

Pengaruh Konsentrasi dan Lama Inkubasi terhadap Kadar Protein Crude Enzim Selulase dari Kapang *Aspergillus niger*

Ani Sulistyarsi*, Pujiati, Muh. Waskito Ardhi

Prodi Pendidikan Biologi, Fakultas PMIPA, IKIP PGRI Madiun
Madiun, 63118, Indonesia

*Corresponding author: anismasa81@yahoo.com

Abstract: *Aspergillus niger* merupakan salah satu spesies kapang potensial yang memiliki kemampuan selulolitik. *Aspergillus niger* dikenal sebagai salah satu mikroorganisme yang memiliki kemampuan tinggi untuk menghasilkan enzim selulase. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi terhadap produktivitas crude enzim selulase. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktorial. Perlakuan dalam penelitian ini adalah T (lama inkubasi dengan variasi 5, 7, dan 9 hari dan K (konsentrasi inokulum) dengan variasi 10%, 15%, dan 20%. Data kandungan protein dari kapang *Aspergillus niger* diperoleh dengan menggunakan metode Lowery dengan spektrofotometri menggunakan analisis kuantitatif, kemudian data dianalisis dengan menggunakan anava dua jalur kemudian di uji lanjut dengan uji BNJ. Rata-rata tertinggi pada K1T3 (konsentrasi 10% dan waktu inkubasi 9 hari) dengan kadar protein 0,065% wb dan kadar protein terendah pada K3T2 (konsentrasi 20% dan waktu inkubasi 7hari) yaitu sebesar 0,042% wb. Hasil penelitian menunjukkan hasil yang signifikan menyatakan bahwa waktu inkubasi dan perbedaan konsentrasi mempengaruhi produktivitas crude enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus niger* yang diukur dengan prosentase kadar protein.

Keywords: Konsentrasi Inokulum, Waktu Inkubasi, Crude enzim, selulase, *Aspergillus niger*.

1. PENDAHULUAN

Aspergillus niger merupakan salah satu spesies kapang potensial yang memiliki kemampuan selulolitik. *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan cepat, diantaranya digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat, pembuatan enzim amylase, pektinase, amiloglukosidase, dan selulase. *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan suhu 35°C - 37°C (optimum), 6°C - 8°C (minimum), 45°C - 48°C (maksimum) dan memerlukan oksigen yang cukup (Fransiska C Sinaga *et al.* 2012:2).

Karena kemampuan selulolitiknya, kapang *Aspergillus niger* ini dapat ditumbuhkan pada media yang kaya dengan selulosa sebagai contoh adalah jerami padi. Jerami padi merupakan limbah pertanian terbesar di Indonesia. Produksi per hektar sawah bisa mencapai 12-15 ton bahan kering setiap kali panen, tergantung lokasi dan varietas tanaman. Sejauh ini, pemanfaatan jerami padi sebagai pakan ternak baru mencapai 31-39 %, sedangkan yang dibakar atau dimanfaatkan sebagai pupuk 36-62 %, dan sekitar 7-16 % digunakan untuk keperluan industri (Safan. wordpress. com, dalam Zulfatus Sa'adah 2008:2).

Jerami mengandung lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Kandungan selulosa yang cukup besar, yaitu sekitar 39%, sehingga jerami padi dapat dimanfaatkan untuk memproduksi enzim selulase. Penggunaan jerami padi sebagai substrat dalam

produksi selulase dapat menambah nilai ekonomi pada jerami padi itu sendiri (Safan.wordpress.com dalam Zulfatus Sa'adah 2008:2). Kegunaan dari kapang *Aspergillus niger* ini dapat dijadikan sebagai bahan olahan di industri-industri, contohnya saja di industri kertas kapang *Aspergillus* yang mengandung selulase juga mengandung xilanase yang mampu dijadikan sebagai bahan pemutih atau bleaching. Kapang *Aspergillus niger* juga dapat digunakan pada bidang industri tekstil dan sebagai bahan makanan dan bahan pangan ruminansia. Penelitian ini membahas tentang pengaruh perbedaan konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi terhadap produktivitas crude enzim selulase dari kapang *Aspergillus niger* dengan substrat jerami padi sebagai bahan petunjuk praktikum mikrobiologi.

Kapang *Aspergillus niger*

Kapang (bahasa Inggris mold) merupakan anggota regnum Fungi (Kerajaan Jamur) yang biasanya tumbuh pada permukaan makanan yang sudah basi atau terlalu lama tidak diolah. Sebagian besar kapang merupakan anggota dari kelas Ascomycetes. *Aspergillus niger* merupakan salah satu spesies *Aspergillus* yang tidak menghasilkan mikotoksin sehingga tidak membahayakan (Gras, dalam Yanti Maryanti 2008:1). Oleh karena itu dalam penelitian ini

menggunakan *Aspergillus niger*, disamping tidak membahayakan juga mudah untuk dikembangkan.

Aspergillus niger dalam proses pertumbuhannya memerlukan oksigen yang cukup (aerobik). Spesies ini kosmopolit di daerah tropis dan subtropics dan mudah di isolasi dari tanah, udara, air, rempah-rempah, kapas, tebu, kapas, buah-buahan, ketimun, kopi, teh, coklat serta seresah tanah.

Aspergillus niger mempunyai hifa berseptat, memiliki koloni atau bulu dasar berwarna putih atau kuning dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat sampai hitam pada media Agar Dekstrosa Kentang (PDA) 25°C. Konidiospora yaitu spora yang terjadi karena ujungsuatu hifa terbelah-belah seperti tasbih (D. Dwidjoepuro, 2003: 148). Kepala konidia berwarna hitam, bulat, cenderung memisah menjadi bagian-bagian yang lebih longgar dengan bertambahnya umur. Konidiospora memiliki dinding yang halus, hialin juga berwarna coklat.

Inokulum, Inkubasi, dan Substrat

Inokulum adalah kultur mikrobia yang diinokulasikan kedalam medium pada saat kultur mikrobia tersebut pada fase pertumbuhan. Inkubasi merupakan masa antara inokulasi atau infeksi sampai pertumbuhan koloni yang karakteristik atau sampai terjadinya gejala penyakit yang khas yang ditimbulkan oleh jasad renik patogen. Inkubasi atau fermentasi adalah proses memanfaatkan kemampuan mikroba untuk mengasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. Substrat adalah reaktan dalam reaksi yang dikatalisis enzim. Substrat merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses fermentasi. Produksi enzim selulase memerlukan substrat yang biasanya berasal dari bahan berpati maupun bahan berselulosa, misalkan jerami padi.

Enzim selulase

Selulase merupakan enzim yang banyak digunakan. Beberapa Industri yang menggunakannya yaitu industri kimia, batu bara, pupuk organik, dan bahan pakan. Selain itu selulase dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi biomassa yang mengandung selulosa menjadi biofuel, seperti bioethanol (Mtui dalam Irma Alfiah (2012:1). Melihat tingginya kebutuhan selulase, perlu dilakukan produksi selulase untuk memenuhinya.

Enzim selulase diperoleh dari campuran enzim endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase. Selulase dapat diproduksi oleh jamur, bakteri, tumbuhan, dan ruminansia. Salah satu mikroorganisme yang dapat memproduksi selulase adalah jamur. Jamur berfilamen seperti *Trichoderma* dan *Aspergillus* adalah penghasil enzim selulase dan crude enzyme secara komersial (Ul-Haq, dkk. 2005 dalam Selviza, dkk. 2013:46).

2. METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel tanah

Pengambilan sampel dilakukan di Hutan Jati Grape Kab. Madiun. Tanah yang diambil yaitu bagian permukaan tanah dengan cara disisir bagian atasnya kemudian disimpan di toples dan ditutup rapat.

Pensterilan alat

- Menyiapkan semua alat yang akan digunakan (erlenmeyer, pipet tetes, tip, spatula kaca, tabung reaksi, beaker phyrex, gelas ukur, pipet miro, cawan petri).
- Membungkusnya dengan kertas koran dan untuk tabung reaksi di tutup dengan kapas dan aluminium foil.
- Mensterilkan semua alat dalam autoclave sampai suhu 121°C.

Tahap isolasi kapang dan kultur murni kapang *Aspergillus niger*

- Tanah yang sudah diambil kemudian diberi CMC dengan cara ditaburkan diatasnya.
- Disimpan selama 7 hari kemudian diencerkan dengan pengenceran 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} .
- Hasil pengenceran kemudian ditumbuhkan di media PDA di cawan petri.
- Putar cawan petri membentuk angka 8 untuk menghomogenkan suspensi kapang dan media.
- Menunggu hingga kapang berkembangbiak sampai banyak.
- Setelah kurang lebih 2 minggu menunggu tumbuhnya kapang, kemudian membuat media agar miring dengan cara membuat larutan media agar PDA yang dicampur dengan CMC dengan cara dipanaskan di atas kompor listrik.
- Selanjutnya larutan media agar dituangkan kedalam tabung reaksi kurang lebih 5ml, menutupnya dengan kapas dan aluminium foil dan alat-alat yang lain yang akan digunakan disterilkan di autoclave sampai pada suhu 121°C.
- Inokulum yang terdapat di tabung reaksi diambil dengan menggunakan ose secara aseptik kemudian digoreskan secara zig-zag pada media agar miring.

Proses Delignifikasi substrat jerami padi dan crude enzim selulase

- Menghacurkan jerami padi sampai halus dengan cara diblender.
- Kemudian melakukan delignifikasi dengan cara serbuk dari jerami padi tadi direndam dalam larutan NaOH 6% pada gelas beker sebanyak 30g selama 12 jam pada suhu kamar (30°C).
- Membersihkan atau mencuci substrat jerami padi sampai netral kemudian disaring.



- d. Keringan dengan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 10 jam
- e. Kemudian substrat serbuk jerami padi dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250ml sebanyak 5g dan menambahkan 25ml nutrisi dan menutupnya.
- f. Campuran media tadi disterilisasi di autoclave pada temperatur 1210C kemudian didinginkan.
- g. Tahapan akhir memasukkan spora kapang *Aspergillus niger* ke dalam media yang sudah disterilisasi kemudian mengaduk secara aseptis di atas shaker lalu difermentasi selama 5 hari, 7 hari, dan 9 hari, setelah itu disentrifuge dan diambil supernatannya (crude selulase).

Uji Produktivitas Enzim Selulase dan Protein dalam Enzim Selulase

Enzim selulase yang diperoleh atau yang dihasilkan kemudian di uji produktivitas selulasenya.

- a. Pengujian kadar dan analisa kandungan protein dilakukan dengan metode Biuret, metode ini memanfaatkan reaksi antar alogam Cu^{2+} dengan ikatan peptida pada protein.
- b. Kadar protein dihitung dalam satuan $\mu g/mL$ enzim.
- c. Kadar protein diukur berdasarkan indikator spektrum warna menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm.
- d. Kurva standard dibuat menggunakan Larutan Bovine Serume Albumin (BSA) 0; 100; 200; 300; 400; dan 500 $\mu g/mL$. Puspita Wahyuningtyas et, al. (2013).
- e. Analisa protein:
 - 1) 1 ml sampel diambil kemudian ditambah dengan 0,3 ml NaOH, 0,5 ml aquadest ke dalam cuvet.
 - 2) Ditambah dengan 3 ml reagen pembentuk kompleks, kemudian larutan didiamkan selama 10 menit.
 - 3) Ditambah 0,3 ml reagen folin phenol, kemudian larutan dicampur hingga homogen lalu didiamkan selama 45 menit. Absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 578 nm.
 - 4) Harga absorbansi yang diperoleh diplotkan pada kurva standar untuk mengetahui konsentrasi protein pada sampel.

Teknik Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan untuk mengetahui Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Inokulum Dan Waktu Inkubasi Terhadap Produktifitas *Crude* Enzim Selulase Dari Kapang *Aspergillus niger* Dengan Substrat Jerami Padi dilakukan variansi anava dua jalur taraf signifikan 5%, kemudian di uji lanjut dengan uji BNJ.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Adapun data yang berhasil dikumpulkan berupa data hasil uji protein pada kapang *Aspergillus niger*. Data tersebut digunakan untuk mengetahui pengaruh inokulum dan lama inkubasi terhadap *crude* enzim selulase kapang *Aspergillus niger* dengan substrat jerami padi.

Tabel 4.1 Data Hasil Pengujian Kadar Protein Kapang *Aspergillus niger*

No.	Kombinasi perlakuan	Ulangan		Rata-rata (%wb)
		I	II	
1.	K ₁ H ₁	0,06048	0,06560	0,063
2.	K ₁ H ₂	0,05502	0,05592	0,055
3.	K ₁ H ₃	0,06396	0,06570	0,065
4.	K ₂ H ₁	0,06307	0,0560	0,060
5.	K ₂ H ₂	0,05114 0	0,05309	0,052
6.	K ₂ H ₃	0,0568	0,0578	0,057
7.	K ₃ H ₁	0,0494	0,0488	0,049
8.	K ₃ H ₂	0,04568	0,03872	0,042
9.	K ₃ H ₃	0,0462	0,0471	0,047
Jumlah		0,49175	0,48873	0,490

Data penelitian menunjukkan bahwa kapang *Aspergillus niger* pada perlakuan K₁ H₃ dengan perlakuan konsentrasi inokulum 10% dan waktu inkubasi 9 menunjukkan prosentase protein palingtinggidengan kadar protein 0,12966% wb diperoleh rata-rata sebesar 0,065% wb. Sedangkan pada perlakuan K₃ H₂ dengan perlakuan konsentrasi inokulum 20% dan waktu inkubasi 7 hari merupakan prosentase terendah dengan kadar protein 0,0844% wb diperoleh rata-rata sebesar 0,042%.

Hasil pengujian hipotesis

Analisis data jumlah kadar protein menggunakan statistik anava dua jalur. Analisis statistik digunakan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi inokulum dan lama waktu inkubasi terhadap *crude* enzim selulase kapang *Aspergillus niger*. Perhitungan menggunakan anava dua jalur dinyatakan dalam tabel 4.2.

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F	
				F _{hit}	F _{tab}
Antar K	3 - 1 = 2	0,00069	0,000 345	41,1 7	4,26
Antar T	3 - 1 = 2	0,00016	0,000 86	10,0 6	4,26
Antar KT	2 x 2 = 4	0,00004	0,000 084	1,22	3,63
Galad	17 - 8 = 9	0,00007	0,000 546		
Total	18 - 1 = 17				

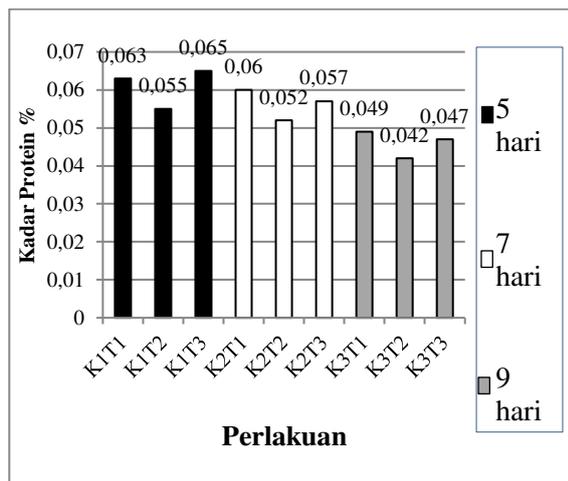
Tabel 4.2 Sidik Ragam Kadar Protein *Crude* Enzim Selulase Kpang *Aspergillus niger*.



Dari hasil analisis sidik ragam diatas diperoleh $F_{hitung} (41,17) > F_{tabel} (4,26)$ F_{tabel} untuk perbedaan waktu inkubasi dan $F_{hitung} (10,06) > F_{tabel} (4,26)$ untuk perbedaan konsentrasi inokulum.

Berdasarkan Table 4.1 data hasil pengujian kadar protein kapang *Aspergillus niger* menunjukkan bahwa waktu inkubasi dan perbedaan konsentrasi mempengaruhi produktivitas *crude* enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus niger* yang diukur dengan prosentase kadar protein.

Berikut disajikan histogram rata-rata kadar protein pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Histogram rata-rata kadar protein *crude* enzim selulase kapang *Aspergillus niger*.

Berdasarkan gambar 4.1 dapat dilihat bahwa rata-rata kadar protein tertinggi pada K1T3 (konsentrasi 10% dan waktu inkubasi 9 hari) dengan kadar protein 0,065% wb dan kadar protein terendah pada K3T2 (konsentrasi 20% dan waktu inkubasi 7hari) yaitu sebesar 0,042% wb.

Bila dikaitkan dengan hasil analisis statistik pertama menunjukkan bahwa lama waktu inkubasi mempengaruhi kadar protein yang dihasilkan. Kadar protein tertinggi pada T3 (waktu inkubasi 9 hari). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian oleh Zulfatus Sa'adah (2013:5) yang menyatakan dengan bertambahnya waktu konsentrasi protein menjadi tinggi, hal ini disebabkan pada waktu tersebut pertumbuhan mikroba telah mencapai maksimal. Meningkatnya kadar protein menunjukkan bahwa aktivitas selulase juga meningkat. Semakin lama waktu fermentasi maka kadar protein terlarut yang dihasilkan cenderung meningkat.

Bila dikaitkan dengan hasil analisis kedua menunjukkan bahwa konsentrasi inokulum mempengaruhi kadar protein yang dihasilkan oleh kapang selulolitik dengan menggunakan substrat jerami padi, dengan kadar protein tertinggi pada K1 (konsentrasi 10%). Menurut Septiningrum C Sinaga, et al. (2013:6) jika jumlah inokulum lebih besar dari 10% maka akan terjadi kompetisi jamur untuk mendapatkan nutrisi didalam proses fermentasi akibatnya biomassa yang terbentuk tidak maksimum sehingga produksi selulase menjadi berkurang Pada

konsentrasi inokulum 15% mengalami penurunan, hal ini disebabkan karena masa optimum kapang *Aspergillus niger* telah mencapai nilai maksimal dan jugadipengaruhi oleh substrat yang digunakan tidak mengalami pengayakan dengan baik sehingga mikroorganismenya sulit untuk melakukan hidrolisis.

Bila dikaitkan dengan hasil analisis ketiga menunjukkan bahwa interaksi lama fermentasi dan perbedaan konsentrasi inokulum tidak berpengaruh nyata terhadap kadar protein yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus niger*. Hal ini terkait dengan variasi yang sangat besar terjadi di antara ulangan. Walaupun demikian, untuk produktivitas *crude* enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus niger* yang diukur dengan prosentase kadar protein waktu inkubasi 5 hari lebih baik daripada 7 hari. Kadar protein pada kapang *Aspergillus niger* yang cukup tinggi pada hari ke-5 dengan rata-rata 0,057%, sehingga terdapat kemungkinan, selain memproduksi enzim selulase, kapang ini juga memproduksi enzim lain. Produktivitas kadar protein yang tinggi ini diikuti dengan aktivitas spesifik yang rendah. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Ida Bagus Wayan Gunam et. al. (XV (2):32) yang menyatakan pada kondisi lingkungan dengan kadar protein yang dihasilkan tinggi maka aktivitas enzim juga tinggi, dan sebaliknya pada kondisi dimana kadar proteinyang dihasilkan rendah maka terlihat adanya aktivitas enzim yang dihasilkan rendah.

Petunjuk Praktikum

Hasil penelitian pengaruh lama inkubasi dan perbedaan inokulum kapang *Aspergillus niger* terhadap produktivitas *crude* enzim selulase dapat dijadikan sebagai bahan petunjuk praktikum mata kuliah Mikrobiologi bab Isolasi Kapang. Fungsi dari penelitian adalah sebagai dasar untuk mengembangkan pengetahuan serta kesadaran mahasiswa terhadap potensi yang dimiliki oleh alam sekitar dengan metode praktikum, dengan susunan sistematika panduan praktikum sebagai berikut :

- Tujuan Praktikum
- Ringkasan Materi
- Alat dan Bahan
- Prosedur Kerja
- Hasil Praktikum
- Pembahasan
- Pertanyaan diskusi
- Kesimpulan

Adapun penjelasan dari masing-masing sistematika sebagai berikut. (1) Tujuan Praktikum, berisi tentang tujuan yang harus dicapai dari dilakukannya praktikum tersebut. (2) Ringkasan Materi, berisi tentang ringkasan dasar teori materi yang akan dijadikan bahan praktikum. (3) Alat dan Bahan, berisi tentang alat dan bahan yang digunakan dalam praktikum tersebut. (4) Prosedur Kerja, berisi tentang langkah-langkah bagaimana praktikum tersebut dilaksanakan. (5) Hasil Praktikum, berisi tentang hasil pengamatan dalam penelitian. (6) Pembahasan, berisi tentang pembahasan data hasil praktikum. (7) Pertanyaan diskusi, berisi tentang

pertanyaan tentang praktikum yang harus dikerjakan oleh mahasiswa. (8) Kesimpulan, berisi tentang kesimpulan hasil praktikum.

Penentuan kualitas Buku Petunjuk Praktikum Mikrobiologi yang telah disusun didasarkan pada dua validator, satu dosen pembimbing dan satu dosen pengampu mata kuliah Mikrobiologi. Penilaian dilakukan dengan cara mengisi lembar penilaian berbentuk check list yang telah disediakan berdasarkan kriteria penilaian. Instrumen penilaian terdiri dari tiga aspek yaitu (A) aspek kesesuaian SK dan KD, (B) aspek kelayakan penyajian, dan (C) aspek penilaian bahasa.

Berdasarkan uji validasi petunjuk praktikum yang sudah dilakukan, validator I mendapat nilai 7,0 dengan kriteria "CUKUP". Catatan dari validator I yaitu cover depan sangat menarik, dasar teori tambahkan dari referensi yang paling muthakhir, perhatikan sistematika dalam penulisan, penggunaan istilah cukup. Validator II mendapatkan nilai 9,3 dengan kriteria "SANGAT BAIK". Nilai dari kedua validator kemudian dirata-rata menjadi nilai kualitas Buku Petunjuk Praktikum Mikrobiologi secara keseluruhan. Petunjuk praktikum ini sudah layak digunakan dipangangan. Nilai rata-rata yang didapat dari ke-2 validator sebesar 87,5 dengan kriteria "BAIK".

4. KESIMPULAN

Ada pengaruh lama inkubasi terhadap produktivitas crude enzim selulase oleh kapang *Aspergillus niger* dengan substrat jerami padi yang diukur dari kadar protein yang dihasilkan.

Ada pengaruh perbedaan konsentrasi inokulum terhadap terhadap produktivitas crude enzim selulase oleh kapang *Aspergillus niger* dengan substrat jerami padi yang diukur dari kadar protein yang dihasilkan.

Tidak ada pengaruh interaksi lama inkubasi dan perbedaan inokulum terhadap produktivitas crude enzim selulase oleh kapang *Aspergillus niger* dengan substrat jerami padi yang diukur dari kadar protein yang dihasilkan.

Kadar protein tertinggi yang dihasilkan pada perlakuan K1T3 (konsentrasi 10% dan waktu inkubasi 9 hari) dengan kadar protein 0,065% wb dan kadar protein terendah pada K3T2 (konsentrasi 20% dan waktu inkubasi 7 hari) yaitu sebesar 0,042% wb.

Prosedur dan hasil penelitian tentang pengaruh perbedaan konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi terhadap produktivitas crude enzim selulase dari kapang *Aspergillus niger* dengan substrat jerami padi dapat dijadikan sebagai bahan petunjuk praktikum mikrobiologi.

5. DAFTAR PUSTAKA

_____. 2012. *Morfologi Kapang Pada Makanan*.
D. Dwidjoepuro. 2003. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*.
Percetakan Kerya Unipress. Jakarta. Hal.148.
Fadli. 2009. Blogspot. *Aspergillus niger*.
<http://linkfadliblog.blogspot.com/2009/04/>

aspergillus-niger.html. Diunduh pada 18 Maret 2014 (20.40).

Fransiska C Sinaga. 2012. *Pengaruh Ph Dan Inokulum Pada Pemanfaatan Limbah Kulit Nenas Untuk Produksi Enzim Selulase*. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Riau. http://repository.unri.ac.id/xmlui/bitstream/handle/123456789/291/TKS_FRA_0707112558_2012_JURNAL.pdf. Diunduh pada 3 April 2014 (11.50)

Ida Bagus Wayan Gunam. 2011. *Produksi Selulase Kasar Dari Kapang Trichoderma Viride Dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebu Dan Lama Fermentasi*. *Jurnal Biologi XV (2) : 29-33*.

Irma Alfiah. 2012. *Produksi Enzim Selulase Oleh Penicillium Sp. Pada Suhu, Ph Dan Limbah Pertanian Yang Berbeda*. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS). Surabaya

Maria Bintang. 2010. *Biokimia teknik penilaian*. Jakarta. Erlangga

Nadiem Anwar. 2005. *Optimasi Produksi Enzim Selulase untuk Hidrolisis Jerami Padi*. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri ITS. Surabaya

Puspita Wahyuningtyaset, al. 2013. *Studi Pembuatan Enzim Selulase Dari Mikrofungi Trichoderma reesei Dengan Substrat Jerami Padi Sebagai Katalis Hidrolisis Enzimatis Pada Produksi Bioetanol*. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. Vol. 1 No. 1.

Rizka Anindyah Novitasari. 2013. *Identifikasi Keanekaragaman Zooplankton Di Waduk Bening Saradan Sebagai Bahan Penyusun Panduan Praktikum Materi Klasifikasi Makhluk Hidup Di SMA*. *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Biologi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. IKIP PGRI Madiun. Madiun.

Selviza Safaria. 2013. *Efektivitas Campuran Enzim Selulase Dari Aspergillus niger Dan Trichoderma reesei Dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa*. *Jkk*. Volume 2 (1), Hal. 46-51.

Seminar Nasional. Ahimsa Kandi Sariri et al. 2012. *Perbandingan Aspergillus niger Dalam Fermentasi Daun Trembesi (Albizia Saman) Untuk Meningkatkan Kualitas Pakan Ternak Ruminansia*. *Seminar Hasil Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat*.

Subandi. 2010. *Mikrobiologi*. PT. Remaja Rosdakarya. Bandung. Hal 102.

Sugiyono. 2012. *Metodologi Penelitian Pendidikan Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif, Dan R&D*. Bandung: Alfabeta.

Tresnawati Purwadaria, T. 2003. *Perbandingan Aktivitas Enzim Selulase Dari Bakteri Dan Kapang Hasil Isolasi Dari Rayap*. *Jitv* Vol. 8 No.4. Hal. 213-219.

Wuryanti. 2008. *Pengaruh Penambahan Biotin Pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel Aspergillus niger*. *BIOMA*. Vol. 10, No. 2. Hal. 46-50.



- Yanty Maryanty et, al. 2010. Produksi Crude Lipase Dari *Aspergillus niger* Pada Substrat Ongok Menggunakan Metode Fermentasi Fasa Padat. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang B-12-1. *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*. Hal 4-5.
- Zulfatus Sa'adah et, al. 2009. *Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus niger Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat*. Fakultas Teknik UNDIP. Semarang.

