampai batas suhu optimum (Girindra, 1993). yaitu seperti pada perlakuan suhu 50°C pH 6 dengan nilai aktivitas enzimnya sebesar 32.56 U/ml. Selain suhu, pH juga berpengaruh terhadap aktivitas enzim karena enzim tidak dapat

bekerja pada pH yang terlalu rendah (asam) atau pH yang terlalu tinggi (basa). Pada pH yang terlalu asam atau basa enzim akan terdenaturasi sehingga sisi aktif enzim akan terganggu (Safaria, 2013). Masing-masing enzim juga memiliki pH optimum yang berbeda. pH 6 ini sangat mendukung tingginya aktivitas enzim karena salah satu komponen enzim selulase yaitu CMCase (Endo- $\beta$ -1,4-glukanase) cenderung optimum pada pH asam yaitu pada rentang pH 4-6,5 (Meryandini *et al*, 2009). Hal ini menyebabkan pada suhu dan pH yang sesuai ini tumbukan antara enzim dan substrat terjadi sangat efektif sehingga pembentukan kompleks enzim substrat semakin mudah dan produk yang terbentuk meningkat, sehingga menghasilkan nilai aktivitas enzim yang tinggi.

Aktivitas enzim selulase yang terendah terjadi pada perlakuan suhu 40°C pH 5 dengan nilai aktivitas enzimnya sebesar 19.07 U/ml. Hal ini dikarenakan aktivitas enzim yang terjadi dibawah batas suhu optimum akan menyebabkan aktivitas enzim kecil karena kurangnya energi termodinamik, sehingga memungkinkan tumbukan antara molekul enzim dan substrat kecil dan menyebabkan aktivitas enzimnya juga kecil (Soendoro,1997).

Akan tetapi reaksi enzimatik diatas batas suhu optimum akan menyebabkan nilai aktivitas enzimnya rendah, seperti pada perlakuan suhu 60°C pH 6 dengan nilai aktivitasnya sebesar 20.92 U/ml, hal ini dikarenakan reaksi enzimatik diatas suhu optimum akan menyebabkan meningkatnya energi termodinamik, sehingga tumbukan antara enzim dan substrat meningkat, akan tetapi tidak mencapai kondisi optimum karena dengan meningkatnya suhu struktur bangun tiga dimensi enzim akan berubah secara bertahap dan akan merusak struktur protein (denaturasi).

Astuti, 2011 menyebutkan aktivitas enzim selulase oleh *Penicillium* sp. yang diisolasi dari tanah Wonorejo Surabaya menghasilkan aktivitas enzim sebesar 17,66 U/ml, dan *Aspergillus niger* menghasilkan aktivitas enzim selulase sebesar 2,36. Penelitian Kusnadi (2010) juga menyebutkan bahwa aktivitas enzim selulase oleh *Trichoderma harzianum* yang diisolasi dari serbuk gergaji menghasilkan aktivitas enzim selulase sebesar 5,73 U/ml.

Aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp.,

*Gliocladium* sp. dan *Botrytis* sp. yang ditumuhkan pada media kulit pisang menghasilkan aktivitas enzim selulase yang lebih tinggi dibandingkan dengan beberapa penelitian yang telah disebutkan yang hanya menggunakan kapang tunggal. Menurut Anwar (2010), hal ini dikarenakan campuran enzim dari beberapa kapang mampu memperbaiki komposisi endoglukanase, eksoglukanase, dan glukosidase menjadi lebih seimbang untuk menghidrolisis selulosa, seperti halnya *Trichoderma reesei* yang hanya menghasilkan endoglukanase dan eksoglukanase tetapi glukosidasenya rendah (Martin, 2008). dan sebaliknya contoh lain yaitu *Aspergillus niger* yang menghasilkan glukosidase yang kuat akan tetapi endoglukanase dan eksoglukanase rendah (Anwar, 2010).

Nilai aktivitas enzim selulase dari tiap isolat kapang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa kapang merupakan mikroorganisme yang sangat bervariasi dalam potensinya memanfaatkan nutrisi dari substratnya maupun kemampuan metabolismenya.

#### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ada pengaruh variasi suhu terhadap aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. Aktivitas enzim tertinggi diperoleh pada perlakuan suhu 50°C dengan aktivitasnya sebesar 27.25 U/ml sedangkan aktivitas enzim selulase terendah diperoleh pada perlakuan suhu 40°C dengan aktivitasnya sebesar 20.43 U/ml.
2. Ada pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. Aktivitas enzim tertinggi diperoleh pada perlakuan pH 6 dengan aktivitasnya sebesar 24.51 U/ml. Sedangkan aktivitas enzim selulase terendah diperoleh pada perlakuan pH 4 dengan aktivitasnya sebesar 21.88 U/ml.
3. Ada pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim selulase dari campuran kapang *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp., dan *Botrytis* sp. yang Aktivitas enzim tertinggi diperoleh pada perlakuan pH 6 dengan aktivitasnya sebesar 24.51 U/ml. Sedangkan aktivitas enzim selulase

terendah diperoleh pada perlakuan pH 4 dengan aktivitasnya sebesar 21.88 U/ml.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Anggrawati, Desi. 2012. Aktivitas Enzim Selulase Isolat SGS 2609 BBP4B-KP Menggunakan Substrat Limbah Pengolahan Rumput Laut yang Dipretreatment dengan Asam. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Anwar, N. 2010. Peningkatan Unjuk Kerja Hidrolisis Enzimatis Jerami Padi Menggunakan Campuran Selulase Kasar dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *MAKARA SAINS*. 14 (2): 113-116.
- Bestari, Arifani. 2013. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol dari Limbah Kulit Pisang Kepok dan Raja. *Teknik Lingkungan*. UNIP Semarang.
- Falch, E.A. 1991. Industrial Enzymes Developments In Production And Application. *Biotech. Adv.* 9: 643-658.
- Gunam, Ida Bagus Wayan. 2011. Produksi Selulase Kasar Dari Kapang *Trichoderma Viride* Dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebu Dan Lama Fermentasi *Jurnal Biologi*. 10(2): 29 – 33.
- Hermiati, E. 2010. Utilization of lignocellulosic biomass sugarcane dregs for Bioethanol Production. *Journal of Agricultural Research*. 29 (4) :123-127.
- Iswari, Sri. 2006. *Biokimia*. Jakarta: Graha Ilmu.
- I-Son, Ng., Weili, Chen., Shuang, Pichan., Jiun, Lychir., Potingchen., Chii, Gongtong., dan Su, Mayyu. 2010. High Level Production Of A Thermoacidophilic B-Glucosidase From *Penicillium citrinum* YS40-5 By Solid State Fermentation with Rice Bran. *Bioresource Technology*. 101:1310–1317.
- Kusnadi. 2010. Keanekaragaman Jamur Selulolitik dan Amilolitik Pengurai Sampah Organik dari Berbagai Substrat. *Jurnal Biologi*. 10: 1-10.
- Lehninger, Albert., Nelson, D.L dan Michael. 2008. *Principles of Biochemistry*. New York: W.H.Freeman.
- Lynd, L.R., P.J. Weimer., W.H. Van Zyl dan I.S. Pretorius. 2002. Mikrobial cellulose utilization : Fundamental and Biotechnology. *Microbial. Mol. Biol. Rev.* 66 (3): 506-577.
- Martins, L.F. 2008. Comparison of *Penicillium echinulatum* and *Trichoderma reesei* Cellulases in Relation to Their Activity Against Various Cellulosic Substrates. *Bioresource Technology*. 99: 1417–1424.
- Meryandini, A. Widosari, W dan Maranatha, B. 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara Sains*. 13 (1): 33-38.
- Mtui, Y.S. 2009. Recent Advance In Pretreatment of Lignocellulosic Waste and Production of Value Added Products. *African Journal of Biotechnology*. 8(8): 1407-1401.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chain. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Poedjiadi, A dan Supriyanti, T. 2006. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Purwadaria, T., P. A. Marbun, A. P. Sinurat dan P. P. Ketaren. 2003. Perbandingan Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri dan Kapang Hasil Isolasi dari Rayap. *JITV*. 8(4): 213-219.
- Rumiris, M. 2010. Optimalisasi Suhu Produksi Enzim Selulase dari Bakteri Selulolitik yang diisolasi Dari Sungai Siak. *Jurnal Kimia*. 7 (1).
- Girindra, A. 1986. *Biokimia 1*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Safaria, S. 2013. Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus Niger* dan

- Trichoderma Reesei* Dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *Jkk.* 2 (1).
- Saropah, D.A. Jannah, A dan Maunatin, A. 2012. Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. *Alchemy.* 2 (1): 34-35.
- Soendoro, R. 1997. *Prinsip- prinsip Biokimia.* Jakarta: Erlangga.
- Sutarno, R.J. Zaharah, T.A dan Idiawati, N. 2013. Hidrolisis Enzimatik Selulosa . Bandung.
- dari Ampas Sagu Menggunakan Campuran Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger.* *JKK.* 2 (1): 46-51.
- Yusraini, Era. 2007. Karakterisasi proses produksi maltodekstrin dari pati pisang (*Musa* sp.) Secara enzimatis dengan  $\alpha$ -amilase1 (characterization process of maltodextrin production from banana starch (*Musa* sp.) With enzlmatic by a-amylase by  $\alpha$ -amylase). *Skripsi.* ITB