

Pemindaian Jamur Kontaminan Ampas Tebu untuk Produksi Enzim Selulase

Ismi Zahriadan Refdinal Nawfa

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: refnawfa@chem.its.ac.id

Abstrak—Pada penelitian ini telah dilakukan proses pemindaian dari jamur kontaminan ampas tebu. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan jamur penghasil enzim selulase dan mengetahui pengaruh pH terhadap produktivitas enzim selulase dari jamur hasil pemindaian kontaminan ampas tebu yang didapatkan. Hasil pemindaian diperoleh 2 jamur yang dapat menghasilkan enzim selulase. Aktivitas enzim selulase dapat diketahui dengan mengukur gula pereduksi dari hasil hidrolisis substrat selulosa (CMC) dengan menggunakan metode DNS. Produksi enzim selulase Jamur Galur 1 optimum pada hari ke-8 dan Jamur Galur 2 optimum pada hari ke-7 dengan nilai rasio perbandingan konsentrasi glukosa dan biomassa sebesar 8096,65 dan 9672,49 untuk masing-masing Jamur. Derajat keasaman (pH) berpengaruh terhadap produksi enzim selulase dimana untuk kedua jamur optimum pada pH 6.0 dengan nilai rasio perbandingan konsentrasi glukosa dengan biomassa sebesar 6147,73 dan 8725,10.

Kata Kunci: *pemindaian, jamur, ampas tebu, aktivitas selulase, DNS*

I. PENDAHULUAN

Ampas tebu (bagasse) adalah sisa batang tebu (*Saccharum officinarum*) setelah dihancurkan dan diekstraksi untuk diambil niranya. Ampas tebu merupakan limbah tebu yang melimpah dan dapat mencapai 30-35% dari berat tebu sehingga terjadi kelebihan ampas di beberapa pabrik gula [1]. Ampas tebu mempunyai ukuran panjang serat antara 1,7 sampai 2 mm dengan diameternya sekitar 20 mikro. Ampas tebu memiliki kandungan air 48-52%, gula rata-rata 3,3%, dan serat rata-rata 47,7%. Serat pada ampas tebu tidak dapat larut dalam air dan sebagian besar terdiri dari selulosa, pentosan, dan lignin [2]. Selulosa merupakan sumber glukosa yang digunakan sebagai sumber karbon pada industri fermentasi yang melibatkan mikroorganisme.

Perubahan selulosa menjadi glukosa dapat terjadi baik secara kimia, maupun secara enzimatis. Jika dilakukan dengan cara kimia dapat menimbulkan limbah dari zat kimia yang digunakan, sedangkan bila dilakukan secara enzimatis tidak menimbulkan pencemaran karena enzim yang digunakan mudah terdegradasi. Menurut Tahezadeh dan Karimi (2007), reaksi enzimatis memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain: tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, dapat dilakukan pada temperatur ruang dan tekanan

atmosfer, berpotensi memberikan hasil yang tinggi, dan biaya pemeliharaan peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif, selain itu hidrolisis enzimatis ini tidak menggunakan asam sehingga ramah lingkungan.

Enzim yang digunakan untuk mengubah selulosa menjadi glukosa adalah enzim selulase. Enzim ini dapat diproduksi oleh mikroorganisme berupa bakteri ataupun jamur. Untuk mendapatkan jamur penghasil enzim selulase, dilakukan pemindaian dari jamur-jamur yang dapat tumbuh pada media yang mengandung selulosa seperti kayu dan ampas tebu yang terkontaminasi.

Salah satu jenis tebu yang ampasnya sering ditumbuhi oleh jamur kontaminan adalah tebu yang ukuran batangnya besar yang sari tebunya dikonsumsi sebagai minuman segar. Jamur-jamur kontaminan ampas tebu yang dapat bertahan lama tumbuh mengindikasikan dapat menghasilkan enzim selulase. Hal ini dikarenakan enzim selulase dapat menghidrolisa selulosa yang ada pada ampas tebu untuk menghasilkan glukosa sebagai nutrisi sumber karbon dari pertumbuhan jamur.

Pertumbuhan jamur tentu dipengaruhi beberapa faktor seperti substrat, temperatur, dan pH media pertumbuhan yang digunakan. Jamur akan tumbuh dengan baik apabila ia berada di lingkungan yang mendukung.

Sebelumnya, Yuniar [3], telah melakukan pemindaian jamur selulolitik dari tandan kosong kelapa sawit di Bandung yang menunjukkan aktivitas selulase dengan substrat CMC. Selain itu, Hardianty [4] juga melakukan isolasi dan seleksi jamur selulolitik dari Hutan Arboretum Universitas Riau yang menunjukkan aktivitas selulase dengan adanya zona bening pada media pertumbuhan. Begitu juga dengan Roza [5] yang melakukan isolasi dan seleksi jamur selulolitik dari tanah gambut di perkebunan karet desa Rimbo Panjang, Riau.

Telah banyak dilakukan penelitian mengenai pemindaian jamur penghasil enzim selulase. Pada penelitian ini, akan dilakukan pemindaian jamur dari kontaminan ampas tebu yang kemudian diuji untuk mengetahui aktivitas selulasenya.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan jamur penghasil enzim selulase dan mengetahui pengaruh pH terhadap produktivitas enzim selulase dari jamur hasil pemindaian kontaminan ampas tebu yang diuji pada hari optimum yang telah didapatkan dari perlakuan sebelumnya.

II. URAIAN PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain: stirer, cawan petri, parafilm, botol semprot dan peralatan gelas seperti gelas beker, pipet volume, pipet ukur, pipet tetes, labu ukur, pengaduk kaca, kaca arloji serta corong pisah. Sedangkan instrumen yang digunakan adalah *hot plate* dengan pengaduk magnetik, neraca analitik, digital pH meter, *laminary flow*, inkubator, sentrifuse, spektrofotometer UV-Vis. Bahan-bahan yang digunakan antara lain: kontaminan ampas tebu, Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Broth (PDB), glukosa, aquades, kloramfenikol, *Carboxymethylcellulose* (CMC), etanol, natrium hidroksida (NaOH), asam 3,5-dinitrosalisilat (reagen DNS), dan natrium kalium tartarat (garam Rochelle).

B. Prosedur Kerja

Pemindaian Jamur Kontaminan Ampas Tebu

Pertama, ampas tebu dibiarkan beberapa hari sampai ditumbuhi jamur. Kemudian, permukaan ampas tebu yang ditumbuhi jamur dipindahkan dengan menggunakan penjepit. Kemudian dicelupkan dalam air steril. Suspensi ini kemudian diambil kurang lebih 2 mL dan dilakukan pengenceran pada 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} . Suspensi hasil pengenceran ini diambil 2 mL dan diinokulasikan ke dalam media pertumbuhan PDA yang telah mengandung khloramfenikol 2% supaya tidak ada mikroorganisme lain yang tumbuh selain jamur. Biakan diinkubasi selama 3-7 hari dalam temperatur ruang. Koloni yang tumbuh diamati perbedaannya, masing-masing koloni yang berbeda dipindahkan ke dalam media pertumbuhan yang lain. Biakan-biakan baru ini kemudian diinkubasi lagi selama 3-7 hari. Kemudian diamati pertumbuhannya. Apabila koloni yang terbentuk masih bercampur dengan koloni lain, maka dilakukan pemisahan lagi. Kemudian diinkubasi selama 7 hari. Demikian seterusnya sampai diperoleh biakan yang terdiri dari satu macam koloni (kultur murni). Selanjutnya terhadap kultur murni yang diperoleh, dipindahkan dan ditumbuhkan ke dalam media cair PDB.

Koloni jamur penghasil enzim selulase diperoleh dengan menumbuhkan koloni tunggal terpilih dalam media yang mengandung selulosa (CMC) yang kemudian diuji menggunakan metode DNS dan menghasilkan nilai absorbansi tertentu.

Kemudian diidentifikasi jamur yang telah didapatkan untuk mengetahui jenis jamur dan dilakukan pertumbuhan untuk mengetahui kemampuan tumbuh masing-masing jamur dalam media yang mengandung glukosa dan selulosa (CMC) dan produksi enzim selulasenya.

Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Jamur 1 dan 2

Setelah didapatkan jamur hasil pemindaian kontaminan ampas tebu, dilakukan uji aktivitas selulase untuk mengetahui adanya enzim selulase dengan cara menginokulasikan suspensi spora pada media cair PDB yang mengandung 2% CMC. Pada hari ke-4, dilakukan pemanenan dari masing-masing jamur dan diuji aktivitas selulasenya dengan metode DNS.

Uji Aktivitas Enzim Selulase

Sebelum dilakukan uji aktivitas selulase, dibuat kurva standar glukosa untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi yang akan didapatkan dari penelitian ini. Dibuat larutan glukosa standar dengan konsentrasi masing-masing 0, 100, 200, 300, 400, 500 dan 600 ppm. Masing-masing larutan diambil 1 mL, lalu ditambahkan 3 mL pereaksi DNS. Kemudian, masing-masing larutan divorteks dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Setelah dingin, masing-masing larutan diencerkan 2 kali dan divorteks kembali. Diukur absorbannya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm, kemudian buat persamaan linearnya sebagai kurva standar. Untuk mengetahui aktivitas enzim selulase dilakukan pengukuran kadar gula pereduksi pada sampel dengan cara mengambil 1 mL sampel kemudian ditambahkan 3 mL pereaksi DNS. Proses selanjutnya sama seperti pada larutan glukosa standar, kemudian nilai absorbansi pengukuran yang diperoleh diplot pada kurva standar.

Penentuan Waktu Produksi Enzim Selulase Jamur Kontaminan

1 mL suspensi spora untuk setiap jamur yang didapatkan, ditumbuhkan pada 14 erlenmeyer 100 mL yang berisi 20 mL media cair PDB yang mengandung 2% CMC. Kemudian diinkubasi selama 14 hari dengan penyamplingan setiap hari dengan cara diambil 1 erlenmeyer setiap hari. Selanjutnya dipanen dan disentrifus selama 15 menit dengan 3000rpm. Setelah itu, dilakukan uji aktivitas selulase dengan mengukur kandungan glukosa yang dihasilkan dengan metode DNS, dan ditimbang biomassa yang didapatkan menggunakan neraca analitik.

Pengaruh pH terhadap Produksi Enzim Selulase

Setelah didapatkan hari optimum jamur kontaminan ampas tebu untuk memproduksi enzim selulase, dilakukan uji untuk mendapatkan pH optimum. pH optimum ditentukan dengan cara sebagai berikut: disiapkan media PDB yang mengandung 2% CMC dengan pH berbeda yaitu 5.0; 5.5; 6.0; 6.5; 7.0 dan 7.5 sebanyak 20 mL untuk setiap erlenmeyer. Kemudian diinokulasikan spora jamur dan diinkubasi pada suhu kamar selama waktu optimum untuk masing-masing jamur yang didapatkan. Selanjutnya dipanen dan disentrifus selama 15 menit dengan 3000rpm. Dilakukan uji kandungan enzim selulasenya pada supernatan yang didapatkan dengan uji kandungan kadar gula pereduksi metode DNS, dan ditimbang biomassa yang didapatkan menggunakan neraca analitik. Dari hasil ini diperoleh jamur-jamur yang tumbuh pada pH tertentu dan waktu produksi enzim selulase tertentu.

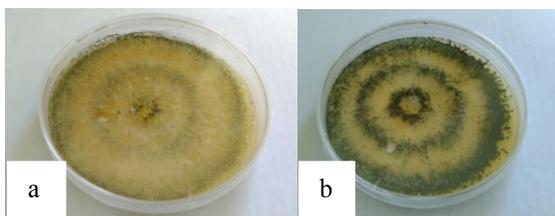
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pemindaian Jamur

Biakan jamur diperoleh dengan mensuspensikan ampas tebu yang ditumbuhi jamur ke dalam air steril dengan pengenceran sampai 10^{-3} , yang dibiakkan dalam medium agar PDA yang mengandung kloramfenikol dalam cawan petri yang ditutup dengan parafilm. Kloramfenikol digunakan sebagai anti-bakteri, agar pertumbuhan jamur tidak terganggu dan terkontaminasi dengan adanya bakteri.

Setelah biakan diinkubasi selama 2-7 hari, terlihat bahwa koloni pada biakan 10^{-1} dan 10^{-2} kali pengenceran masih terlalu rapat sehingga terlalu sulit untuk dilakukan isolasi. Sedangkan koloni yang tumbuh pada biakan yang berasal dari suspensi dengan pengenceran 10^{-3} kali tidak terlalu rapat sehingga lebih mudah dibedakan dan isolasi dapat dengan mudah dilakukan.

Dari isolasi ini diperoleh dua macam jamur yang berbeda yang berhasil diisolasi dalam bentuk kultur murni. Jamur-jamur yang berhasil diisolasi ini diberi kode Jamur Galur 1 dan 2 yang data dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 1 Hasil Pemindaian Jamur Kontaminan Ampas Tebu (a) Jamur 1, (b) Jamur 2

B. Hasil Uji Aktivitas Enzim Selulase Jamur 1 dan 2

Setelah didapatkan 2 jamur hasil pemindaian kontaminan ampas tebu, dilakukan uji aktivitas enzim selulase Jamur 1 dan Jamur 2. Suspensi spora diinokulasikan selama 4 hari, kemudian Jamur 1 dan Jamur 2 dipanen dan diuji aktivitas selulasenya dengan metode reagen DNS menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dari hasil pengujian ini didapatkan nilai absorbansi tertentu yang kemudian dimasukkan ke dalam persamaan garis standar glukosa $y = 0,0002x + 0,0019$. Hasil ini mengindikasikan bahwa Jamur 1 dan Jamur 2 dapat menghasilkan enzim selulase yang ditunjukkan pada Tabel 31.

Tabel 1 Hasil Uji Aktivitas Enzim Selulase Jamur 1 dan Jamur 2 pada Hari ke-4

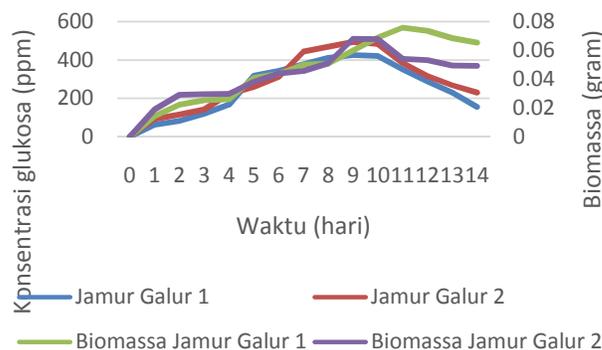
	A	C (ppm)	Biomassa (gram)
Jamur Galur 1	0,0355	168	0,0260
Jamur Galur 2	0,0465	223	0,0299

C. Penentuan Waktu Produksi Enzim Selulase

Menurut Galbe & Zalcehi [6], Proses degradasi selulosa (hidrolisis selulosa) dapat dilakukan secara kimiawi (menggunakan asam atau basa) atau secara biologis menggunakan mikroorganisme selulolitik yang berasal dari bakteri ataupun jamur. Hidrolisis sempurna selulosa akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa, dan hidrolisis tak sempurna akan menghasilkan disakarida dari selulosa yang disebut selobiosa.

Dari Gambar 3.2. dapat diketahui nilai aktivitas selulase masing-masing jamur. Kurva diatas menunjukkan konsentrasi gula pereduksi yang dihasilkan dari hidrolisis selulosa (CMC) menjadi glukosa naik mulai hari pertama sampai hari tertentu untuk setiap jamurnya. Pada Jamur Galur 1, konsentrasi glukosa naik sampai hari ke-9 dengan nilai 425.5 ppm, yang kemudian mulai menurun setelah hari ke-10 sampai hari ke-14. Pada Jamur Galur 2, puncak maksimal kandungan glukosa

didapatkan juga pada hari ke-9. Kurva yang memiliki model parabola, menunjukkan yang sesuai dengan teori. Menurut Crueger [7], kurva pertumbuhan jamur memiliki 4 fase, yaitu: fase lag, fase log, fase stasioner, dan fase kematian dengan bentuk parabola.



Gambar 2 Kurva Waktu Produksi Enzim Selulase Jamur 1 dan 2

Tabel 2 Rasio Perbandingan Konsentrasi Glukosa dengan Biomassa

Hari ke-	Rasio Jamur Galur 1	Rasio Jamur Galur 2
0	0	0
1	4405,59	4869,11
2	3721,97	3955,48
3	4744,09	4831,08
4	6461,54	7458,19
5	7794,12	6819,37
6	7831,05	7072,89
7	7560,00	9672,49
8	8096,65	9158,51
9	7115,36	7239,35
10	6103,05	7123,89
11	4630,12	7066,42
12	3923,71	5930,45
13	3364,96	5403,23
14	2377,68	4665,99

Tabel 3.2. menunjukkan rasio hasil bagi konsentrasi glukosa dengan biomassa yang dihasilkan. Aktivitas selulase untuk Jamur Galur 1 optimum pada hari ke-8 yang ditunjukkan dengan nilai rasio sebesar 8096,65 yang memiliki nilai paling tinggi diantara hari lainnya, dimana pada hari sebelum dan sesudah hari ke-8 nilai aktivitas selulase berada dibawah hari ke-8. Begitu juga dengan Jamur Galur 2 yang memiliki aktivitas selulase optimum pada hari ke-7 dengan nilai rasio sebesar 9672,49. Nilai optimum aktivitas selulase didapatkan dari rasio perbandingan konsentrasi glukosa yang dihasilkan dengan biomassa yang menunjukkan nilai kemampuan enzim selulase menghidrolisis selulosa menjadi glukosa.

Dari kurva dapat diketahui bahwa jamur langsung tumbuh terlihat setelah dilakukan inokulasi spora. Hal ini menunjukkan media pertumbuhan cocok sehingga tidak membutuhkan fase lag atau penyesuaian untuk kedua jamur yang langsung ke fase pertumbuhan di percepat. Pada hari ke-

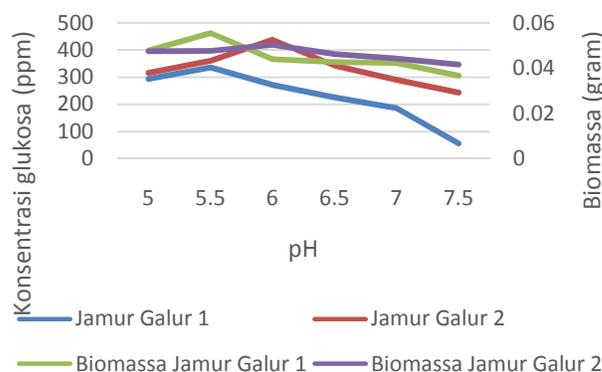
4 sampai hari ke-11 terjadi fase pertumbuhan eksponensial untuk Jamur Galur 1, dan pada hari ke-4 sampai hari ke-9 untuk Jamur Galur 2. Penurunan kandungan glukosa terjadi pada hari ke-10 sampai hari ke-14 akibat laju pembentukan glukosa tidak sebanding dengan biomassa yang tumbuh, dimana semakin banyak biomassa yang tumbuh, maka ia akan membutuhkan lebih banyak glukosa. Fase-fase pertumbuhan tersebut sangat berpengaruh terhadap enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme untuk membantu pencernaan makanannya. Jamur Galur 1 memiliki biomassa paling besar pada hari ke-11 dengan massa 0,0757 gram dan pada hari ke-9 dengan massa 0,0681 gram untuk Jamur Galur 2.

E. Hasil Pengaruh pH terhadap Produksi Enzim Selulase

Proses selanjutnya uji dengan variasi pH pada media untuk mengetahui pengaruh pH terhadap produksi enzim selulase. Pada penelitian ini diberikan variasi pH dengan nilai pH 5.0; 5.5; 6.0; 6.5; 7.0 dan 7.5. Variasi pH dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes NaOH dan HCl yang kemudian diukur pH media menggunakan pH meter pada media cair PDB yang mengandung CMC.

Efek pH terhadap pertumbuhan adalah jamur yang tumbuh pada media dengan pH optimum akan tumbuh dengan baik, dimana jamur ini nanti yang akan menghasilkan enzim selulase. Enzim merupakan suatu protein yang memiliki aktifitas biokimiawi sebagai katalis suatu reaksi sehingga enzim ini sangat rentan terhadap kondisi lingkungan. Adanya perubahan konsentrasi substrat atau pH lingkungan akan mengakibatkan aktivitas enzim ikut mengalami perubahan meskipun masih banyak juga hal lain yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim seperti temperatur atau komposisi media. Setiap enzim yang mempunyai pH dan temperatur tertentu yang menyebabkan aktifitasnya mencapai nilai optimum. Kondisi pH dan temperatur yang optimum akan mendukung enzim dalam melakukan katalisa suatu reaksi dengan baik. Sedangkan temperatur dan pH yang kurang sesuai akan mengakibatkan kerusakan atau tidak aktifnya protein dalam suatu enzim sehingga menyebabkan fungsi dan aktifitas dari enzim tersebut berkurang. Hasil uji pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase, terlihat pada Gambar 3.3.

Setelah 1 mL suspensi spora diinokulasikan ke dalam 20 mL media cair PDB yang telah mengandung CMC dengan variasi pH, diinkubasi Jamur Galur 1 dan Jamur Galur 2 pada hari optimum masing-masing jamur. Seharusnya, jamur dipanen pada hari optimum yang didapatkan; yaitu pada hari ke 8 untuk Jamur Galur 1 dan pada hari ke 7 untuk Jamur Galur 2, tetapi pada penelitian ini dipanen pada hari ke 5 dan pada hari ke 7 untuk masing-masing jamur. Hal ini dikarenakan hasil perhitungan awal didapatkan hari ke 5 dan hari ke 7, tetapi setelah dikaji kembali, didapatkan hari ke 8 dan hari ke 7 untuk masing-masing jamur sehingga data variasi pH yang didapatkan tidak pada hari optimum pertumbuhan jamur. Hasil uji pengaruh pH terhadap aktivitas enzim selulase, terlihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3 Kurva Pengaruh Variasi pH terhadap Produksi Enzim Selulase

Jamur yang telah tumbuh dipanen, disentrifus dan diuji aktivitas dengan menggunakan reagen DNS. Nilai aktivitas selulase merupakan nilai kemampuan enzim selulase mendegradasi selulosa menjadi glukosa dalam satuan jam. Nilai aktivitas selulase adalah kemampuan enzim selulase untuk menghidrolisis substrat selulosa menjadi gula pereduksi, glukosa. Tabel 3 menunjukkan rasio perbandingan konsentrasi glukosa yang didapatkan dengan biomassa untuk mengetahui pH optimum untuk masing-masing jamur.

Tabel 3 Pengaruh pH terhadap Rasio Perbandingan Konsentrasi Glukosa dengan Biomassa

pH	Rasio Jamur Galur 1	Rasio Jamur Galur 2
5	6142,56	6656,12
5,5	6045,05	7589,47
6	6147,73	8725,10
6,5	5281,03	7424,24
7	4385,34	6572,40
7,5	1516,39	5841,35

Dari Gambar 3.3., diketahui aktivitas selulase kedua jamur optimum pada pH 6.0 dengan nilai rasio perbandingan konsentrasi glukosa dengan biomassa sebesar 6147,73 dan 8725,10. Hasil ini sejalan dengan penelitian selulase sebelumnya. Catriona [8] melaporkan bahwa aktivitas selulase yang dihasilkan dari beberapa *Bacillus* optimum pada rentang pH 5.0– 7.0. Immanuel [9] melaporkan bahwa enzim selulase dari *Cellulomonas*, *Bacillus*, and *Micrococcus* spp., menghidrolisis substrat pada rentang pH 4.0 – 9.0, dengan aktivitas maksimum pada pH 7.0. Selain itu, Gupta [10], juga menuliskan pH optimum untuk jamur hasil isolasi dari sampel tanah di India, menunjukkan aktivitas selulase pada pH media 4.0 – 6.0.

Biomassa yang didapatkan dari produksi enzim selulase dengan pengaruh pH diketahui tinggi pada pH optimum masing-masing Jamur, yaitu; pada pH 5.5 untuk Jamur Galur 1 dengan massa 0,0555 gram dan pada pH 6.0 untuk Jamur Galur 2 dengan massa 0,0502 gram. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan miselium dapat mempengaruhi aktivitas selulase. Miselium yang lebih banyak akan menghasilkan

enzim selulase yang lebih banyak pula, sehingga aktivitas selulase semakin tinggi.

Production of Security Paper. Central Pulp and Paper Research Institute, India, p. 11-19.

IV. KESIMPULAN

Didapatkan hasil pemindaian jamur kontaminan ampas tebu yang diberi kode Jamur Galur 1 dan Jamur Galur 2. Nilai aktivitas selulase Jamur Galur 1 optimum pada hari ke-8 dan Jamur Galur 2 optimum pada hari ke-7 dengan nilai rasio perbandingan konsentrasi glukosa dan biomassa sebesar 8096,65 dan 9672,49 untuk masing-masing Jamur. pH optimum untuk kedua jamur pada pH 6.0 dengan nilai rasio perbandingan konsentrasi glukosa dengan biomassa sebesar 6147,73 dan 8725,10.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Drs. Refdinal Nawfa, M.Si selaku dosen pembimbing sekaligus dosen wali yang telah berkenan membimbing, memberikan pengetahuan, saran dan nasihat, rekan-rekan di kelompok riset mikroorganisme serta semua pihak yang telah berperan baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Christiyanto M. dan Subrataa. 2005. Perlakuan Fisik dan Biologis pada Limbah Industri Pertanian terhadap Komposisi Serat. Semarang: Universitas Diponegoro.
- [2] Husin, A. A. 2007. Pemanfaatan Limbah untuk Bahan Bangunan.
- [3] Yuniar, D. 2013. Skrining dan identifikasi Kapang Selulolitik pada Proses Vermikomposting Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS). Jember: Universitas Jember.
- [4] Hardianty, D. I., Roza, R. M., dan Martina, A. 2013. Isolasi dan Seleksi Jamur Selulolitik dari Hutan Arboretum Universitas Riau. Pekanbaru: Kampus Binawidya.
- [5] Roza, R. M., Martina, A., Fibrianti, B. L., Zul D., dan Ramadhan N. 2013. Isolasi dan Seleksi Jamur Selulolitik dari Tanah Gambut di Perkebunan Karet Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar Riau. Pekanbaru: Universitas Riau.
- [6] Galbe, M., Zacchi, G., dan Sassner, P. 2007. Techno-economic Evaluation of Bioethanol Production from Three Different Lignocellulosic Materials. *Journal Biomass & Energy*, Vol. 32, p. 422-430.
- [7] Crueger, A. W. dan Crueger. 1984. In: T. D. Brock. (ed.), *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology*, Minuaer Associates, Sunderland, p. 12-50.
- [8] Catriona A. W., Sheila I. M., dan Thomas, M. W. 1994. Characterization of a β -D-Glucosidase from the Anaerobic Rumen Fungus *Neocallimastix frontalis* with Particular Reference to Attack on Cello-Oligosaccharides. *J. Biotechnol.* 37: 217-227.
- [9] Immanuel, S. 2006. Latar Belakang Pengembangan Biodiesel, sinarharapan.co.id
- [10] Gupta, C., Jain, P., Kumar, D., A. K. Dixit dan R. K. Jain . 2015. Production of Cellulase Enzyme from Isolated Fungus and Its Application as Efficient Refining Aid for