

Seleksi dan Aktivitas Enzim Selulase Aktinomisetes Lokal Riau pada Media Lignoselulosa Ampas Tebu

ANALIA PESRITA¹, TETTY MARTA LINDA^{1*}, SILVERA DEVI²

¹Jurusan Biologi Fakultas Matematika Ilmu pengetahuan Alam Universitas Riau

²Jurusan Kimia Fakultas Matematika Ilmu pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Bina Widya, Jl. H.R Soebrantas, Panam, Pekanbaru 28293, Indonesia

*tetty.martalinda@lecturer.unri.ac.id

ABSTRAK

Ampas tebu merupakan limbah pertanian yang mengandung selulosa, hemiselulosa, dan lignin sehingga dapat digunakan sebagai media untuk menumbuhkan mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim selulase, xylanase dan ligninase. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat kemampuan isolat aktinomisetes lokal dalam menghidrolisis substrat pada medium CMC (*Carboxymethyl cellulose*) dan ampas tebu. Sebanyak 13 isolat aktinomisetes lokal diseleksi dan diuji aktivitas enzim selulase yang dihasilkannya pada medium CMC dan medium ampas tebu. Seleksi dilakukan secara kualitatif berdasarkan rasio zona bening yang terbentuk, sedangkan isolat dengan rasio tertinggi akan diuji aktivitas selulase yang dihasilkannya secara kuantitatif menggunakan dengan metode DNS (*Dinitro Salicylic Acid*). Hasil yang diperoleh menunjukkan semua isolat mampu memperlihatkan selulolitik hidrolitik selulase baik pada medium CMC dan medium ampas tebu. Rasio zona bening pada medium ampas tebu lebih tinggi dari medium CMC yaitu sebesar $40,72 \pm 0,95$ yang diperlihatkan oleh isolat L223. Uji kuantitatif dari aktivitas selulase isolat L223 sebesar $35,30 \times 10^{-3}$ U/ml.

Kata kunci: aktinomistes, ampas tebu, CMC, selulase

ABSTRACT

Bagasse is an agricultural waste containing cellulose, hemicellulose, and lignin so that it can be used as a medium for growing cellulase, xylanase and ligninase producing microorganisms. The purpose of this study was to screen the ability of local actinomycetes isolates in producing cellulase enzyme by using CMC. As many as 13 local actinomycetes isolates were screened qualitatively their ability to produce cellulase based on calculating of the ratio of clear zone and colony diameter by using CMC and bagasse media. Isolate with the highest ratio was then determined its cellulose produced quantitatively by use of DNS (*Dinitro Salicylic Acid*) method. The results showed that all isolates were able to produce cellulase on both media. The ratio of clear zone on bagasse media was higher than on CMC media with a value 40.72 ± 0.95 shown by isolate L223. The cellulase activity produced by isolate L223 was 35.30×10^{-3} U / ml.

Key words: actinomycetes, bagasse, CMC, cellulase

PENDAHULUAN

Salah satu limbah pertanian yang masih belum dimanfaatkan secara optimal adalah limbah ampas tebu yang pemanfaatannya masih terbatas, seperti pembuatan kertas dekorasi (Purnawan 2012) dan desaian perlengkapan rumah tangga (Amie & Nugraha 2014). Ampas tebu memiliki kandungan serat kasar lignoselulosa yang terdiri dari selulosa 40,59%, hemiselulosa 15,91% dan lignin 17,50% yang dapat diuraikan oleh selulase (Gunam 2011), xylanase (Habibie *et al.* 2014) dan ligninase (Agustini *et al.* 2011).

Bahan lignoselulosa yang cukup melimpah dapat dijadikan sebagai salah satu sumber energi alternatif atau produk komersial seperti enzim melalui proses konversi. Penggunaan enzim selulase dan

hemiselulase banyak digunakan pada proses biodenking kertas koran bekas (Rismijana *et al.* 2003), sebagai pengurai untuk menangani limbah pertanian (Meryandini *et al.* 2009), dalam industri kertas menggunakan endoglukanase untuk modifikasi serat kertas bekas (Mariani & Nurachman 2012) dan penghasil bioetanol (Irvan *et al.* 2015).

Selulase dapat dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, jamur, maupun aktinomisetes yang dihasilkan secara intraseluler maupun ekstraseluler, diantaranya *Streptomyces* LIPIMC-A-0024 (Nurkanto 2007), dan isolat genus *Cellomonas* sp., *Cellvibrio* sp. *Cytophaga* sp. *Micrococcus* sp., dan *Pseudomonas* sp. (Ekawati *et al.* 2012). Kemampuan mikroorganisme dalam menghasilkan selulase secara ekstraseluler yang ditandai dengan pembentukan zona bening pada media *Carboxymethyl cellulose* (CMC). Penelitian Nugraha *et al.* (2014) melaporkan isolat bakteri SL4 menghasilkan selulase dengan aktivitas sebesar 0,051 U/ml dan Hasanah & Saskiawan (2015) melaporkan isolat jamur JM12 memiliki aktivitas selulase tertinggi sebesar 0,7727 U/ml, masing-masing pada medium CMC. Penelitian ini bertujuan menyeleksi isolat aktinomisetes asal tanah gambut Riau yang mampu menghidrolisis selulosa pada medium CMC dan ampas tebu secara kualitatif dan kuantitatif.

BAHAN DAN METODE

Peremajaan isolat aktinomisetes

Kultur aktinomisetes sebanyak 13 isolat yang tersimpan di dalam gliserol 20% ditumbuhkan kembali dalam media *Starch Casein Agar* (SCA) dengan komposisi media: pati 10 g, kasein 0,3 g, KNO₃ 2 g, K₂HPO₄ 2 g, CaCO₃ 0,02 g, NaCl 2 g, MgSO₄·7H₂O 0,05 g, FeSO₄·KNO₃, K₂HPO₄, CaCO₃, NaCl, MgSO₄·7H₂O, CaCl₂, MgSO₄·4H₂O, K₂SO₄, FeSO₄ 0,01 g, agar 18 g. Medium SCA dibuat dengan mencampurkan semua bahan kecuali kasein dan dilarutkan ke dalam 700 ml akuades dan dimasak hingga mendidih. Setelah itu medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 15 Psi selama 15 menit dengan pH 7. Kemudian kasein dilarutkan dengan 300 ml akuades dan di pasteurisasi menggunakan *waterbath* dengan suhu 72°C lalu dicampur secara aseptis pada medium yang telah steril (Propagde *et al.* 2008). Peremajaan isolat aktinomisetes dilakukan dengan cara *spread plate* pada cawan petri, diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari sampai koloni tumbuh. Isolat aktinomisetes yang sudah diremajakan ini lalu disimpan pada suhu 4°C sampai waktu penggunaan.

Pembuatan serbuk ampas tebu

Ampas tebu diambil di tempat penjualan air tebu di daerah Panam, Pekanbaru. Ampas tebu dicuci bersih lalu dijemur di bawah sinar matahari. Ampas tebu ini dipotong dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 40°C sampai beratnya konstan, selanjutnya dihaluskan (355 mesh). Ampas tebu disterilisasi pada suhu 121°C pada tekanan 15 Psi selama 15 menit (Retnoningtyas *et al.* 2013).

Uji aktivitas isolat aktinomisetes dalam media CMC dan ampas tebu agar

Isolat aktinomisetes sebanyak 13 isolat, diseleksi kemampuan tumbuh pada medium CMC 1% agar dan medium ampas tebu 1% agar. Komposisi media CMC 1% agar terdiri dari: 10 g CMC, 0,02 g MgSO₄·7H₂O, 0,075 g KNO₃, 0,05 g K₂HPO₄, 0,002 g FeSO₄, 0,004 g CaCl₂·2H₂O, 0,1 g ekstrak yeast, 15 g agar dilarutkan dalam 1000 ml akuades hingga mendidih dengan pH 7. Kemudian medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 15 Psi selama 15 menit. Pembuatan medium ampas tebu 1% komposisi sama dengan komposisi medium CMC akan tetapi sumber karbonnya diganti dengan ampas tebu 1% (Gupta *et al.* 2012). Setiap isolat aktinomisetes ditumbuhkan dengan cara menotolkan pada kedua media tersebut di atas dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruang. Pada akhir inkubasi cawan petri ditetaskan larutan iodine 1% (dalam alkohol 96%) sebanyak 10 tetes dan dibiarkan selama 3-5 menit. Aktivitas selulase dari masing-masing isolat ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni. Rasio zona bening dan diameter koloni dihitung menggunakan rumus (Nurkanto 2007) : $R = Z/K$, Keterangan : R = rasio, Z = Zona bening yang terbentuk, K = Diameter koloni. Isolat aktinomisetes yang memiliki rasio zona bening terbesar kemudian akan diuji aktivitas enzim yang dihasilkannya secara kuantitatif.

Uji aktivitas selulase dalam media fermentasi ampas tebu

Isolat yang menghasilkan rasio zona bening tertinggi diuji kemampuan hidrolisis pada media ampas tebu untuk dilihat aktivitas selulase yang dihasilkannya dengan menggunakan inokulum 10⁸ cfu/ml. Sebanyak 1 ml isolat aktinomisetes (10⁸ cfu/ml) dimasukkan ke dalam 100 ml media ampas tebu cair, kemudian diinkubasi pada *shaker* inkubator dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37°C selama 9

hari (Kanti 2005). Pada akhir inkubasi, media kultur disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 30 menit pada suhu kamar sehingga didapatkan supernatan dan pelet. Supernatan merupakan larutan ekstrak kasar enzim. Ekstrak kasar enzim sebanyak 1 ml ditambahkan sebanyak 1 ml suspensi ampas tebu 1% dan diinkubasi selama 5 menit dalam *waterbath* pada suhu 40°C dan diinkubasi kembali selama 5 menit di dalam *waterbath* pada suhu 40°C (Clark & Switzer 1997). Setelah inkubasi selesai, ditambahkan 1 ml larutan DNS dan dipanaskan dalam air mendidih ($\pm 100^\circ\text{C}$) selama 10 menit. Setelah itu, larutan didinginkan lalu divortex hingga homogen. Perlakuan sebagai kontrol adalah sebanyak 1 mL substrat ampas tebu 1% dan diinkubasi dalam *waterbath* dengan suhu 40°C selama 5 menit. Selanjutnya, larutan ditambahkan 1 mL larutan DNS kemudian dipanaskan dengan air mendidih pada suhu $\pm 100^\circ\text{C}$ selama 10 menit. Larutan di dinginkan, lalu divortex hingga homogen dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm (Hasanah & Saskiawan 2015). Nilai aktivitas selulase ditentukan berdasarkan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Aktivitas selulase (U/mL)} = \frac{\mu\text{mol gula pereduksi sampel} - \mu\text{mol gula pereduksi kontrol}}{\text{Volume ekstrak enzim} \times \text{waktu inkubasi}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas selulase pada medium CMC dan ampas tebu agar

Isolat aktinomisetes mampu menghidrolisis pada media CMC dan media ampas tebu agar yang di tandai dengan adanya zona bening setelah ditetesi lautan iodine (Tabel 1). Sebanyak 13 isolat aktinomisetes menghasilkan enzim selulase dengan berbagai variasi rasio zona bening. Hasil uji nilai tengah isolat aktinomisetes yang memiliki rasio zona bening yang tertinggi pada medium CMC dan ampas tebu adalah isolat L223 masing – masing sebesar $42,25 \pm 0,93$ dan $40,72 \pm 0,95$ inkubasi selama 3 hari. Rasio zona bening yang dihasilkan pada penelitian ini lebih besar dibandingkan dengan Nurkanto (2007) menggunakan *Streptomyces* memiliki rasio zona bening sebesar 2,5 inkubasi pada suhu ruang menggunakan media CMC 1% selama 14 hari. Meryandini *et al.* (2009) melaporkan isolat bakteri C5-1 memiliki rasio zona bening sebesar 5,5 dan isolat C5-3 sebesar 4,0 inkubasi pada suhu 50°C menggunakan media CMC 1% selama 48 jam. Hasil penelitian Sari (2012) melaporkan isolat bakteri MI 2.2 memiliki rasio zona bening sebesar 5,40 inkubasi pada suhu 68-70°C menggunakan media CMC 1% selama 1 hari. Perbedaan zona bening yang dihasilkan dari beberapa penelitian ini diduga disebabkan karena mikroorganisme yang berbeda mempengaruhi faktor internal (gen) dan faktor eksternal (nutrisi, suhu, dan waktu inkubasi).

Pada penelitian ini, rasio zona bening yang dihasilkan dari 13 isolat ternyata nilainya bervariasi baik pada medium CMC maupun pada medium ampas tebu. Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni pada masing – masing isolat uji, disebabkan oleh karena isolat menghasilkan enzim selulase yang mampu menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Kemampuan menghasilkan enzim selulase ini di monitor dengan indikator larutan iodine, karena iodine dengan selulosa akan menghasilkan warna biru sedangkan dengan glukosa tidak akan terbentuk warna biru dan dapat diidentifikasi sebagai zona bening. Menurut Zhang *et al.* (2006), prinsip dari pemberian iodine adalah pewarna akan berdifusi ke dalam media agar dan hanya akan diabsorpsi oleh rantai panjang dari polisakarida yang memiliki ikatan β -D-glukan. Aktivitas selulase dalam medium CMC dan medium ampas tebu agar dapat dilihat pada Gambar 1

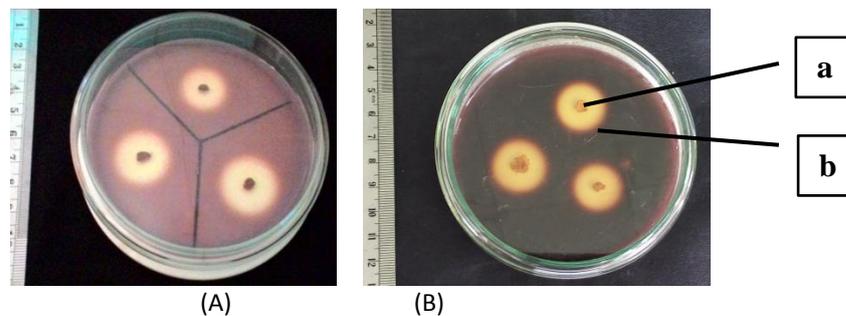
Zona bening yang dihasilkan isolat aktinomisetes ini terlihat seperti zona bening berwarna kekuning-kuningan, hal ini disebabkan karena pada medium ampas tebu terdapat kandungan Fe dan Fe akan bereaksi dengan iodine sehingga membentuk zona bening berwarna kekuning-kuningan. Zona bening yang dihasilkan karena ampas tebu yang ada didalam medium sudah terhidrolisis oleh enzim selulase menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti glukosa. Menurut Gunam (2011) kandungan ampas tebu yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Oleh karena itu, diduga isolat aktinomisetes tidak hanya memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim selulase saja, tetapi juga bisa menghasilkan enzim xylanase dan ligninase.

Enzim selulase adalah merupakan multi enzim yang terdiri dari enzim eksoglukanase, endoglukanase dan β -glukosidase (Leghninger 1993). Informasi dari penelitian Rakhmawati *et al.* (2014)

menyatakan bahwa enzim endoglukanase (CMC ase) aktif menghidrolisis selulosa amorf seperti CMC. Penelitian dari Muawanah (2006) bahwa *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 (aktinomisetes) di dalam media ampas tebu menghasilkan enzim xylanase termostabil. Tiga belas isolat aktinomisetes yang ditumbuhkan dalam medium CMC dan ampas tebu agar (selulosa, hemiselulosa dan lignin) oleh karena itu, diduga mampu menghasilkan enzim selulase seperti endglukonase, eksoglukanase dan β -glukonase serta enzim xylanase dan ligninase.

Tabel 1. Rasio zona bening aktivitas selulase

Kode Isolat	Medium CMC	Medium ampas tebu
	Rasio Zona Bening (Z/K)	Rasio Zona Bening (Z/K)
L11	13,8 ± 0,32	34,75 ± 0,94
L13	22,31 ± 0,81	11,05 ± 0,44
L15	22,72 ± 0,87	21,47 ± 0,52
L17	19,12 ± 0,47	26,48 ± 1,11
L18	19,55 ± 0,66	28,18 ± 0,68
L121	25,37 ± 0,79	28,23 ± 0,89
L223	42,25 ± 0,93	40,72 ± 0,95
L225	20,61 ± 0,86	30,40 ± 1,00
L313	40,17 ± 0,61	36,74 ± 0,49
L311	12,88 ± 0,78	27,62 ± 0,45
L321	16,60 ± 0,93	7,53 ± 0,52
L421	25,66 ± 0,99	17,88 ± 0,82
L513	19,40 ± 0,97	28,8 ± 0,50



Gambar 1. Kemampuan hidrolisis isolat aktinomisetes L223 (A). pada medium CMC (B). medium ampas tebu, inkubasi 3 hari: a. koloni aktinomisetes b. zona bening disekitar koloni.

Rasio zona bening pada medium CMC agar lebih tinggi dari medium ampas tebu agar. Medium CMC isolat L223 memiliki aktivitas yang tertinggi sebesar 42,25 dan terendah pada isolat L311 sebesar 12,88. Medium ampas tebu isolat L223 memiliki aktivitas yang tertinggi sebesar 40,72 dan terendah pada isolat L321 sebesar 7,53. Selanjutnya dilihat aktivitas selulasenya. Berbedanya hasil rasio zona bening yang dihasilkan diduga karena substrat CMC adalah substrat murni yang lebuah mudah dihidrolisis oleh enzim dan ampas tebu kandungannya terdapat selulosa yang masih terikat dengan lignin sehingga sulit untuk diuraikan (Rohana 2013). Hal ini sejalan dengan penelitian Nofu *et al.* (2014) CMC memiliki

struktur rantai yang lebih pendek dari pada ampas tebu sehingga bakteri lebih mampu menghidrolisis CMC dari pada selulosa alami seperti ampas tebu. Kemampuan aktinomisetes dalam menghidrolisis ampas tebu diduga adanya enzim lain yang berperan seperti xylanase dan ligninase.

Uji kuantitatif isolat aktinomisetes L223 menghasilkan aktivitas selulase sebesar $35,30 \times 10^{-3}$ U/ml. Aktivitas enzim yang dihasilkan pada penelitian ini lebih kecil jika dibandingkan dengan penelitian Kanti (2005) menggunakan isolat aktinomisetes dari genus *Streptomyces* aktivitas enzim sebesar 7,2-7,3 U/ml menggunakan substrat CMC 1% inkubasi 9 hari, akan tetapi lebih besar dari penelitian Rohana (2013) menggunakan *Aspergillus niger* aktivitas enzim selulase sebesar $11,791 \times 10^{-3}$ U/ml dengan substrat ampas tebu 4% inkubasi 6 hari. Beberapa faktor penyebab perbedaan aktivitas enzim adalah jenis mikroorganisme, kecepatan pertumbuhan dari setiap isolat, jumlah inokulum yang diberikan dan tipe enzim. Isolat aktinomisetes L223 dapat dikembangkan sebagai isolat penghasil enzim dimasa yang akan datang.

KESIMPULAN

Tiga belas isolat aktinomisetes memiliki aktivitas selulolitik pada medium CMC 1% agar dan ampas tebu 1% agar. Isolat L223 menghasilkan rasio zona bening tertinggi (42,25) dengan aktivitas enzim selulase sebesar $35,30 \times 10^{-3}$ U/ml.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada Laboran di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau atas bantuan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, L, Irianto R, S, B, Turjaman M, Santoso E. 2011. Isolat dan Karakterisasi Enzimatis Mikroba Lignoselulolitik di Tiga Tipe Ekosistem Taman Nasional. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. 8 (2) : 197-210.
- Amie L, L, N dan Nugraha A. 2014. Pemanfaatan Ampas Tebu Melalui Desain Produk Perlengkapan Rumah. *Jurnal Tingkat Sarjana Senirupa dan Desain*. 1(1);1-7.
- Dwiati, M., P. Lestari, dan L. Prayoga. 1999. Uji Aktivitas Ekstrak Selulase Dari *Cassipoupa filiformis* yang Berparasit Pada Tanaman Duranta Repens. *Majalah Ilmiah Universitas Jendral Soedirman* 25 (2): 105-112.
- Ekawati E. R, Matuzahroh N, Surtiningsih T, Supriyanto A. 2012. Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik Pada Limbah Daduk Tebu (*Saccharum officinarum* L). *Jurnal Hayati*. 18: 31-34.
- Gunam I, D, W., Wayan R, A., Darma I, B., 2011. Produksi Selulase Kasar dari Kapang *Trichoderma viride* dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebudan Lama Fermentasi. *Jurnal Biologi* (2) : 29-33.
- Gupta, P., Samant, K., and Sahu, A. 2012. Isolation of cellulosedegrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. *International Journal of Microbiology*. .2(12)1-5.
- Habibie F, M, Wardani A, K, Nurcholis M. 2014. Isolasi dan Identifikasi Molekuler Mikroorganisme Termofilik Penghasil Xilanase dari Lumpur Lapindo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(4) : 231-238.
- Hasanah N dan Saskiawan I. 2015. Aktivitas selulase isolat jamur dari limbah mediatanam jamur merang. *Jurnal Proseminas*. 1(5):1110-1115
- Irvan, Prawati P., Trisakti B. 2015. Pembuatan Bioetanol dari Tepung Ampas Tebu melalui Proses Hidrolisis Termal dan Fermentasi : Pengaruh pH, Jenis Ragi dan Waktu Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia, Universitas Sumatera Utara*. 4(2):27-31.
- Kanti A. 2005. Actinomycetes Selulolitik dari Tanah Hutan Taman Nasional Bukit Dua Belas Jambi. *Biodiversitas*. 6(2):85-89
- Lehninger, A. L. 1993. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid 1. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Masriani R, Nurachman Z. 2012. Modifikasi Serat Kertas Bekas Menggunakan Endoglukanase EgIII. *Jurnal Selulosa*. 2(2): 53-60.

- Meryandini, A., Widosari, W., Maranatha, B., Sunarti, T. C., Rachmania, N., dan Satria, H. 2009. Isolasi Bakteri selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara Sains* 13:33-38
- Muawanah, A. 2006. Produksi Enzim Xylanase Termotabil dari *Thermomyces lanuginosus* IFO 150 Pada Substrat Bagasse Tebu.[Tesis] Program Studi Ilmu Pangan. Pascasarjana IPB. Bogor
- Nofu K, Khotimah S, Lovadi I. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Ampas Tebu Kuning. *Probiot.* 3(1): 25-33.
- Nurkanto A. 2007. Identifikasi Aktinomicetes Tanah Hutan Pasca Kebakaran Bukit Bingkirai Kalimantan Timur dan Potensinya Sebagai Pendegradasi Selulosa dan Pelarut Fosfat. *Biodiversitas.* 8 (4) : 314-319.
- Nugraha R, Ardyanti T, Suharjo. 2014. Eksplorasi Bakteri Selulolitik yang Berpotensi sebagai Agen *Biofertilizer* dari Tanah Perkebunan Apel Kota Batu, Jawa Timur. *Jurnal Biotropika.* 2(3): 159-163
- Purwadaria T, Marbun A, Sinurat P, Ketaren P. 2003. Perbandingan Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri dan Kapang Hasil Isolasi dari Rayap. *JITV* 8(4);213-219.
- Purnawan. 2012. Pemanfaatan Limbah Ampas Tebu Untuk Pembuatan Kertas Dekorasi Dengan Metode Organosolv. *Jurnal Ekosains.* Vol. 4(2):1-6.
- Propagde B, Kuekulvog C, Mongkulsuk S. 2008. Antifungan Potensial Of Ekstraseluler Metabolits Produce by *Streptomyces hygroscopicus* Againts Phitopsgenic Fungi. *International Journal of Biological Science.* 4(5):330-337.
- Retnoningtyas E,S., Antaresi, dan Ayliaawati, 2013. Aplikasi Crude Enzim Selulase dari Tongkol Jagung (*Zea mays L*) Pada Produksi Etanol dengan Metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). *Reaktor.* 14(4): 272-276.
- Rismijana J, Indriani IN, Pitriyani T. 2003. Penggunaan Enzim Selulase Hemiselulase Pada Proses Deinking Kertas Koran Bekas. *Jurnal Matematika dan Sains.* 8(2): 67-71.
- Rohana N. A, Mardiah E., Afrizal.2013. Produksi Selulase dari *Aspergillus niger* dan Kemampuannya Menghidrolisis Tebu. *Jurnal Kimia Unand.* 2(2) : 22-28.
- Sari, M, agustien A, Nurmiati. 2012. Penapisan dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Termofilik Sumber Air Panas Sungai Medang, Kerinci, Jambi. *Jurnal Biologi Universitas Andalas.* 1(2):166-177
- Zhang Y-HP, Himmel ME, Mielenz JR .2006. Outlook for cellulase improvement: screening and selection strategies. *Biotech.* 24: 452-454