

PEMANFATAN LIMBAH PERTANIAN SEBAGAI SUBSTRAT UNTUK MEMPRODUKSI ENZIM SELULASE OLEH *Aspergillus niger*

UTILIZATION OF AGRICULTURAL WASTE AS A SUBSTRATE FOR PRODUCING CELLULASE ENZYME BY *Aspergillus niger*

Nurma Pratiwi^{1*} dan Sigit Ardiansyah²,

¹ Jurusan Teknologi Pertanian, Prodi Pengembangan Produk Agroindustri, Polinela
² Jurusan Budidaya Tanaman Pangan, Prodi Produksi Tanaman Hortikultura, Polinela
penulis korespondensi: nurma.ptw@gmail.com

Tanggal masuk: Juni 2022

Tanggal diterima: Agustus 2022

Abstract

*Fresh Fruit Bunches (FFB) of oil palm, bran, straw, and bagasse are agricultural wastes whose availability is very abundant in Indonesia. The agricultural waste is lignocellulosic waste which still has economic value if further processing is carried out, namely as a substrate in the production of cellulase enzymes. Cellulase enzymes are commonly used in various industries such as food biotechnology, textiles, animal feed, paper, and agriculture to degrade cellulose with its main products, namely glucose, cellobiose, and cellooligosaccharides. In producing cellulase enzymes, it is necessary to have microorganisms that have a high ability to produce enzymes, one of which is *Aspergillus niger*. The purpose of this study was to determine the activity of crude cellulase enzyme, protein content, and specific activity of cellulase enzyme from agricultural waste which includes FFB, bran, straw, and bagasse. The research methods included preparation of *Aspergillus niger* culture, delignification, basal medium preparation, cellulase enzyme production, enzyme extraction, crude cellulase enzyme activity test (CMC-ase), lowry method protein content test, and determination of cellulase enzyme specific activity. The study showed that the highest crude cellulase enzyme activity in bran was 26.83 U/ml, the highest protein content in bagasse was 63.42 g/ml, and the highest specific activity of cellulase enzyme in straw was 0.9818 U/ml. The high enzyme activity is influenced by the cellulose content in the material, type of substrate, media, substrate concentration, pH, and temperature.*

Keywords: *agricultural waste, *Aspergillus niger*, basal medium, cellulase enzymes, delignification.*

Abstrak

Tandan Buah Segar (TBS) kelapa sawit, dedak, jerami dan ampas tebu merupakan limbah pertanian yang ketersediaannya sangat melimpah di Indonesia. Limbah pertanian tersebut merupakan limbah lignoselulosa yang masih mempunyai nilai ekonomis bila dilakukan pengolahan lebih lanjut yaitu sebagai substrat dalam produksi enzim selulase. Enzim selulase umumnya digunakan dalam berbagai industri seperti bioteknologi makanan, tekstil, pakan ternak, kertas, dan pertanian untuk mendegradasi selulosa dengan produk utamanya yaitu glukosa, selobiosa dan selooligosakarida. Dalam memproduksi enzim selulase perlu adanya mikroorganisme yang memiliki kemampuan yang tinggi untuk menghasilkan enzim, salah satunya *Aspergillus niger*. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas enzim selulase kasar, kadar protein, aktivitas spesifik enzim selulase dari limbah pertanian yang meliputi TBS, dedak, jerami dan ampas tebu. Metode penelitian meliputi penyiapan kultur *Aspergillus niger*, delignifikasi, pembuatan medium basal, produksi enzim selulase, ekstraksi enzim, uji aktivitas enzim selulase kasar (CMC-ase), uji kadar protein metode lowry dan penentuan aktivitas spesifik enzim selulase. Penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase kasar tertinggi pada dedak yaitu 26,83 U/ml, kadar protein tertinggi pada ampas tebu yaitu sebesar 63,42 g/ml, dan aktivitas spesifik enzim selulase tertinggi pada jerami yaitu 0,9818 U/ml. Tingginya aktivitas enzim dipengaruhi kandungan selulosa dalam bahan, jenis substrat, media, konsentrasi substrat, PH dan suhu.

Kata kunci: *Aspergillus niger, delignifikasi, enzim selulase, limbah pertanian, medium basal.*

PENDAHULUAN

Limbah pertanian seperti dedak, jerami, tandan buah segar (TBS) kelapa sawit dan ampas tebu merupakan limbah lignoselulosa yang masih mempunyai nilai ekonomis bila dilakukan pengolahan lebih lanjut. Sejalan dengan perkembangan bioteknologi, pemanfaatan mikroba dalam proses biokonversi limbah dapat dilakukan guna mendapatkan nilai tambah dari bahan limbah tersebut untuk memproduksi enzim selulase (Anindyawati, 2015).

Selama ini telah banyak penelitian yang dilakukan tentang produksi enzim selulase dari berbagai jenis mikroba baik bakteri maupun kapang. Menurut Wahyuningtyas *et al.*, (2013) beberapa jenis kapang yang mampu menghasilkan enzim selulase cukup tinggi adalah *Penicillium sp.*, *Aspergillus niger*, dan *Paecylomyces sp.* *Aspergillus niger* merupakan fungi dari *ascormycota* yang berfilamen, mempunyai hifa, bercabang-cabang dan bersekat, dan ditemukan melimpah di alam (Pujiati *et al.*, 2014). Muchtar, (2013) mengemukakan bahwa *Aspergillus niger* sebagai salah satu mikroorganisme yang memiliki kemampuan yang tinggi untuk menghasilkan berbagai enzim seperti enzim selulase, amilase, dan amiloglukosidase.

Enzim selulase adalah enzim yang mampu mendegradasi selulosa dengan produk utamanya yakni glukosa, selobiosa dan selooligosakarida. Selulase memiliki sistem enzim yang terdiri dari endo-1,4-*-glukanase*, ekso-1,4-*-glukanase* dan *-D-glukosidase*. Ketiga enzim ini bekerja secara sinergis mendegradasi selulosa dan melepaskan gula pereduksi sebagai produk akhirnya. Endo-1,4-*-glukanase* memotong ikatan rantai dalam selulosa menghasilkan molekul selulosa yang lebih pendek, ekso-1,4-*-glukanase* memotong ujung rantai selulosa menghasilkan molekul selobiosa, sedangkan *-D-glukosidase* memotong molekul selobiosa menjadi dua molekul glukosa (Irsyah, 2021).

Enzim selulase banyak dimanfaatkan dalam berbagai industri. enzim selulase umumnya digunakan dalam berbagai industri seperti bioteknologi makanan, tekstil, pakan ternak, kertas, dan pertanian. Substrat yang digunakan untuk produksi enzim selulase terutama berasal dari bahan yang mengandung selulosa, sehingga biokonversi limbah pertanian dan rumah tangga menjadi sangat potensial untuk digunakan sebagai bahan fermentasi dalam produksi enzim selulase (Nurrady *et al.*, 2018).

TBS, dedak, jerami dan ampas tebu merupakan limbah pertanian yang ketersediaannya sangat melimpah di Indonesia. Jika dilihat dari sisi ekonomisnya tentu lebih murah dan ramah lingkungan. Pemilihan keempat limbah tersebut dalam penelitian ini didasari oleh banyaknya jumlah selulosa yang terkandung di dalamnya. Kandungan jerami terdiri dari beberapa komponen utama yakni 50% selulosa, 25-30% lignin, 15-20% silika, dan kadar air 9,02% sedangkan komponen utama yang terdapat pada ampas tebu adalah hemiselulosa 20-32,2%, selulosa 40,3-55,35%, dan lignin 11,2-15,27% (Pertiwi P, 2017).

Berdasarkan uraian di atas, penting dilakukan penelitian tentang pemanfaatan limbah pertanian seperti tandan buah segar (TBS) kelapa sawit, dedak, jerami dan ampas tebu untuk memproduksi enzim selulase oleh *Aspergillus niger*. Selanjutnya dianalisa

aktivitas enzim dan kadar protein sehingga limbah pertanian tersebut berpotensi sebagai substrat dalam produksi enzim selulase.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, pipet ukur, mikrometer pipet, labu ukur, neraca analitik, kapas, aluminium foil, autoklaf, sheeker, inkubator, cawan petri, jarum ose, bunsen, laminar, vortex, waterbath, sentrifuse, oven, loyang, spektrofotometer.

Bahan yang digunakan yaitu dedak, jerami, tandan buah segar (TBS) kelapa sawit, ampas tebu, aquadest, medium basal, kultur *Aspergillus niger*, Tween 80, Reagen DNS,, CMC, Reagen Lowry A, Reagen Lowry B, PDA, dan NaOH.

Metode Penelitian

Metode penelitian terdiri dari penyiapan kultur *Aspergillus niger*, delignifikasi, pembuatan medium basal, produksi enzim selulase, ekstraksi enzim, analisis aktivitas volume enzim selulase kasar (CMC-ase), analisa kadar protein, dan penentuan aktivitas spesifik.

Penyiapan Kultur Aspergillus niger

Kultur kerja dipersiapkan dengan menginokulasikan kapang yang telah diremajakan (dari kultur stok) ke dalam media agar miring (PDA) yang telah dipersiapkan sebelumnya. Spora biakan murni *A. niger* ditumbuhkan dengan cara menggores pada permukaan media (1 ose per tabung). Biakan murni tersebut diinkubasi pada suhu 25 - 27°C selama 7 hari.

Proses Delignifikasi

Limbah industry pertanian dan limbah rumah tangga (ampas tebu, jerami padi, dedak, dan tandan kelapa sawit) sebanyak 40 gram direndam dengan larutan NaOH 1%). Bahan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml yang telah ditambahkan 200 ml larutan alkali. Biarkan pada suhu ruang selama 2 jam. Setelah 2 jam dicuci dengan aquadest untuk menghilangkan residu asam/alkali kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 70°C. Setelah kering bahan dihancurkan menjadi serbuk dan disimpan pada wadah kedap air untuk digunakan lebih lanjut.

Pembuatan medium basal

Membuat larutan medium basal dimana dalam setiap liter larutan medium basal mengandung 24 g PDB, 5 g yeast ekstrak, 1 g $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, 0,5 g KH_2PO_4 , 0,5 g K_2HPO_4 dan 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Semua bahan dilarutkan secara sempurna sebelum digunakan.

Produksi enzim selulase

Fermentasi padat enzim selulase dilakukan di dalam Erlenmeyer 250 ml yang diisi dengan 100 ml medium basal. Substrat fermentasi (limbah yang telah didelignifikasi) sebanyak 40 g di tambahkan ke dalam medium basal. Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit, didinginkan dan diinokulasi dengan 1% spora kapang *A. niger* (3 cuplikan spora kapang). Inkubasi dilakukan selama 6 hari pada suhu ruang (25-30°C).

Ekstraksi enzim

Enzim yang terbentuk diekstrak dengan menambahkan aquadest dengan perbandingan (1:2) dan Tween 80(1% dari aquadest yang digunakan) ke dalam media fermentasi kemudian digoyang pada rotary shaker dengan kecepatan 120 rpm selama 15 menit. Campuran kemudian disaring dan padatan dipres untuk memisahkan larutan yang mengandung enzim kasar. Filtrat kemudian disentrifuse pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Bagian jernih dari supernatan kemudian dianalisis sebagai ekstrak enzim kasar. Hasil enzim yang diperoleh diencerkan dengan faktor pengenceran 100 agar diperoleh sampel yang bening sehingga mudah untuk direaksikan dengan reagen DNS maupun Reagen Lowry.

Uji aktivitas enzim selulase kasar (CMC-ase)

Penghitungan aktivitas enzim selulase dilakukan dengan mengukur glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis selulosa oleh enzim selulase kasar dengan metode DNS. Substrat selulosa yang digunakan dalam penentuan aktivitas enzim selulase kasar ini adalah CMC. Aktivitas enzim selulase kasar ditentukan dengan cara sebagai berikut: dari tiap cairan produksi enzim diambil sampel sebanyak 1,5 mL untuk dimasukkan ke dalam microtube, sampel kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Selanjutnya, supernatan diambil sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup dan ditambahkan 0,5 ml substrat CMC 1% kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 50°C. Setelah itu, ditambahkan 3 ml DNS dan dipanaskan selama 5 menit pada air mendidih. Setiap larutan pada tabung diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 550 nm. Perhitungan untuk mendapatkan aktivitas volum enzim CMC-ase didasarkan pada 1 µ-mol glukosa = 0.18 mg dan 1 unit aktivivtas CMC-ase adalah 1µ-mol glukosa yang dihasilkan permenit. Jika inkubasi dilakukan selama 30 menit maka 1 mg glukosa yang dihasilkan per mL adalah 1(30x0.18) unit = 0.185 unit, sehingga:

$$\text{Satu Unit Aktivitas Volume Enzim CMC-ase (U/ mL)} = \frac{m \text{ g}}{M} \times U,1 \dots\dots\dots(1)$$

Selanjutnya ditentukan aktivitas enzim kasar dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Aktivitas Enzim (Unit/ml)} = \frac{C \text{ g}}{E \text{ x M G}} \times F \times \frac{V \text{ S}}{V \text{ E}} \dots\dots\dots(2)$$

kandungan protein terlarut dengan Metode Lowry

Penghitungan kadar total protein dilakukan untuk menentukan aktivitas spesifik enzim selulase kasar. Penghitungan kadar total protein ini dilakukan bersamaan dengan penghitungan aktivitas enzim selulase kasar. Penghitungan kandungan total protein terlarut dilakukan dengan cara sebagai berikut:

a. Persiapan kurva standar larutan protein

Larutan protein (Bovine Serum Albumin/BSA) dengan konsentrasi 300 µl. Larutan protein tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi sehingga kadarnya bertingkat dari 30-300 µg/ml. Pengenceran dilakukan seperti pada Tabel 1, sebagai berikut:

Tabel 1. Pengenceran larutan protein

Tabung	ml larutan 300 µg protein/ml	ml H ₂ O	Ug protein/ml
1	0	1	0
2	0.1	0.9	30
3	0.2	0.8	60
4	0.3	0.7	90
5	0.4	0.6	120
6	0.5	0.5	150
7	0.6	0.4	180
8	0.7	0.3	210
9	0.8	0.2	240
10	1.0	0	300

Dari masing-masing tabung diambil larutan 1 ml. Kemudian ditambahkan ke dalam masing-masing tabung 5 ml reagen lowry B, dikocok, dan dibiarkan selama 10 menit. Kemudian tambahkan 0.5 ml reagen Lowry A, dikocok dan dibiarkan 20 menit. Selanjutnya, dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer. Kemudian dibuat kurva standarnya.

Sampel enzim kasar yang akan diukur kadar proteinnya dicampur dengan aquadest hingga volume akhir mencapai 1 ml, kemudian ditambahkan 5 ml reagen Lowry B, dikocok dan dibiarkan selama 10 menit. Setelah sepuluh menit (waktu inkubasi harus tepat 10 menit) tambahkan 0.5 ml reagen Lowry A, vortex, dan inkubasi selama 20 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 660 nm pada alat spektrofotometer. Diukur juga larutan blanko pada panjang gelombang yang sama. Untuk menghitung kadar protein sampel digunakan persamaan regresi dari kurva standar protein.

b. Perhitungan Persentase Protein

Setelah diperoleh data absorbansi dari spektrofotometer maka ditentukan konsentrasi dari sampel tersebut yang merupakan persentase kadar proteinnya.

Penentuan Aktivitas Spesifik

Aktivitas spesifik enzim selulase dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan aktivitas enzim kasar dibagi dengan kandungan protein enzim selulase.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil yang diperoleh dalam penelitian pemanfaatan berbagai limbah pertanian sebagai media padat untuk memproduksi enzim selulase dapat ditunjukkan pada Tabel 2, sebagai berikut.

Tabel 2. Aktivitas Enzim kasar, kadar protein dan aktivitas spesifik limbah pertanian

Limbah pertanian	Aktivitas Enzim Kasar (U/ml)	Kadar Protein (g/ml)	Aktivitas Spesifik (U/ml)
Tandan Buah Segar (TBS) kelapa Sawit	0,12	1,19	0,1039
Dedak	26,83	44,46	0,6035
Jerami	23,29	23,72	0,9818
Ampas tebu	0,26	63,42	0,0041

Aktivitas enzim kasar

Berdasarkan Tabel 2, aktivitas enzim kasar pada TBS sebesar 0,12 U/ml, dedak 26,83 U/ml, jerami 23,29 U/ml dan ampas tebu 0,26 U/ml. Aktivitas enzim kasar tertinggi pada dedak yaitu 26,83 U/ml. Dedak merupakan hasil ikutan penggilingan padi atau sisa penumbukan padi yang memiliki kandungan selulosa yang tinggi. Menurut Hasyim (2021), kandungan selulosa pada dedak padi yaitu 14-16%. Tingginya aktivitas enzim kasar dipengaruhi oleh substrat yang dari bahan berpati maupun berselulosa salah satunya adalah dedak (Pujati et al., 2014).

Peningkatan aktivitas enzim selaras dengan aktivitas atau pertumbuhan mikroba telah mencapai titik maksimal. Hal ini menunjukkan bahwa seiring dengan kenaikan kelembapan porositas semakin menurun, tetapi kelarutan nutrient dalam media semakin tinggi. Hal ini disebabkan oleh tingginya kelarutan nutrien dalam media sehingga suplai nutrien untuk *Aspergillus niger* tumbuh semakin besar. Kelembapan yang terlalu tinggi dapat mengurangi porositas padatan sehingga menghalangi transfer oksigen. Kelembapan yang terlalu rendah menyebabkan berkurangnya kelarutan nutrien dalam substrat (Nababan et al., 2019).

Penggunaan media CMC pada produksi enzim selulase kasar berfungsi sebagai substrat dan sebagai zat penginduksi (inducer) untuk menghasilkan enzim selulase kasar (Pertwi P, 2017). Substrat CMC juga dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber karbon untuk menghasilkan glukosa. Apabila semakin banyak karbon dalam media produksi maka enzim selulase yang dihasilkan juga semakin meningkat (Nababan et al., 2019)

Kadar protein

Untuk mengetahui kandungan protein dalam enzim selulase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* dilakukan analisa kadar protein dengan menggunakan metode Lowry. Berdasarkan Tabel 2, kadar protein pada TBS sebesar 1,19 g/ml, dedak 44,46 g/ml, jerami 23,72 g/ml dan ampas tebu 63,42 g/ml. Kadar protein tertinggi pada ampas tebu yaitu sebesar 63,42 g/ml setara dengan 0,63%. Kadar protein ini sejalan dengan yang dilaporkan (Retnani et al., 2016) bahwa protein ampas tebu kurang dari 4%.

Tingginya kadar protein pada ampas tebu disebabkan adanya kerja *Aspergillus niger* dan adanya penambahan protein yang terdapat pada sel *Aspergillus sp.* tersebut. Mikroba yang tumbuh dan berkembang dengan baik akan mengubah komponen penyusun media menjadi massa sel, sehingga akan terbentuk protein yang berasal dari tubuh kapang itu sendiri dan akhirnya akan meningkatkan protein kasar dari bahan (Rafles et al., 2017).

Aktivitas spesifik enzim selulase

Aktivitas spesifik enzim selulase diperoleh dengan cara membagi aktivitas enzim kasar dengan kandungan protein enzim selulase. Berdasarkan Tabel 2, aktivitas enzim spesifik yang diperoleh yaitu pada TBS sebesar 0,1039 U/ml, dedak 0,6035 U/ml, jerami 0,9818 U/ml dan pada ampas tebu 0,0041 U/ml. Aktivitas spesifik enzim tertinggi pada jerami yaitu 0,9818 U/ml. Nilai aktivitas enzim spesifik ini jika dibandingkan dengan yang dilaporkan Pertiwi P, (2017) yaitu 0,0361-0,0732 U/ml. Tingginya aktivitas enzim spesifik dipengaruhi kandungan selulosa dalam bahan. Kandungan selulosa jerami sangat tinggi yaitu 50% dan lignin sebesar 25-30% (Pertiwi P, 2017).

Aktivitas enzim selulase spesifik ini dipengaruhi oleh jenis substrat dan media, konsentrasi substrat, PH dan suhu (Pertiwi P, 2017). Aktivitas enzim akan meningkat sejalan dengan bertambahnya waktu fermentasi dan menurun pada hari ke-10. Hal ini mengikuti pola pertumbuhan mikroorganisme yang mengalami beberapa fase pertumbuhan yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Organisme pembentuk spora biasanya memproduksi enzim pada fase pasca eksponensial. Jadi dapat diduga bahwa pada saat aktivitas enzim yang dihasilkan tinggi, maka kapang telah berada pada fase tersebut. Pada temperatur 31 °C aktivitas tertinggi diperoleh setelah hari ke-4 fermentasi, akan tetapi pada hari ke-6 mengalami penurunan aktivitas enzim dan pada hari ke-8 mengalami kenaikan kembali (Pujiati et al., 2014).

KESIMPULAN

Aktivitas enzim kasar pada TBS sebesar 0,12 U/ml, dedak 26,83 U/ml, jerami 23,29 U/ml dan ampas tebu 0,26 U/ml. Aktivitas enzim kasar tertinggi pada dedak yaitu 26,83 U/ml karena dedak memiliki kandungan selulosa yang tinggi. Kadar protein pada TBS sebesar 1,19 g/ml, dedak 44,46 g/ml, jerami 23,72 g/ml dan ampas tebu 63,42 g/ml. Kadar protein tertinggi pada ampas tebu yaitu sebesar 63,42 g/ml setara dengan 0,63%. Sedangkan aktivitas enzim spesifik yang diperoleh yaitu pada TBS sebesar 0,1039 U/ml, dedak 0,6035 U/ml, jerami 0,9818 U/ml dan pada ampas tebu 0,0041 U/ml. Aktivitas spesifik enzim selulase tertinggi pada jerami yaitu 0,9818 U/ml. Tingginya aktivitas enzim dipengaruhi kandungan selulosa dalam bahan, jenis substrat, media, konsentrasi substrat, PH dan suhu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Politeknik Negeri Lampung yang telah memberikan fasilitas peralatan laboratorium dan semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anindyawati, T., 2015. Potensi Selulase Dalam Mendegradasi Lignoselulosa Limbah Pertanian Untuk Pupuk Organik. *Ber. Selulosa* 45, 70–77.
- Hasyim, A.M., 2021. Kandungan Hemiselulosa, Selulosa Dan Lignin Dedak Padi Pada Berbagai Varietas Padi Di Kabupaten Bima. Universitas Mataram.
- Irsyah, M.R.N., 2021. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Asal saluran Pencernaan rayap kasta Pekerja *Cryptotermes cynocephalus* Light. Universitas Hasanudin.
- Muchtar, M., 2013. Pemanfaatan Kult Buah Kakao Sebagai Media Padat Untuk Memproduksi Enzim Amilase Oleh *Aspergillus Niger* Dan *Aspergillus Oryzae* (Utilization).
- Nababan, M., Gunam, I.B.W., Mahaputra Wijaya, I.M., 2019. Produksi Enzim Selulase Kasar Dari Bakteri Selulolitik. *J. Rekayasa Dan Manaj. Agroindustri* 7, 190. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i02.p03>
- Nurrady, C.L., Nurliana, N., Safika, S., Ferasyi, T.R., Ismail, I., Muttaqien, M., 2018. 19. The Effect of AKBIS Probiotic Adding that Fermented in Fodder toward the Total of *Aspergillus niger* of Broiler's Gastrointestinal Tract. *J. Med. Vet.* 12, 117–123. <https://doi.org/10.21157/j.med.vet..v12i2.4051>
- Pertiwi P, N., 2017. Karakterisasi Enzim Selulase Yang Dihasilkan Khamir *Candida Utilis* *Candida*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Alaudin.
- Pujiati, P., Kiswardianta, R.B., Solikati, W., 2014. Pengaruh Konsentrasi Dan Lama Inkubasi Terhadap Aktivitasenzim Selulase Darikapang *Aspergillusniger* *Aspergillus niger* Is One Type Of Mold That Has A High Ability To Produce Cellulases . *Cellulases in significant differences in inoculum concentrations and i. J. LPPM* 2, 19–24.
- Raffles, R., Harahap, E., Febrina, D., 2017. Nilai Nutrisi Ampas Tebu (Bagasse) Yang Difermentasi Menggunakan Starbio® Pada Level Yang Berbeda. *J. Peternak.* 13, 59–65. <https://doi.org/10.24014/jupet.v13i2.2420>
- Retnani, Y., Widiarti, W., Amiroh, I., Herawati, L., Satoto, K.B., 2016. Daya Simpan dan Palatabilitas Wafer Ransum Komplit Pucuk dan Ampas Tebu untuk Sapi Pedet. *Media Peternak.* 32, 130–136.
- Wahyuningtyas, P., Argo, B.D., Nugroho, W.A., 2013. Studi Pembuatan Enzim Selulase Dari Mikrofungi *Trichoderma reesei* Dengan Substrat Jerami Padi Sebagai Katalis Hidrolisis Enzimatik Pada Produksi Bioetanol. *J. Bioproses Komod. Trop.* 1, 21–25.