PRODUKSI DAN FRAKSINASI ENZIM SELULASE DARI *Aspergillus niger*

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Sains di bidang studi Kimia pada Fakultas MIPA

Oleh :
HELIYANTI
08091003029

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2014

S
547.707
Hel
p
2014

R.25267/25828

PRODUKSI DAN FRAKSINASI ENZIM SELULASE DARI *Aspergillus niger*

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Sains di bidang studi Kimia pada Fakultas MIPA

Oleh :
HELIYANTI
08091003029

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2014

HALAMAN PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Produksi dan Fraksinasi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger*
Nama Mahasiswa : Heliyanti
NIM : 08091003029
Jurusan : Kimia
Telah disetujui untuk disidangkan pada tanggal 31 Desember 2013.

Indralaya, 23 Desember 2013

Pembimbing:

1. Dra. Julinar, M.Si .....

2. Dr. Elfita, M.Si .....

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Produksi dan Fraksinasi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger*

Nama Mahasiswa : Heliyanti

NIM : 08091003029

Jurusan : Kimia

Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 31 Desember 2013 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukan yang diberikan.

Indralaya, Januari 2014

Pembimbing :

1. Dra. Julinar, M.Si .....

2. Dr. Elfita, M.Si .....

Pembahas:

3. Aldes Lesbani, Ph.D .....

4. Hermansyah, Ph. D .....

5. Dra. Setiawati Yusuf, M.S .....

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Sriwijaya

Dr. Saheryanto, M.Si

NIP.196006251989031006

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama mahasiswa	: Heliyanti
NIM	: 08091003029
Fakultas/Jurusan	: Mipa/Kimia

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, Januari 2014
Penulis,

Heliyanti
08091003029

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama	: Heliyanti
NIM	: 08091003029
Fakultas/Jurusan	: Mipa/Kimia
Jenis Karya	: Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya "hak bebas royalti non-ekslusif (*non-exclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

"Produksi dan Fraksinasi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* ". Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalty non-ekslusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/ memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, Januari 2014.
Yang menyatakan,

Heliyanti
08091003029

HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO

Halaman Persembahan

Kupersembahkan skripsi ini kepada :

Umak dan Aba ku tersayang

Ayuk, kakak dan adikku Tercinta,

Dan Almamater ku

Motto

" Jangan pernah merasa rendah diri dan takut kepada manusia karena dihadapan Allah semua manusia adalah sama kecuali iman dan ketakwaannya"

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas karunia dan rahmatNya maka skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat dan salam penulis sampaikan kepada nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat dan para pengikutnya hingga akhir zaman.

Ucapan terimakasih dan penghargaan yang tulus penulis sampaikan kepada Ibu Dra. Julinar, M.Si selaku pembimbing pertama dan Ibu Dr. Elfita, M.Si selaku pembimbing kedua. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Ir. Muhammad Irfan, M.T selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam.
2. Bapak Dr. Suheryanto, M.Si dan Ibu Widia Purwaningrum, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia dan Sekretaris Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam.
3. Ibu Dra. Julinar, M.Si selaku pembimbing akademik.
4. Ibu Dra. Julinar, M.Si dan Ibu Dr. Elfita, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah membimbing dengan penuh kesabaran dan pengertian serta yang selalu meluangkan waktu dan memberikan motivasi agar skripsi ini dapat selesai sesuai dengan yang diharapkan.
5. Bapak Hermansyah, Ph.D, Bapak Aldes Lesbani, Ph.D dan Ibu Dra. Setiawati Yusuf, M.S selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran dan masukan sehingga skripsi ini menjadi lebih layak untuk dibaca.

6. Bapak Almunadi, T. Panagan M.Si, Ibu yanti, Ibu nur dan ibu yuniar yang telah membantu selama penelitian di Laboratorium.
7. Seluruh staff (mbak novi dan roni) serta dosen jurusan Kimia FMIPA UNSRI.
8. Umak dan aba yang telah banyak berkorban tenaga, waktu dan materi. Umak dan aba terhebat yang tak henti-hentinya mendo'akan, memberikan dukungan, nasehat dan perhatian agar aku menjadi manusia yang lebih bermanfaat dan beradab.
9. Yuk lina, kak hendri, yuk lela, kak yanto, yuk vina, mamas, jupri, moza, leta, fifa, dan lifa yang selalu memberikan dukungan dan nasehat hingga aku bisa menjadi lebih kuat menghadapi hambatan terutama selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
10. Dua sahabatku, mbak Harwindah Olivia Wijayanti dan Ricce Fatsiami Martha Tilaar yang tak pernah bosan mendengar keluh kesah dan ceritaku.
11. Teman sekosanku, mbak win, ricce, dina, dan cek nurul yang telah sabar menghadapi semua sikap dan prilaku yang mungkin membuat kalian tersinggung dan marah.
12. Teman seperjuangan di Laboratorium Biokimia, cek nurul, cek iis, mbak linggar, mbak kiki, mbak tami, mbak silvi, cek dedet, cek yunichong, ines, hari, dewi, aam, selly, dan kristy.
13. Teman-teman angkatan 2009, mbak win, ricce, dina, bang adi, marini, mbak eis, cek nurul, cek iis, elyn, cek ty, caca, cek dedet, mila, ipeh, ines, fitri, okta, yosinek, cek yunichong, cek winda, cek umi, jojo, astri, mbak

wiek, yuni, cek elia, puspa, desy, cek tina, mochi, abi, daus, bang edu, itoex, angga, bang freng, taufik, kak icha, kak yitno, angel, barus, lian, anggreni, siska, laura, dan mamas.

14. Adik-adik tingkatku 2010, 2011, 2012 dan 2013 khususnya eva, odi, yogi, atul, uli, umbad, fatun, anamar'atush, angga, beca', mina, desi, tarmizi, ayu, eis, taufik (fisika), hade, riyanti, yeka dan muryati.
15. Semua pihak yang telah membantu penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini.

Wassalamualaikum wr wb.

Indralaya, Januari 2014

Penulis

Production and Purification Enzyme Cellulase from *Aspergillus niger*

Heliyanti

NIM : 08091003029

ABSTRACT

The research about produced cellulase by *Aspergillus niger* has been done using CMC (*Carboxy Methyl Cellulose)* substrate. The identification has been performed according to the growing phase of *A. niger*; whether the cellulase enzyme is intracellular or extracellular; the optimum conditions of producing cellulase enzyme such as fermentation time, concentration of CMC substrate, and the pH of the medium. The enzyme's extract is resulted the activity testing with DNS (Dinitrosalisilat) method. Then the enzyme's extract was fractinated with ammonium sulphate and done to tested activity and specific activities. From the growing curve, the growing phase of *A. niger* was obtained which are the 3rd day to the 9th. Based observation of activity intracellular and extracellular showed that enzyme produced by *A. niger* was extrasellular. The observation of cellulase enzyme activity from *A. niger* showed that on fermentation time the 10th day with the substrate concentration of 3 % CMC dan medium pH 6, is the optimum condition for producing cellulase enzyme from *A. niger* with the activity is resulted 0,282 IU/mL. Based on the fractination of cellulase enzyme produced by *A. niger* resulted 2 fractions, which are the fractination of 20 – 40 % ammonium sulphate with specific obtained 1,166 IU/mg.

Keywords : *Aspergillus niger,* cellulase enzyme, CMC (*Carboxy Methyl Cellulose),* enzyme activity

Produksi dan Fraksinasi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger*

Heliyanti
NIM : 08091003029

ABSTRAK

Penelitian tentang produksi enzim selulase oleh *Aspergillus niger* telah dilakukan dengan menggunakan substrat CMC (*Carboxy Methyl Cellulose).* Pengamatan dilakukan terhadap fase pertumbuhan *A. niger;* apakah enzim selulase bersifat intraseluler atau ekstraseluler; kondisi-kondisi optimum produksi enzim selulase seperti lama fermentasi, konsentrasi substrat CMC dan pH media. Ekstrak enzim yang dihasilkan diuji aktivitasnya dengan metode DNS (Dinitrosalisilat). Selanjutnya ekstrak enzim difraksinasi dengan amonium sulfat dan dilakukan uji aktivitas dan aktivitas spesifiknya. Dari kurva pertumbuhan didapatkan fase pertumbuhan *A. niger* yaitu pada hari ke-3 sampai hari ke-9. Berdasarkan uji aktivitas enzim intraseluler dan ekstraseluler menunjukkan bahwa enzim selulase yang dihasilkan oleh *A. niger* bersifat ekstraseluler. Hasil pengamatan terhadap aktivitas enzim selulase dari *A. niger* diperoleh kondisi optimum lama fermentasi pada hari ke-10 dengan konsentrasi substrat CMC 3% dan pH media 6 dengan aktivitas sebesar 0,282 IU/mL. Hasil fraksinasi enzim selulase yang diproduksi oleh *A. niger* terdapat pada fraksi 2, yaitu fraksinasi dengan amonium sulfat 20-40% dengan aktivitas spesifik sebesar 1,166 IU/mg.

Kata kunci : *Aspergillus niger,* enzim selulase, CMC (*Carboxy Methyl Cellulose),* aktivitas enzim

UPT PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
NO. DAFTAR : 140305
TANGGAL : 23 JAN 2014

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRACT	x
ABSTRAK	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Selulosa	5
2.2 Enzim Selulase	6
2.3 Aktivitas Enzim Selulase	8
2.4 Pemurnian Enzim	10
2.5 Sumber Selulase	12
2.6 *Aspergillus niger*	13
2.7 Pertumbuhan *Aspergillus niger*	15
2.8 Fermentasi	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan	19
3.2.1 Alat yang Digunakan	19
3.2.2 Bahan yang Digunakan	19
3.3 Prosedur Penelitian	20
3.3.1 Persiapan Media	20
3.3.1.1 Persiapan Media PDA	20
3.3.1.2 Persiapan Media Inokulum	20
3.3.1.3 Persiapan Media Fermentasi	20
3.3.2 Persiapan Mikroba	21
3.3.2.1 Stok *Aspergillus niger*	21
3.3.2.2 Peremajaan *Aspergillus niger*	21
3.3.2.3 Penyiapan Inokulum	21
3.3.3 Pembuatan Kurva Pertumbuhan *Aspergillus niger*	21
3.3.4 Proses Fermentasi untuk Produksi Enzim Selulase	22

3.3.4.1 Pengaruh Lama Fermentasi 22
3.3.4.2 Pengaruh Konsentrasi Substrat 22
3.3.4.3 Pengaruh pH 23
3.3.5 Ekstraksi Enzim Selulase Intraseluler 23
3.3.6 Ekstraksi Enzim Selulase Ekstraseluler 23
3.3.7 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry 24
3.3.7.1 Pembuatan Kurva Standar BSA 24
3.3.7.2 Analisa Kadar Protein dengan Metode Lowry 24
3.3.8 Uji Aktivitas Enzim Selulase dengan Metode DNS 25
3.3.8.1 Uji Aktivitas Enzim Selulase 25
3.3.8.2 Pembuatan Kurva Glukosa Standar 25
3.3.9 Pemurnian Enzim Selulase dengan Amonium Sulfat 25
BAB IV PEMBAHASAN 27
4.1 Kurva Pertumbuhan *Aspergillus niger* 27
4.2 Aktivitas Enzim Ekstraseluler dan Intraseluler dari *A. niger* 29
4.3 Penentuan Kondisi Optimum Enzim Selulase 31
4.3.1 Pengaruh Lama Fermentasi 31
4.3.2 Konsentrasi Substrat Optimum 32
4.3.3 pH Optimum 34
4.4 Aktivitas Spesifik Enzim Selulase dengan Fraksinasi Amonium Sulfat 36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 39
DAFTAR PUSTAKA 40
LAMPIRAN 44
DAFTAR RIWAYAT HIDUP 56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur selulosa 5
Gambar 2. Mekanisme aktivitas enzim selulase 9
Gambar 3. Proses pengendapan protein 11
Gambar 4. *Aspergillus niger* 13
Gambar 5. Kurva pertumbuhan 17
Gambar 6. Kurva pertumbuhan *A.niger* 27
Gambar 7. Aktivitas enzim selulase ekstraseluler dan intraseluler pada variasi lama fermnetasi 29
Gambar 8. Aktivitas enzim selulase dan kadar protein pada pengaruh lama Fermentasi 31
Gambar 9. Kadar protein dan aktivitas enzim selulase pada variasi konsentrasi substrat CMC 33
Gambar 10. Kadar protein dan aktivitas enzim selulase pada variasi pH 35
Gambar 11. Aktivitas enzim selulase dan aktivitas spesifik pada berbagai fraksi pengendapan amonium sulfat 37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja 44
Lampiran 2. Contoh perhitungan penentuan berat kering massa sel *A.niger*... 45
Lampiran 3. Contoh perhitungan penentuan kadar protein..... 46
Lampiran 4. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar BSA..... 48
Lampiran 5. Contoh perhitungan aktivitas enzim selulase 49
Lampiran 6. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar D-glukosa..... 51
Lampiran 7. Contoh perhitungan aktivitas spesifik enzim selulase..... 52
Lampiran 8. Pembuatan larutan 53
Lampiran 9. Gambar hasil pengamatan..... 54

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selulosa termasuk polisakarida yang melimpah di alam. Hampir semua bagian tumbuhan memiliki selulosa, karena selulosa merupakan unsur utama penyusun kerangka tumbuhan. Selulosa tersusun dari monomer-monomernya yaitu glukosa yang dapat dipecah melalui proses hidrolisis. Hidrolisis selulosa untuk menghasilkan glukosa sebagai produk utama dikatalisis oleh enzim selulase. Enzim selulase mengkatalisis hidrolisis ikatan β-1,4 glikosidik pada molekul selulosa sehingga menghasilkan glukosa (Sinatari dkk., 2013).

Enzim selulase memegang peranan penting dalam proses biokonversi limbah-limbah organik berselulosa menjadi glukosa yang dapat dijadikan sebagai sumber protein sel tunggal, bahan baku industri pangan dan obat-obatan serta dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon pada pertumbuhan mikroorganisme (Gunam dkk., 1997). Produksi enzim selulase secara komersial biasanya menggunakan mikroorganisme selulolitik dari jenis kapang dan bakteri dalam media fermentasi. Kapang yang bisa menghasilkan enzim selulase adalah *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, dan lain-lain (Arnata, 2009).

Kapang *A. niger* merupakan salah satu mikroorganisme yang memiliki potensi yang cukup baik untuk menghasilkan enzim. Beberapa jenis enzim yang penting penerapannya dalam bidang industri pertanian yang dapat dihasilkan oleh *A. niger* antara lain adalah amilase dan selulase (Frasier dan Westhoff, 1981).

Beberapa penelitian sebelumnya yang menggunakan *A. niger* sebagai penghasil enzim selulase pada berbagai media fermentasi dan substrat menghasilkan aktivitas selulase yang bervariasi, diantaranya oleh Gunam dkk. (2010) melakukan penelitian di Yogyakarta melaporkan aktivitas enzim selulase yang diperoleh sebesar 0,037 unit/mL dengan kadar protein 0,362 mg/ml. Penelitian lain dilakukan oleh Safaria dkk. (2013) melakukan penelitian di Tanjungpura melaporkan bahwa *A. niger* mampu memproduksi enzim selulase dengan aktivitas sebesar 0,036 unit/mL. Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan dari penelitian di atas sangat bervariasi yang diduga penyebabnya adalah adanya perbedaan kondisi dari media produksi enzim selulase. Adapun Beberapa faktor yang mempengaruhi fermentasi diantaranya lama fermentasi, konsentrasi substrat, dan pH media. Nilai pH optimum untuk memproduksi enzim bervariasi tergantung pada jenis kapang, media fermentasi dan substrat yang digunakan (Murphi, 1994).

Oleh karena itu untuk mengetahui kondisi optimum produksi enzim selulase dengan aktivitas yang tinggi dilakukan variasi kondisi fermentasi yang terdiri dari lama fermentasi, konsentrasi substrat dan pH media. Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh *A. niger* dapat ditingkatkan melalui tahap pemurnian menggunakan fraksinasi amonium sulfat dengan membandingkan kadar protein dan aktivitas enzim selulase yang diperoleh setelah tahap pemurnian (Sari dkk., 2008).

1.2 Perumusan Masalah

Enzim selulase memegang peranan penting dalam proses biokonversi limbah-limbah organik berselulosa menjadi glukosa. Kapang *A. niger* merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat dijadikan sebagai produsen enzim selulase. Beberapa penelitian sebelumnya yang memanfaatkan limbah berselulosa dalam pembuatan bioetanol yang menggunakan *A. niger* sebagai produsen selulase memberikan hasil yang kurang memuaskan. Diduga salah satu penyebabnya adalah kurangnya aktivitas enzim selulase yang diproduksi oleh *A. niger* yang digunakan untuk menghidrolisis selulosa. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian tentang produksi enzim selulase untuk mengetahui bagaimana kondisi optimum produksi enzim selulase oleh *A. niger* pada substrat CMC dan uji aktivitas enzim selulase serta pemurniannya dengan fraksinasi amonium sulfat.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Membuat kurva pertumbuhan *A. niger*.
2. Menguji aktivitas enzim ekstraseluler dan intraseluler dari *A. niger*.
3. Menentukan kondisi optimum produksi enzim selulase dari *A. niger* dengan variasi lama fermentasi, konsentrasi substrat dan pH.
4. Menentukan aktivitas spesifik enzim selulase setelah fraksinasi dengan amonium sulfat.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan informasi mengenai kondisi-kondisi optimum yang terdiri dari lama fermentasi, konsentrasi substrat dan pH media untuk produksi enzim selulase oleh kapang *A. niger* dan dapat memberikan informasi bahwa pentingnya tahap pemurnian untuk menghasilkan enzim selulase dengan aktivitas yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Arnata. (2009). *Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol dari Ubi Kayu Menggunakan Trichoderma viride, Aspergillus niger dan Saccharomyces cerevisiae*. Thesis Master, IPB, Bogor.

Aulani'am. (2005). *Protein dan Analisisnya*. Cetakan Pertama. Malang : Citra Mentari Group.

Bhat, M.K. (1997). *Cellulose Degrading Enzymes and Their Potential Industrial Applications*, Food Macromolecul Science Departement, Institute pf Food Research. Biotechnology Advances. Vol.15. 583-620.

Enari, T.M. (1983). *Microbial Cellulase*. Applied Science Publisher, New York.

Fardiaz, S. (1989). *Mikrobiologi Pangan*. PAU IPB dengan LSI IPR Bogor.

Frazier dan Westhoff. 1981. *Food Microbiology*. Tata Mc Graw Hill Publ. Co. Ltd. New York

Gandjar, Indrawati. (2006). *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta : Yayasan Obor Indonesia.

Gunam, I.B.W. (1997). *Perlakuan Kimiawi Ampas Tebu Tanpa Pencucian Sebagai Perlakuan Pendahuluan untuk Hidrolisis Enzimatis Selulosanya*. Tesis Master, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Program Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Gunam, I.B.W., Buda, K., Guna, I M.Y.S. (2010). Pengaruh Perlakuan Delignifikasi dengan Larutan NaOH dan Konsentrasi Substrat Jerami Padi terhadap Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger NRRL A-II*, 264. *J. Biologi*, 14(2): 55-61.

Gunam, I. B.W., Wayan, R. A dan Ida Bagus N.S.D. (2011). Produksi Selulase Kasar dari Kapang *Trichoderma viride* dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebu dan Lama Fermentasi. *J. Biologi* , XV (2) : 29 – 33. ISSN : 1410 5292

Handayani. (2002). *Pengaruh Suhu Inkubasi terhadap Aktifitas Enzim Selulase Isolat Bakteri Selulolitik dari Komunitas Mangrove Teluk Awur Jepara Jawa Tengah*. Undergraduate thesis, FMIPA Undip.

Hardjo, N. S. Indrasti, B. Tajuddin. (1989). *Biokonveksi : Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB

Ikram-ul-haq, Javed M. M., Tehmina S. K. and Zafar S. (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.

Ismanto, S.D. (1999). *Studi Pemanfaatan Serat Rumput Alang-Alang Untuk Papan Serat Semen.* Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Padang.

Istiqlalah, Atik. (2006). *Biodegradasi Membran Selulosa Asetat Berpori dari Limbah Kulit Nanas Menggunakan Bacillus subtillis.* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Koelman, J. dan Roehm. 2005. *Color Atlas Biochemistry.* 2nd ed. Marburg thieme.

Kurniawati, H.D. (2012). *Seleksi, Karakterisasi, dan Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi sebagai Penghasil Enzim Protease.* Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.

Lee, C. K, dkk. (2011). Production and Optimization of Cellulase Enzyme Using *Aspergillus niger USM AI 1* and Comparison with *Trichoderma reesei* via Solid State Fermentation System. *SAGE-B.R. International* Vol. 2011, Article ID 658493, 6 pages.

Lehninger. 1997. *Dasar – Dasar Biokimia.* Jilid 1. Jakarta : Erlangga.

Lowry, O., Resebrough, J., Farr, A., dan Rondall, R.(1951). Protein Measurement with The Folin Phenol Reagent. *J. Bio. Chem.*, 193, 265-275

Mandels, M. and E.T. Reese. (1957). Induction of Cellulose in *Trichoderma viride* as influenced by Carbon Sources and Metals. *J.Bacteriol.* 73 : 269

Maranatha, Besty. (2008). *Aktivitas Enzim Selulase Isolat Asal Indonesia pada Berbagai Substrat Limbah Pertanian.* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Mardiah, E dan Armaini. (1995). Fermentasi Menghasilkan Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei. J.Kimia Andalas.* Vol 2. No.1, hal 13-18

Masfufatun. (2010). *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase.* Fakultas Kedokteran, Universitas Wijaya Kusuma, Surabaya.

McKee, T. dan McKee, J.R. (2003). Biochemistry: *The Moleculer Basis of Life.* New York: McGraww-Hill.

Monica, A.D.N. (2007). *Studi Aktivitas Spesifik Selulase dari Lactobacillus collinoides yang Dimurnikan dengan Pengendapan Bertingkat Amonium Sulfat*. Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

Murphi, Hery. (1994). *Pemanfaatan Kulit Buah Pisang untuk Produksi Enzlm Selulase oleh Trichoderma viride, Aspergillus niger dan Aspergillus oryzae.* Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Rismijana, Jenni, Iin Naomi Indriani dan Tutus Pitriyani. (2012). Penggunaan Enzim Selulase-Hemiselulase pada Proses Deinking Kertas Koran Bekas. *J.Matematika dan Sains* Vol. 8 No. 2, Juni 2003, hal 67 – 71

Sa'adah, Z., Ika S,N. Abdullah. (2010). *Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus niger Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP, Semarang.

Safaria, Selviza, Nora Idiawati, dan Titin Anita Zaharah. (2013). Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *JKK*, vol. 2 (1), hal. 46-51. ISSN 2303-1077

Saraswati, R., Edy. S., Erny, Y. (2010). *Organisme Perombak Bahan Organik.* Balai Penelitian Tanah. Bogor

Sari, I.M., Noverita dan Yulneriwarni. (2008). Pemanfaatan Jerami Padi dan Alang-Alang dalam Fermentasi Etanol Menggunakan Kapang *Trichoderma viride* dan Khamir *Saccharomycess cerevisiae*. *VIS VITALIS.* ISSN 1978-9513.

Sinatari, H.M., Aminin A.L.N., Sarjono, P.R. (2013). Pemurnian Selulase dari Isolat Kb Kompos Termofilik Desa Bayat Klaten Menggunakan Fraksinasi Amonium Sulfat. *Chem info* Vol 1, No 1, Hal 130 - 140, 2013.

Suhartono, M.T . (1989). *Enzim dan Bioteknologi*. IPB, Bogor.

Supriyati. (2003). Fermented Cassava Waste and Its Utilization in Broiler Chickens Rations. *JITV* 8(3): 146-150.

Suriawiria, Husni. 2005. *Mikrobiologi Dasar.* Jakarta : Papas Sinar sinanti.

Winarno, F.G. dan S. Fardiaz. 1979. Biofermentasi dan Biosintesa Protein. Bandung : Angkasa.

Wuryanti. (2008). Pengaruh Penambahan Biotin Pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel *Aspergillus niger. BIOMA.* Vol. 10, No. 2, 2008, Hal. 46-50, ISSN: 1410-8801.

Yani, Alvi. (1993). Isolasi Enzim Selulase dari *Aspergillus Niger. Pros. Seminar hasil Litbang SDH.* Balitbang Mikrobiologi, Puslitbang Biologi-Lipi, Bogor.

Yin, L.-J., dkk., (2010). Purification and Characterization of a Cellulase from Bacillus subtilis YJ1. *J.Marine. Sci. and Technol.* Vol. 18, No. 3, pp. 466-471.

Yurnaliza. (2002). *Senyawa Khitin dan Kajian Aktivitas Enzim Mikrobial Pendegradasinya.* Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi, Universitas Sumatera Utara, Medan.