

Optimalisasi Komposisi Media dan Konsentrasi Sumber Karbon Produksi Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Strain Lokal S-16 dan S-22

F. L. Rahmi¹⁾, A. Dahliaty²⁾, S. Devi²⁾

Fajra.latifa@gmail.com

¹Mahasiswa Program Studi S1 Kimia

²Bidang Biokimia Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia

ABSTRACT

Isolates of S-16 and S-22 are some of the local strains producing cellulases that have been isolated from the Siak River water. Cellulase enzyme can be degraded of cellulose waste containing that enable for the processing of waste to economically priced products such as glucose. In this research, optimization of the composition production of cellulase enzymes from isolates of S-16 and S-22 with a variety of media production and concentration of carbon source production. The quantitative assay for enzyme activity was determined by Nelson Somogyi method with carboxymethyl cellulose (CMC) as a substrate. The highest cellulase enzyme activity of S-16 obtained in a media production (KH_2PO_4 ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; NaNO_3 ; CaCl_2 ; NaCl ; CMC) of 88×10^{-3} U/mL, and the optimum concentration of source of carbon at 1% obtained for 42×10^{-3} U/mL, whereas of S-22 obtained in a media production (KH_2PO_4 ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; NaNO_3 ; KCl ; CMC) of 14×10^{-3} U/mL, and the optimum *carboxymethyl Cellulosa* concentration of sources of carbon at 1% obtained for 16×10^{-3} U/mL. Comparison of cellulase enzyme activity of isolate S-16 and S-22 by using Duncan test multiple range at level 5%.

Keywords: *Cellulase, Cellulosa, Reducing sugar*

PENDAHULUAN

Selulase merupakan enzim ekstraseluler yang terdiri dari tiga komponen yaitu kompleks endo- β -1, 4-glukonase atau endoglukanase (CMCase, Cx selulase endoselulase, atau *carboxymethyl cellulose*), kompleks ekso-1,4- β -glukanase (selobiohidrolase), kompleks β -1,4-glukosidase (selobiase). Ketiga enzim ini dapat bekerja sama mendegradasi selulosa menjadi glukosa. Enzim endoglukanase mampu menghidrolisis selulosa tersubstitusi misalnya CMC dan selulosa kristalin menjadi selobiosa dan glukosa. Enzim selobiohidrolase adalah enzim yang mampu menghidrolisis selulosa alami seperti kapas dan selulosa kristalin menjadi selobiosa. Hidrolisis selulosa secara enzimatik dengan enzim selulase akan menguraikan selulosa menjadi bentuk yang sederhana antara lain selobiosa dan glukosa (Griffin, 1994). Kompleks selulase digunakan secara komersial dalam pengolahan kopi, industri tekstil, deterjen, pulp dan kertas bahkan kadang-kadang

digunakan dalam industri farmasi. Dalam krisis energi sekarang ini, selulase dapat digunakan dalam fermentasi biomassa menjadi biofuel, walaupun proses ini sifatnya masih eksperimental.

Bakteri yang menghasilkan selulase adalah *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Cellovibrio*, dan *Sporosphytophaga* (Usama dkk., 2008). Pada penelitian Eva (2012) dari 10 isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari Sungai Siak di daerah Tandun yang mengandung limbah pabrik *crude palm oil* (CPO) dan limbah perkebunan kelapa sawit ternyata 2 isolatnya mampu menghasilkan enzim selulase dengan aktivitas relatif lebih besar dari isolat lain yaitu isolat S-16 dan S-22. Produksi enzim dari suatu mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh faktor internal (faktor genetik) dan faktor eksternal (kondisi fermentasi), antara lain komposisi media produksi, suhu, pH, sumber karbon, inducer (untuk enzim yang bersifat induktif) (Goodenough, 1989). Berdasarkan hal di atas, diusahakan optimalisasi produksi enzim selulase dari S-16 dan S-22 dengan mengevaluasi beberapa variabel yang mampu mempengaruhi produksi enzim selulase dari bakteri ini, antara lain media produksi enzim selulase dan konsentrasi sumber karbon. Jenis media produksi yang berbeda pada bakteri selulolitik diduga akan memberikan pengaruh yang berbeda karena media merupakan nutrisi yang diperlukan untuk biosintesis dan pembentukan energi. Konsentrasi sumber karbon yang berbeda dalam medium pertumbuhan juga dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pembelahan sel sehingga juga mempengaruhi konsentrasi enzim selulase dan aktivitas yang dihasilkan (Pratiwi, 2008; Goodenough, 1989).

BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan adalah Isolat S-16 dan S-22, *Carboxymethyl cellulose* (CMC), Nutrient agar, Nutrient Broth, dan pengukuran serapan sinar tampak digunakan Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis Spectrophotometer.

Media selektif 1L $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,0005 g; KNO_3 0,01875 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,005 g; CaCl_2 0,001 g; KH_2PO_4 0,0125 g; CMC 0,25 g. (Komposisi media I). KH_2PO_4 0,1 g; Na_2CO_3 0,1 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,029 g; Pepton 0,5 g; CMC 0,1 g. (Komposisi media II). KH_2PO_4 0,1 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g; KCl 0,2 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,02 g; NaNO_3 0,5 g; CMC 1 g. (Komposisi media III). KH_2PO_4 0,5 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,25 g; NaNO_3 0,25 g; CaCl_2 0,1 g; NaCl 0,2 g; CMC 0,2 g. (Komposisi media IV).

Peremajaan isolat bakteri selulolitik dilakukan dengan mengambil satu ose stok isolat secara aseptis dan ditanam pada NA (*Nutrient Agar*) miring yang steril, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri dari hasil peremajaan 1 tabung agar miring diambil dan dimasukkan ke dalam 50 ml media *Nutrient Broth* (NB), lalu diinkubasi di dalam *shaker incubator* dengan kecepatan agitasi 120 rpm pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi bakteri ini digunakan sebagai starter dan selanjutnya dilakukan pengukuran OD. Media selektif yang tertera di atas menunjukkan susunan nutrisi dari media cair untuk produksi enzim selulase. Semua bahan mineral dicampurkan dalam 100 mL dapar fosfat. Media ini dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Pada media ditambahkan karboksimetil selulosa (CMC), kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 15 lb,

121⁰C selama 20 menit. Media siap ditanami apabila tidak ada tanda-tanda kontaminasi setelah dibiarkan satu malam pada suhu kamar.

Inokulum isolat S-16 dan S-22 sebanyak 10% dimasukkan masing-masing ke dalam media cair produksi enzim 100 mL kemudian diinkubasi pada *shaker incubator* dengan suhu 37⁰C selama 24 jam. Ekstrak kasar enzim selulase yang terdapat dalam media dipisahkan dari sel isolatnya dengan menggunakan sentrifugasi dalam keadaan dingin dengan kecepatan 9500 rpm selama 10 menit. Sebelum sentrifugasi, media kultur berisi enzim tersebut didinginkan pada suhu 10⁰C selama kurang lebih 1 jam. Supernatan disaring dengan *filter glass fiber* (Whatman GF/C). Jika enzim tidak langsung digunakan untuk analisis aktivitas enzim, kemudian ditambahkan NaN₃ hingga konsentrasinya 0,02% (^b/_v) ke dalam setiap larutan supernatant. Aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dianalisis dengan menggunakan substrat CMC 2% suhu 40⁰C, pH 7, kemudian konsentrasi glukosa yang dihasilkan dari aktivitas enzim selulase ditentukan dengan metode Nelson-somogyi.

Setelah diketahui ekstrak kasar enzim selulase dalam media produksi yang mempunyai aktivitas selulase tertinggi selanjutnya media ini digunakan lagi untuk optimalisasi konsentrasi sumber karbon yaitu *carboxymethyl cellulose* (CMC) dengan variasi konsentrasi (0%; 0,25%; 0,5%; 1,0%; 1,5%) yang dimasukkan kedalam 5 erlenmeyer. Inokulum isolat S-16 dan S-22 sebanyak 10% dimasukkan masing-masing ke dalam media produksi optimum kemudian diinkubasi pada *shaker incubator* dengan suhu 37⁰C selama 24 jam. Ekstrak kasar enzim kemudian dipisahkan dengan cara yang sama pada media produksi optimum.

Aktivitas ekstrak kasar enzim selulase ditentukan dengan metode Nelson-Somogyi (Green III dkk., 1989). Aktivitas enzim dinyatakan sebagai jumlah gula pereduksi yang dilepaskan oleh kerja enzim per satuan waktu. Uji aktivitas enzim menggunakan 1 mL larutan CMC 2% yang dilarutkan dengan buffer pospat 0,05 M pH 7 kemudian diinkubasi selama 5 menit dalam *waterbath* pada suhu 40⁰C. Tanpa mengeluarkan tabung reaksi dari *waterbath* dimasukkan 1 mL larutan enzim. Larutan diinkubasi selama 30 menit. Substrat sebanyak 1 mL ditambahkan pada tabung sampel pada waktu nol sedangkan pada tabung kontrol setelah penambahan reagen Nelson (Green III dkk., 1989) lalu dipanaskan dalam penangas air selama 20 menit. Setelah larutan dingin, larutan ditambahkan 1 mL reagen arsenomolibdat dan divortex lalu dibiarkan dingin pada suhu kamar selama 5 menit dan ditambahkan 6 mL akuades. Sebagai blanko, digunakan buffer pospat pada pH 7 (0,05 M) dan sebagai standar, digunakan larutan glukosa dengan berbagai konsentrasi (antara 0,02 s/d 0,1 mg/mL).

Absorbansi dari masing-masing larutan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Pengukuran aktivitas dilakukan masing-masing untuk empat kali pengulangan untuk setiap sampel. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang dapat melepaskan 1 μ mol gula pereduksi permenit. Data absorbansi yang diperoleh dari tiap-tiap sampel kemudian ditentukan aktivitasnya. Aktivitas enzim selulase diketahui dari gula pereduksi yang dihasilkan setiap millimeter permenit (μ mol gula pereduksi/ml/menit) dan dihitung dengan rumus berikut :

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{\mu\text{mol gula pereduksi sampel} - \mu\text{mol gula pereduksi kontrol}}{\text{volume ekstrak enzim} \times \text{waktu inkubasi}}$$

Satu unit (IU) aktivitas enzim selulase didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang melepaskan 1 μmol gula pereduksi permenit.

Data yang diperoleh dari percobaan dengan variabel komposisi media produksi dan konsentrasi sumber karbon yang berbeda, dianalisis secara statistik. Perbandingan aktivitas enzim selulase dari isolat *selulolitik* digunakan uji Duncan jarak berganda (Duncan's Multiple Range Test) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Media produksi optimal dari selulase

Analisis aktivitas ekstrak kasar selulase dari kedua isolat bakteri S16 dan S22 ini ditentukan dengan mengukur kadar glukosa hasil hidrolisis enzim selulase dari substrat CMC dengan menggunakan metode Nelson-Somogyi (Green III dkk., 1989). Aktivitas enzim selulase dinyatakan sebagai gula pereduksi yang dilepaskan oleh kerja 1 mL enzim per satuan waktu. Penentuan jumlah gula pereduksi dilakukan dengan konsentrasi CMC 2% yang diinkubasi selama 30 menit pada suhu 40°C dan pH 7. Aktivitas selulase dari isolat S-16 pada setiap variasi media produksi dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 1.

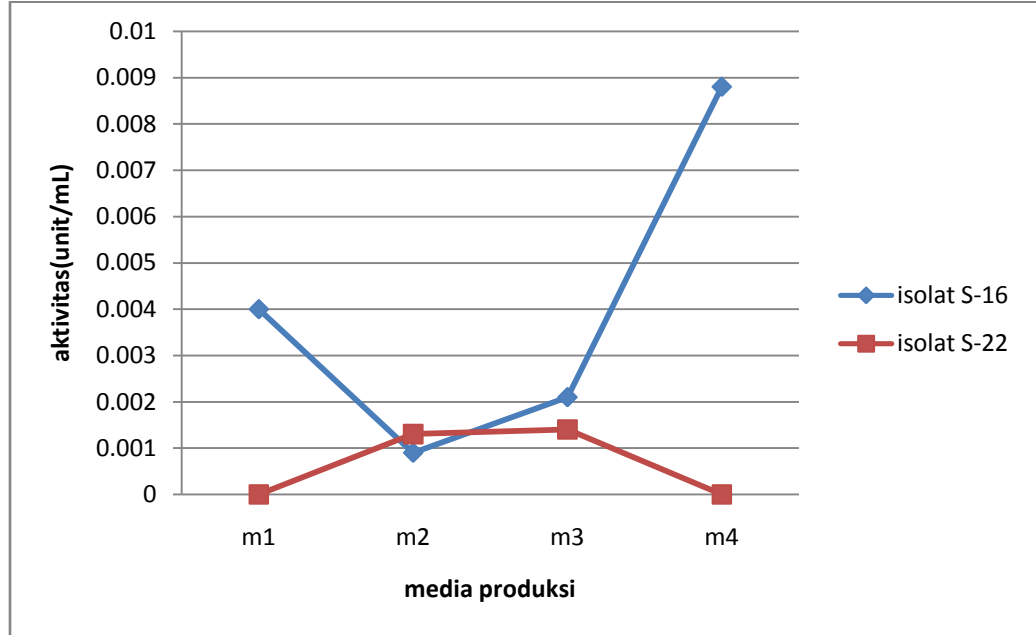
Hasil Anova dan uji Duncan jarak berganda menunjukkan bahwa rata-rata aktivitas selulase dari isolat S-16 dengan variasi media produksi menunjukkan perbedaan secara signifikan ($p > 0,05$). Aktivitas ekstrak kasar selulase tertinggi adalah pada media produksi IV sebesar ($0,0088 \pm 0,0003$) unit/mL ekstrak kasar enzim.

Tabel 1. Variasi media produksi enzim terhadap aktivitas ekstrak kasar selulase dari S-16 dan S-22

Variasi media	Aktivitas Enzim Selulase* (U/mL)	
	Isolat S-16	Isolat S-22
Media I	0,0040 \pm 0,0006 ^c	0,0000 \pm 0,0000 ^a
Media II	0,0009 \pm 0,0002 ^a	0,0013 \pm 0,0004 ^b
Media III	0,0021 \pm 0,0001 ^b	0,0014 \pm 0,0005 ^b
Media IV	0,0088 \pm 0,0003 ^b	0,0000 \pm 0,0000 ^a

*Nilai yang diikuti pangkat huruf yang berbeda adalah berbeda nyata pada tingkat 5% ($P > 0,05$) berdasarkan uji Duncan jarak berganda. Diketahui bahwa masing-masing perlakuan dianalisa statistik terpisah.

Aktivitas selulase dari S-22 tertinggi pada media produksi III yaitu sebesar ($0,0014 \pm 0,0005$) unit/mL ekstrak kasar enzim yang menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Hal ini berguna dalam menghidrolisis selulosa untuk ketersediaan bahan makanan selama pertumbuhan bakteri dalam media produksi enzim.



Gambar 1. Hubungan media produksi dengan produksi enzim selulase pada bakteri strain lokal S-16 dan S-22

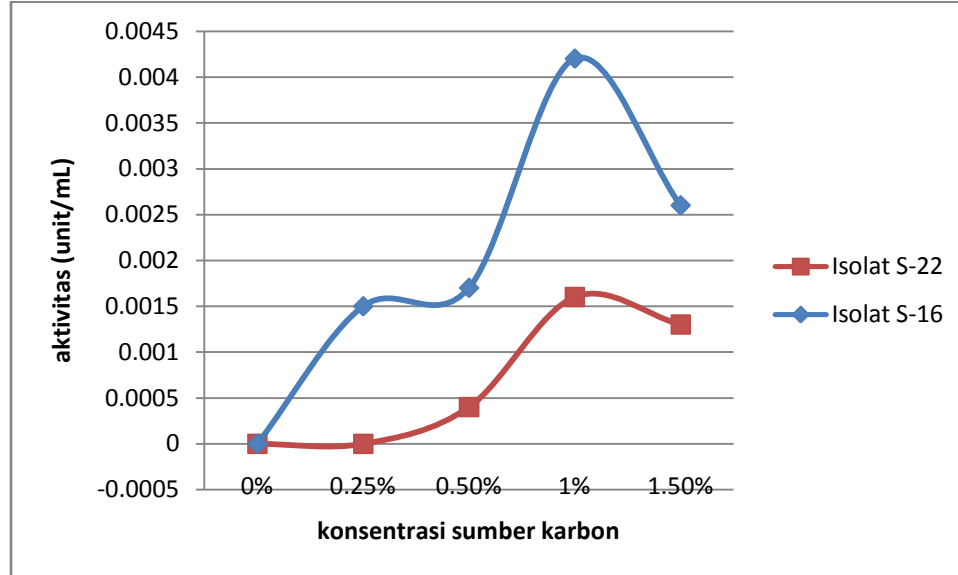
Konsentrasi sumber karbon optimum

Bakteri S-16 dan S-22 menghasilkan aktivitas enzim selulase yang tertinggi sama-sama pada konsentrasi 1%. Aktivitas berturut-turut sebagai berikut, yaitu pada S-16 ($0,0042 \pm 0,0000$) unit/mL > S-22 ($0,0016 \pm 0,0003$) unit/mL. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Variasi konsentrasi sumber karbon CMC terhadap aktivitas ekstrak kasar selulase dari S-16 dan S-22

Variasi konsentrasi CMC	Aktivitas Enzim Selulase* (U/mL)	
	Isolat S-16	Isolat S-22
0 %	$0,0000 \pm 0,0000^a$	$0,0000 \pm 0,0000^a$
0,25%	$0,0015 \pm 0,0001^b$	$0,0000 \pm 0,0000^a$
0,50%	$0,0017 \pm 0,0002^b$	$0,0004 \pm 0,0002^b$
1,00%	$0,0042 \pm 0,0000^d$	$0,0016 \pm 0,0003^c$
1,50%	$0,0026 \pm 0,0002^c$	$0,0013 \pm 0,0003^c$

Catatan :*) nilai rata-rata aktivitas selulase dari empat kali pengulangan. Pangkat huruf menyatakan berbeda nyata pada tingkat 5% ($p \geq 0,05$) berdasarkan uji Duncan jarak bergand



Gambar 2. Hubungan konsentrasi sumber karbon dengan produksi enzim selulase pada bakteri strain lokal S-16 dan S-22

Pembahasan

Produksi enzim selulase dari bakteri S-16 dan S-22 merupakan enzim ekstraseluler yang bersifat induktif, karena pada media pertumbuhannya terdeteksi adanya aktivitas enzim selulase (ekstrak kasar enzim). Selulosa merupakan substrat yang dapat berperan sebagai induser dalam proses sintesis selulase. Selain menginduksi sintesis selulase, induser juga berfungsi sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan sel (Gong dan Tsao, 1979). Proses Enzim ekstraseluler mempunyai keuntungan yang lebih besar daripada enzim intraseluler, karena untuk mengisolasi enzim yang dihasilkan tidak memerlukan teknik penghancuran sel yang relatif mahal, sedangkan enzim intraseluler memerlukan cara pemisahan dan pemurnian yang relatif rumit (Smith, 1993). Selulase dari S-16 dan S-22 adalah enzim ekstraseluler, sehingga untuk mengisolasi ekstrak kasar enzimnya dapat dilakukan dengan cara sentrifugasi dingin, sehingga sel bakteri dapat dipisahkan dari mediumnya (ekstrak kasar enzim ekstraseluler) (Darwis dan Sakura, 1990). Sentrifugasi dingin ini untuk menghindari denaturasi protein, apabila larutan enzim ini tidak langsung diuji aktivitasnya atau akan disimpan dalam waktu yang lama maka ditambahkan larutan NaN_3 0,02%. Larutan NaN_3 ini berfungsi untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau mencegah rusaknya enzim karena adanya mikroba lainnya jika terjadi kontaminasi (Endrini, 1995).

Dalam media pertumbuhan garam-garam mineral seperti KNO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ digunakan sebagai nutrient untuk membantu pertumbuhan sel sedangkan logam Kalium pada KNO_3 dan Magnesium pada $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ merupakan kofaktor bagi aktivitas enzim selulase (Pratiwi, 2008), sedangkan buffer berfungsi untuk

mempertahankan pH lingkungan produksi selulase supaya enzim yang digunakan tidak terdenaturasi.

Kedua bakteri selulolitik ini menghasilkan enzim secara induktif, yaitu enzim yang dihasilkan karena adanya induktor dari senyawa kimia tertentu dalam media produksinya. Salah satu contoh enzim induktif adalah yang dihasilkan karena di dalam media pertumbuhan hanya ada selulosa sebagai satu-satunya sumber karbon, maka untuk mempertahankan kehidupannya mikroorganisme tersebut harus menghasilkan selulase agar dapat menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Glukosa merupakan karbohidrat golongan monosakarida, yaitu gula sederhana yang dapat langsung digunakan tanpa harus didegradasi terlebih dahulu sebagai sumber karbon untuk memasuki jalur glikolisis dalam proses metabolismenya. Akibatnya pembelahan sel berlangsung dengan cepat dan jumlah sel bertambah banyak sehingga konsentrasi enzim yang dihasilkan akan meningkat dan aktivitas enzim yang dihasilkan juga akan semakin besar.

Pada penelitian ini produksi enzim selulase dilakukan dalam dua variasi yaitu media produksi dan konsentrasi sumber karbon dari isolat S-16 dan S-22, supaya diketahui media produksi dan konsentrasi sumber karbon yang optimum. Hasil uji Duncan dari kedua isolat ini menunjukkan aktivitas enzim selulase tertinggi ditunjukkan oleh isolat S-16 pada media produksi IV yaitu 0,0088 U/mL dan berbeda secara nyata ($P \leq 0,05$) dengan media III sebesar 0,0021 U/mL > media I sebesar 0,0040 > media II sebesar 0,0009 U/mL, sedangkan isolat S-22 pada media produksi memiliki aktivitas tertinggi pada media III yaitu 0,0014 U/mL yang tidak berbeda secara nyata ($P > 0,05$) dengan media II yaitu 0,0013 U/mL, pada media I dan IV tidak memiliki aktivitas enzim. Perbedaan aktivitas enzim pada isolat S16 yaitu aktivitas enzim pada media IV lebih tinggi daripada media I, II dan III. Hal ini diduga karena pada media IV terdapat NaCl dan CaCl₂. Ca⁺² merupakan ion logam aktivator yang dapat meningkatkan aktivasi enzim dan Na⁺² merupakan bahan mineral yang dapat menjaga kestabilan aktivitas enzim (Haryati dkk., 2010). Hal ini dapat dikonfirmasi dengan hasil penelitian lainnya yang menggunakan komposisi media IV yaitu dari Gupta dkk. (2012), aktivitas enzim dari bakteri selulolitik CDB 8 dan CDB 10 yaitu 0,162 unit/mL dan 0,400 unit/mL.

Pada optimalisasi konsentrasi sumber karbon CMC, diperoleh konsentrasi optimumnya yaitu 1,0% untuk kedua isolat. Aktivitas enzim tertinggi S-16 yaitu 0,0042 unit/mL dan berbeda secara nyata ($P \leq 0,05$) dengan konsentrasi CMC 1,50% sebesar 0,0026 unit/mL dan aktivitas terendah pada konsentrasi 0,25% sebesar 0,0015 unit/mL yang tidak berbeda secara nyata ($P > 0,05$) dengan konsentrasi 0,50% sebesar 0,0017 unit/mL. Aktivitas enzim tertinggi S-22 yaitu 0,0016 unit/mL yang tidak berbeda secara nyata ($P > 0,05$) dengan konsentrasi 0,50% sebesar 0,0013 unit/mL. Pada konsentrasi CMC di atas 1,0% ternyata mulai terjadi penurunan kecepatan reaksi enzimatik. Hal ini terjadi karena semakin tinggi konsentrasi CMC maka makin tinggi viskositasnya sehingga probabilitas substrat berikatan dengan sisi aktif enzim semakin kecil dan penurunan ini kemungkinan disebabkan mulai habisnya nutrisi yang tersedia sehingga pertumbuhan sel dan produksi enzim terhenti (Kumalasari, 2003). Dengan demikian aktivitas optimum berlangsung pada konsentrasi substrat 1,0%.

Pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Deka dkk. (2011), yaitu aktivitas enzim dari bakteri *Bacillus subtilis* yaitu 0,26 unit/mL pada konsentrasi CMC 1,0%, pada penelitian yang dilakukan oleh Kumalasari (2003), aktivitas enzim dari bakteri *Penicillium nalgiovense* yaitu 0,1 U/mL, aktivitas enzim dari jamur *Trichoderma sp.* yaitu 1,72 unit/mL juga pada konsentrasi 1,0% (Gautam dkk., 2010), aktivitas enzim dari jamur *Aspergillus sp2 TT* dan *Aspergillus fumigatus KP* yaitu 0,0021 U/mL dan 0,0014 U/mL dengan menggunakan media produksi (Supiandi, 1999) ditambah dengan inducer CMC 1,0% (Sholeha, 2012). Aktivitas selulase dengan sumber karbon CMC relatif lebih kecil diduga karena CMC adalah polisakarida maka untuk dipakai sebagai sumber karbon dibutuhkan waktu yang lebih lama dari glukosa karena harus dihidrolisis dahulu oleh selulase menjadi glukosa supaya dapat digunakan sebagai sumber karbon, sedangkan waktu produksinya sama (Sholeha, 2012).

KESIMPULAN DAN SARAN

Enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri S-16 dan S-22 ini merupakan enzim yang bersifat induktif. Komposisi media produksi yang berbeda menghasilkan aktivitas yang berbeda pada tiap isolat. Aktivitas enzim tertinggi pada S-16 diperoleh pada media produksi IV sebesar 0,0088 unit/mL dan pada isolat S-22 diperoleh aktivitas enzim tertinggi yaitu 0,0014 unit/mL pada media produksi III. Konsentrasi sumber karbon CMC yang terbaik untuk memproduksi enzim selulase dari isolat S-16 dan S-22 adalah 1,0%.

Penelitian lebih lanjut untuk optimalisasi produksi enzim selulase dari isolat strain lokal S-16 dapat dilakukan dengan media produksi IV ini melalui beberapa variasi faktor eksternal (kondisi fermentasi) antara lain waktu inkubasi, pH inkubasi, dan suhu inkubasi. Sehingga dihasilkan enzim selulase secara optimal oleh isolat strain lokal S-16.

DAFTAR PUSTAKA

- Usama, A.F. dan El-Dein, H.S.S. 2008. Production and partial purification of cellulase complex by *Aspergillus niger* and *Aspergillus nidulans* grown on mater hiacinth blend. *Journal of Applied Science Research*, 4 (7): 875-891.
- Kumalasari, A.T. 2003. Optimasi Produksi Selulase *Penicillium nalgiovense* S11 Pada Perlakuan Berbagai Substrat Polard. *Skripsi S-1*. Jurusan Kimia FMIPA IPB, Bogor.
- Darwis, A. dan Sukara, E. 1990. *Isolasi, Purifikasi dan Karakterisasi Enzim*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi Intitut Pertanian Bogor, Bogor.
- Deka, D., Bhargavi, P., Sharma, A., Goyal, D. dan Jawed, M. 2011. Enhancement of cellulase activity from a new strain of *Bacillus subtilis* by medium optimization and analysis with various cellulosic substrates. *Research Article*. doi:10.4061/2011/151656.

- Endrini, S. 1995. Isolasi enzim polifenol oksidase dari nenas *Ananas Comosus* (LMERR) *Skripsi S-1*. Jurusan Kimia FMIPA UR, Pekanbaru.
- Goodenough. 1989. *Genetics*. Third Edition, CBS College Publishing, Washington.
- Gong, C.S. dan Tsao, G.T. 1979. Cellulase and biosynthesis regulation. *Report Fermentation Process*. 3:111-135.
- Green III, F.C. dan Highley, T.L. 1989. Adaptation of the nelson-somogyi reducing sugar assay to a microassay using microtiter plates. *Journal of Analytical Biochemistry*. (182): 197-199.
- Griffin, D. H. 1994. *Fungal physiology*. Jhon Wiley and Sons. Inc., New York.
- Gupta, P., Samant, K. dan Sahu, A. 2012. Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. *International Journal of Microbiology*. 2012: 578925.
- Sholeha, J. 2012. Optimalisasi Jenis Induser Dari Strain Lokal Jamur *Aspergillus spp* Termotoleran Penghasil Selulase. *Skripsi S-1*. Jurusan Kimia FMIPA UR, Pekanbaru.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga, Jakarta.
- Siagian, E. Isolasi Bakteri Selulolitik Dari Daerah Aliran Sungai Siak Di Tandun Kabupaten Rokan Hulu. 2012. *Skripsi S-1*. Jurusan Kimia FMIPA UR, Pekanbaru.
- Smith, J.E. 1993. *Prinsip Bioteknologi*. Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Gautam, S.P., Bundela, P.S., Pandey, A.K., Khan, J., Awasthi, M. K. dan Sarsaiya, S. 2010. Optimization for the production of cellulase enzyme from municipal solid waste residue by two novel cellulolytic fungi.. *Biotechnology Research International*. doi:10.4061/2011/810425
- Haryati, T., Marbun, P.A., dan Purwadaria, T. 2010. Preservasi selulase *Bacillus pumilus* PU4-2 dengan teknik imobilisasi pada pollard dan penambahan kation. *Jurnal Mikrobiol Indonesia*. 15(1): 63-71.