

PENGARUH KADAR GLUKOSA DAN WAKTU INOKULASI PADA OPTIMASI PEMBUATAN ENZIM SELULASE DENGAN MENGGUNAKAN JAMUR *ASPERGILLUS NIGER* DAN SUBSTRAT KERTAS

AM Fuadi¹, Hamid Abdillah², Alfian Achmad³, Danang EP⁴, Adi Setiawan⁵

^{1,2,3,4,5}Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan, Surakarta, Jawa Tengah 57162

Email: Fuadi60@yahoo.com

Abstrak

Enzim selulase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Enzim ini sering digunakan pada beberapa industri yaitu industri tekstil, industri makanan, dan industri pulp dan kertas. Keterbatasan akan tersedianya enzim selulase ini, membuat enzim selulase susah didapatkan, oleh karena itu diperlukan penelitian untuk memproduksi enzim selulase secara optimal. Penelitian ini akan digunakan limbah kertas sebagai substrat, kertas merupakan bahan yang mengandung selulosa, pada kertas HVS kandungan selulosa mencapai 90% berat. Kapang *Aspergillus Niger* sebagai penghasil enzim selulase didapatkan dari pengembangbiakan menggunakan media PDA (Potato Dextro Agar). Penelitian inidilakukan dengan perlakuan perbedaan penambahan jumlah glukosa starter sebanyak 0,3, 5,7,9,15, dan 20 mL, serta variasi waktu inkubasi yaitu selama 2, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 14, 16, 18, 20 hari. Dari kedua variasi tersebut didapatkan hasil yang optimum yaitu glukosa 5 mL, pada waktu 11 hari dengan besarnya nilai aktivitas enzim yaitu sebesar 0,0797 Unit/mL dan 0,0766 Unit/mL.

Kata Kunci: *Aspergillus niger*; Enzim Selulase; Kertas; Selulosa

Pendahuluan

Kertas merupakan bahan yang banyak dijumpai dalam kehidupan sehari – hari, begitu banyak aktivitas yang menggunakan kertas sehingga limbah kertas mudah didapati. Bahan dasar pembuatan kertas adalah kayu/tumbuhan yang mengandung beberapa komponen yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Pada kertas HVS kandungan selulosa mampu mencapai 90% berat. Kandungan selulosa yang tinggi pada kertas ini memungkinkan untuk dijadikan sebagai substrat pada pembuatan enzim selulase (Taruna, dkk. 2010).

Selulosa adalah senyawa organik yang paling melimpah di alam. Ada dua tipe dasar selulosa yang terdapat di alam, yaitu pektoselulosa dan lignoselulosa. Contoh pektoselulosa seperti rami yang mengandung 80% selulosa dan contoh lignoselulosa yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Sebagai senyawa utama penyusun dinding sel tanaman, selulosa mencakup sekitar 30% dari keseluruhan material tumbuhan (90% dari kapas dan 50% dari kayu merupakan selulosa)(White, 2000).

Pemanfaatan selulosa telah dilakukan di berbagai bidang, diantaranya untuk produksi kertas, *fiber*, dan senyawa kimia turunannya untuk industri plastik, film fotografi, rayon, dan lainnya. Produk hidrolisis selulosa yaitu gula (glukosa) juga merupakan senyawa yang vital dalam industri bioproses. Oleh karena itu penggunaan selulosa sebagai sumber glukosa, di samping sebagai sumber energi terbarukan yang murah dan melimpah untuk berbagai keperluan semakin berkembang. Hidrolisis selulosa dapat dilakukan dengan menggunakan asam kuat maupun enzim selulase. Hewan herbivora dapat menggunakan selulosa sebagai bahan makanan karena memiliki rumen mikroflora untuk menghasilkan enzim selulase. Rumen mikroflora merupakan komunitas dari berbagai jenis mikroorganisme yang hidup di dalam perut hewan herbivora tersebut (Taruna, dkk. 2010).

Enzim yang dapat menghirolisis selulosa adalah selulase. Produksi selulase secara komersial biasanya menggunakan kapang atau bakteri. Kapang yang dapat menghasilkan selulase adalah *Aspergillus niger*, *Tricoderma viride*, dan lain – lain. Bakteri yang bisa menghasilkan selulase adalah *Pseudomonas*, *Cellulomonas*, dan *Bacillus*. *Aspergillus Niger* merupakan salah satu kapang yang dapat mendegrasi selulosa yang terdapat dalam kayu. Pada umumnya fungi jenis ini banyak dijumpai di pepohonan, mereka menghasilkan enzim selulosa untuk mendegradasi selulosa yang terdapat dalam kayu menjadi glukosa untuk prosesmetabolismenya (Arnata, 2009).

Menurut Volk (1988), selulase adalah nama bagi semua enzim yang memutuskan ikatan glikosidik beta-1,4 di dalam selulosa, sedodekstrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya. Selulase tidak dimiliki oleh manusia, karena itu manusia tidak dapat menguraikan selulase. Tetapi hal ini dapat dilakukan oleh beberapa hewan seperti

kambing, sapi, dan insekta seperti rayap karena dalam sistem pencernaannya mengandung bakteri dan protozoa yang menghasilkan enzim selulase yang akan menghidrolisis (mengurai) ikatan glikosidik beta-1,4. Oleh karena reaksi yang ditimbulkan oleh selulase saat mengurai selulosa adalah hidrolisis, maka selulase diklasifikasikan ke dalam jenis enzim hidrolase.

Pengelompokkan enzim selulase berdasarkan kespesifikan substrat masing-masing enzim yaitu: endo- β -1,4-glukanase (β -1,4-D-glukan-4-glukanohidrolase) menghidrolisis ikatan glikosidik β -1,4 secara acak terutama pada daerah amorf serat selulosa. Enzim ini dapat bereaksi dengan selulosa kristal tetapi kurang aktif. Selain itu, endo- β -1,4-glukanasetidak menyerang selobiosa, tapi menghidrolisis selodekstrin dan selulosa yang telah dilunakkan dengan asam fosfat dan selulosa yang telah disubstitusi (seperti CMC). Enzim ini secara umum dikenal sebagai CMC-ase atau selulase Cx.

Aspergillus Niger dapat tumbuh optimum pada suhu 35-37°C, dengan suhu minimum 6-8°C, dan suhu maksimum 45-47°C. Selain itu, dalam proses pertumbuhannya fungi ini memerlukan oksigen yang cukup (*aerobik*). *A. niger* memiliki warna dasar berwarna putih atau kuning dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam (Madigan, 2006). Dalam metabolismenya *Aspergillus niger* dapat menghasilkan asam sitrat sehingga fungi ini banyak digunakan sebagai model fermentasi karena fungi ini tidak menghasilkan mikotoksin sehingga tidak membahayakan (Sari L, 2004). *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan cepat, oleh karena itu *Aspergillus niger* banyak digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat, dan pembuatan beberapa enzim seperti amylase, pektinase, amiloglukosidase, dan selulase (Spring M, 2008). Selain itu, *A. niger* juga menghasilkan *gallic acid* yang merupakan senyawa fenolik yang biasa digunakan dalam industri farmasi dan juga dapat menjadi substrat untuk memproduksi senyawa antioksidan dalam industri makanan (Trevino L dkk, 2007).

Pada proses inokulasi kapang *Aspergillus niger* membutuhkan nutrisi agar produksi enzim berlangsung optimal. Beberapa unsur yang dibutuhkan adalah karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, fosfor, sulfur, kalium, magnesium, asam nukleat, kalsium. Berikut ini adalah beberapa contoh komposisi nutrisi yang di dapatkan dari beberapa referensi dan penelitian terdahulu:

1. Urea (3 g/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (10 g/L), KH_2PO_4 (3 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 g/L), $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,5 g/L) dilarutkan dalam 1 Liter aquades (Singhania, et al., 2006) di ukur pH awal dan di atur hingga 5 untuk *A. niger* (Harfinda, 2011) maupun *T. reesei* (Sukardati dkk, 2010)
2. Ekstrak yeast (2,5 g/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,35 g/L), KH_2PO_4 (0,5 g/L), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,1 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,075 g/L), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,00125), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,004 g/L), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,00035). Semua larutan dilarutkan dalam buffer asetat 0,1 M pH 5,5.
3. FeSO_4 (2,5 gram), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,98 gram), $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,76 gram), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1,83 gram), dilarutkan dalam aquadenim (495 mL), dan ditambahkan HCl (mL) (Mandels M, 1975).
4. Pepton (1 gram), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1,4 g/L), KH_2PO_4 (1,4 gram), CaCl_2 (0,3 gram), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,3 g/L), urea (0,3 g/L) dilarutkan dalam 1 liter aquadenim (Mandels M, 1975).

Aktivitas enzim diuji menggunakan metode CMCase dalam satuan International Unit (IU) dengan reagen Dinitrosalicylic acid (DNS) (Miller, 1959). Dinitrosalisilat membentuk senyawa yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 – 550 nm. Jumlah glukosa yang dihasilkan dilihat melalui indikator spektrum warna menggunakan spektrofotometer. Larutan glukosa 0; 0,5; 1; 1,5; 2,0 digunakan untuk membuat kurva standart pada perhitungan jumlah glukosa yang dihasilkan. Konversi kadar glukosa ke dalam unit aktivitas (IU) menggunakan rumus (Ghose, 1987):

$$IU = \frac{\mu\text{M glukosa}}{\text{mL.waktu}} \quad (1)$$

Metode penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain : Autoclaff, erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur, inkubator, hot plate stirer, labu ukur, laminar flow, spektrofotometer, sentrifuge, vakum, pipet ukur, vacum. Bahan utama dalam penelitian ini antara lain biakan fungi *Aspergillus niger* tipe L51 yang didapatkan dari Institut Pertanian Bogor, dan kertas HVS. Media penanaman yaitu PDA (Potato Dextro Agar) dan nutrisi yaitu, pepton, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , CaCl_2 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Urea FeSO_4 , $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, dan beberapa bahan penunjang Aquades, Tween 80, DNS reagent.

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboraturium Teknik Kimia Universitas Muhammadiyah Surakarta. Penlaksanaan penelitian dimulai dari bulan September 2014 sampai dengan Juni 2015.

Tahapan dan rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang terdiri dari 4 tahap. Tahap pertama yaitu mengembangbiakkan jamur *Aspergillus Niger* L.51 di dalam media tanam PDA (Potato Dextro Agar), tahap kedua yaitu inokulasi jamur *Aspergillus Niger* L.51 dengan menggunakan kertas dan di inkubasi di dalam inkubator dengan waktu sesuai dengan variabel yang digunakan. Pada inokulasi padat di tambah nutrisi untuk memacu

pertumbuhan jamur dan produktivitas enzim, terdapat 2 macam nutrisi yaitu nutrisi mikro dan nutrisi makro. Tahap ketiga yaitu ekstraksi hasil inokulasi untuk memisahkan ekstrak enzim dan kertas dengan menggunakan larutan *tween 80*. Tahap keempat adalah pengujian aktivitas enzim selulase yang dihasilkan dengan menggunakan metode michael mandel's, dengan bantuan DNS reagent. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial 2 Faktor.

Pengembangbiakan mikroba

Menyiapkan 3 buah tabung reaksi untuk 1 tabung indukan *Aspergillus Niger L 51*. Setelah itu, sterilisasi tabung yang akan digunakan untuk media penanaman di dalam autoclaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Setelah di sterilisasi tabung reaksi kemudian di didiamkan dalam laminer flow agar tabung tidak terlalu panas. Kemudian siapkan PDA sebanyak 3,9 gram dan aquadest sebanyak 100 mL, panaskan aquadest hingga mendidih dan masukkan PDA sedikit demi sedikit sembari di aduk. Setelah larutan PDA telah siap, masuk larutan PDA sebanyak 2,5 mL ke dalam tabung reaksi yang akan dijadikan media tanam jamur *Aspergillus Niger L 51*. Diamkan selama beberapa menit sehingga PDA mulai memadat. Setelah PDA memadat, proses penanaman dilakukan dengan cara memindahkan spora jamur indukan sedikit demi sedikit ke dalam media tanam menggunakan kawat Oose. Kemudian di inkubasi selama 7 Hari di dalam inkubator.

Penyiapan nutrisi

Larutan nutrisi merupakan larutan yang berfungsi untuk menyediakan unsur – unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba. Larutan nutrisi mikro dan makro dibuat dengan mencampurkan FeSO4 (2,5 gram), MnSO4.H2O (0,98 gram), ZnSO4.H2O (1,76 gram), CoCl2.6H2O (1,83 gram), dilarutkan dalam aquadenim (495 mL), dan ditambahkan HCl (mL) dan Pepton (1 gram), (NH4)2SO4 (1,4 g/L), KH2PO4 (1,4 gram), CaCl2 (0,3 gram), MgSO4.7H2O (0,3 g/L), urea (0,3 g/L) dilarutkan dalam 1 liter aquadenim. Kemudian kedua larutan dicampurkan dalam kertas yang telah ditreatmen dengan cara diblender dan dikeringkan, dengan perbandingan 1 mL nutrisi mikro, dan 5 mL nutrisi makro (Mandels M, 1975).

Produksi enzim selulase

Produksi enzim selulase dimulai dengan mencampurkan 5 gram kertas kering dan 1 mL nutrisi mikro dan 5 mL nutrisi makro, serta penambahan glukosa sesuai dengan perlakuan yang diinginkan yaitu 0, 3, 5, 7, 9, 15, 20 mL, dalam erlenmeyer 250 mL. Kemudian ditutup dengan kapas steril dan aluminium foil serta diikat dengan karet. Campuran substrat dan media kemudian disterilkan menggunakan autoclaff pada temperatur 121oC selama 15 menit. Media kemudian didinginkan hingga suhu ruangan dalam laminer flow sebelum proses inokulasi mikroba secara aseptik dilakukan. Spora yang tumbuh di dalam satu tabung reaksi kemudian ditebarkan dalam larutan media dengan bantuan kawat Oose. Hasil dari proses tersebut kemudian diinkubasi selama 2, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 14, 16, 18, 20 hari pada suhu 35oC di dalam inkubator.

Hasil dan Pembahasan

Hasil percobaan

1. Analisis Penentuan Kurva Standar

Tabel 1. Data Analisis Penentuan Kurva Standar

Glukosa	Absorbansi			Rata - rata
	1	2	3	
1 ; 1	0,225	0,228	0,225	0,2260000
1 ; 1,5	0,172	0,18	0,176	0,1760000
1 ; 2	0,122	0,13	0,123	0,1250000
1 ; 3	0,055	0,06	0,057	0,0573333
1 ; 4	0,017	0,015	0,017	0,0163333

2. Analisis Perbandingan Nutrisi dan Kadar Glukosa Optimum

Tabel 2. Data analisis perbandingan nutrisi dan kadar glukosa optimum

Enzim sampel	Absorbansi	Adsorbansi	selisish	kadar gula	kadar gula	selisih	aktivitas enzim
	FP	Blanko	absorbansi	FP	blanko	kadar gula	(unit/ml)
1:5 ; 0	0,085	0,0035	0,0815	0,3559	0,2314	0,3505	0,0649
1:5 ; 5	0,1817	0,0477	0,1340	0,5035	0,2989	0,4307	0,0797
1:5 ; 15	0,1043	0,0483	0,0560	0,3854	0,2999	0,3116	0,0576
1:5 ; 20	0,0657	0,0533	0,0123	0,3264	0,3075	0,2449	0,0453
2: 10 ; 0	0,1193	0,0363	0,0830	0,4083	0,2816	0,3528	0,0653
2: 10 ; 5	0,0967	0,0033	0,0933	0,3737	0,2311	0,3686	0,0682
2:10 ; 15	0,0647	0,0033	0,0613	0,3248	0,2311	0,3197	0,0592
2:10 ; 20	0,1120	0,0550	0,0570	0,3971	0,3101	0,3131	0,0579

3. Analisis Kadar Glukosa Optimum

Tabel 3. Data Analisis Kadar Glukosa Optimum

Enzim sampel	Absorbansi	adsorbansi	selisish	kadar gula	kadar gula	selisih	aktivitas enzim
	FB	Blanko	absorbansi	FP	blanko	kadar gula	(unit/ml)
1:5 ; 0	0,08500	0,00350	0,08150	0,35589	0,23140	0,35054	0,06485
1:5 ; 3	0,16100	0,04532	0,11568	0,47197	0,29529	0,40274	0,07451
1:5 ; 5	0,18167	0,04767	0,13400	0,50354	0,29886	0,43073	0,07969
1:5 ; 7	0,16560	0,04775	0,11785	0,47900	0,29899	0,40606	0,07512
1:5 ; 9	0,10997	0,04812	0,06185	0,39402	0,29956	0,32052	0,05930
1:5 ; 15	0,10433	0,04833	0,05600	0,38542	0,29988	0,31159	0,05764
1:5 ; 20	0,06567	0,05333	0,01233	0,32636	0,30752	0,24490	0,04531

4. Analisis Waktu Optimum

Tabel 4. Data Analisis Waktu Optimum

Enzim sampel (Hari)	Absorbansi	adsorbansi	selisish	kadar gula	kadar gula	Selisih	aktivitas enzim
	FP	blanko	absorbansi	FP	Blanko	kadar gula	(unit/ml)
2	0,0683	0,0183	0,0500	0,3304	0,3008	0,3024	0,0559
4	0,0787	0,0213	0,0573	0,3462	0,3062	0,3136	0,0580
5	0,0933	0,0293	0,0640	0,3686	0,3207	0,3238	0,0599
6	0,0867	0,0187	0,0680	0,3584	0,3014	0,3299	0,0610
7	0,0943	0,0137	0,0807	0,3701	0,2923	0,3493	0,0646
8	0,1067	0,0160	0,0907	0,3890	0,2966	0,3645	0,0674
11	0,2087	0,0857	0,1230	0,5448	0,4225	0,4139	0,0766
14	0,1817	0,0477	0,1340	0,5036	0,3538	0,4308	0,0797
16	0,1835	0,04781	0,1357	0,5063	0,3541	0,4333	0,0802
18	0,1884	0,05345	0,1350	0,5138	0,3643	0,4322	0,0800
20	0,1902	0,0566	0,1336	0,5166	0,3700	0,4301	0,0796

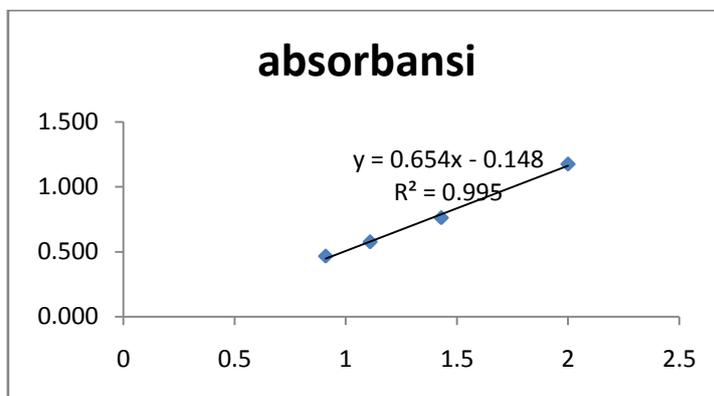
Pembahasan

Pengujian aktivitas enzim

Sampel dapat di ambil dengan cara mengekstraksi larutan hasil inokulasi, dengan menambahkan larutan tween 80 sebanyak 100 mL, kemudian diaduk selama 2 jam, dan pengambilan ekstrak dengan menggunakan vakum,

sampel yang di hasilkan berupa cairan yang keruh, dan dilanjutkan dengan sentrifuge untuk menghilangkan endapan dalam cairan. Setelah itu ambil sampel sebanyak 0,25 mL untuk setiap variabel, dan tambahkan 0,5 mL buffer dan 1,5 DNS reagent. Kemudian larutan tersebut di rebus selama 5 menit dalam air mendidih. Ambil kembali sampel sebanyak 0,25 mL, dan 0,5 larutan buffer, masukan ke dalam tabung reaksi yang telah di beri kertas wathman, dan rebus dalam air dengan suhu 50°C selama 60 menit. Setelah itu tambahkan 1,5 mL DNS reagent dan rebus dengan air mendidih selama 5 menit. Semua sampel kemudian di uji dalam spektrometer untuk mengetahui nilai absorbansinya.

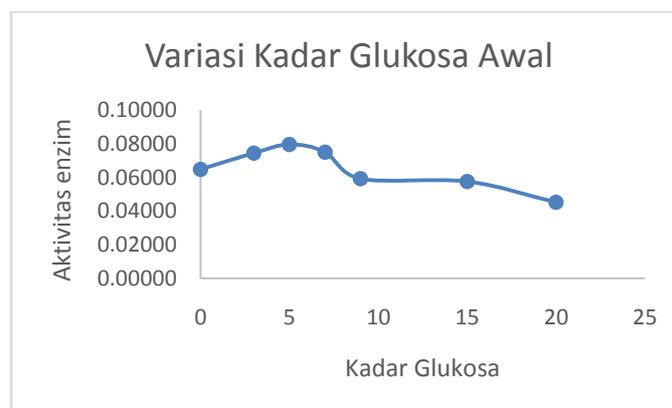
1. Kurva Standar



Gambar 1. Kurva standar glukosa

Grafik kurva standar digunakan untuk menghitung nilai aktivitas enzim yang terdapat dalam sampel. Pada grafik di atas di dapatkan persamaan $y = 0,6547x - 0,148$.

2. Kadar Glukosa Optimum

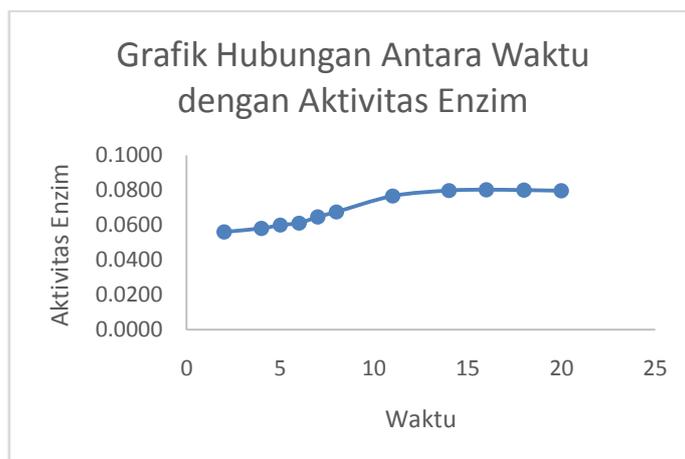


Gambar 2. Hubungan antara kadar glukosa starter dengan nilai aktivitas enzim

Pada grafik di atas dapat di lihat bahwa penambahan glukosa starter berpengaruh terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan. Di dapatkan hasil optimum yaitu pada penambahan glukosa starter sebanyak 5 mL dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0,07969 U/mL. Dengan penambahan glukosa starter akan memicu pertumbuhan jamur dalam proses inokulasi padat, hal ini dibuktikan dengan nilai aktivitas enzim yang dihasilkan pada penambahan glukosa 0 mL dan 3 mL lebih rendah daripada penambahan 5 mL yaitu sebesar 0,06485 U/mL dan 0,07451 U/mL. Namun dengan penambahan glukosa starter yang berlebihan akan menurunkan aktivitas enzim yang dihasilkan dapat dilihat pada penambahan glukosa sebanyak 7 mL mulai mengalami penurunan dengan aktivitas enzim sebesar 0,07512 U/mL dan semakin menurun pada penambahan 20 mL dengan aktivitas enzim sebesar 0,04531 U/mL. Hal ini disebabkan karena jamur *Aspergillus Niger L 51* akan mengurangi produksi enzim selulase apabila ketersediaan glukosa terlalu banyak. *Aspergillus Niger L 51* merupakan jamur yang dapat memproduksi enzim selulase untuk menghidrolisis selulase menjadi glukosa, untuk proses metabolismenya.

Selain kadar glukosa yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim yang di hasilkan. Kadar air atau moisture konten dalam inokulasi padat juga mempengaruhi hasil dari aktivitas enzim. Semakin besar kadar air dalam inokulasi padat akan memngganggu pertumbuhan dari jamur *Aspergillus niger* itu sendiri.

3. Waktu Optimum



Gambar 3. Hubungan antara waktu inokulasi dengan aktivitas enzim

Pada proses inokulasi padat jamur *Aspergillus Niger* dan substrat kertas di inkubasi dalam inkubator. Pada proses inkubasi jamur *Aspergillus Niger* akan menghidrolisis selulosa dalam kertas dengan menghasilkan enzim selulase untuk merubahnya menjadi glukosa. Pada grafik di atas dapat dilihat bahwa waktu optimum untuk inokulasi adalah 14 hari dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0,797 U/mL. Pada inokulasi hari 2 dan 4 aktivitas enzim yang dihasilkan kecil yaitu sebesar 0,0559 U/mL dan 0,0580 U/mL, hal ini disebabkan karena selulosa yang di hidrolisis menjadi glukosa juga kecil. Aktivitas enzim yang di hasilkan mulai tidak menunjukkan kenaikan yang fluktuatif pada hari ke 16, 18, 20 yaitu sebesar 0,0802 U/mL, 0,0800 U/mL, dan 0,0796 U/mL. Hal ini di sebabkan karena semakin banyaknya selulosa yang dihidrolisis menjadi glukosa sehingga jamur *Aspergillus Niger* akan mengurangi produksi enzim selulase.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pembahasan dapat disimpulkan bahwa :

1. Pembuatan enzim selulase dari jamur *Aspergillus Niger* dan substrat kertas dapat dilakukan dengan cara inokulasi padat.
2. Penambahan glukosa dalam proses inokulasi padat dapat mempengaruhi nilai aktivitas enzim selulase.
3. Waktu optimum pada inokulasi padat adalah 14 hari.

Saran

Untuk melengkapi dan menyempurnakan penelitian ini, disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan enzim yang lebih baik sehingga dapat menghasilkan enzim yang berkualitas :

1. Perlu adanya penelitian lanjutan untuk memperdalam masing – masing variabel dengan tingkat factor yang lebih besar.
2. Perlu adanya penelitian lanjutan mengenai strain jamur yang dapat memproduksi enzim selulase yang lebih baik.

Daftar Pustaka

- Arnata, I W., (2009), “Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol dari Ubi Kayu Menggunakan *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, dan *Saccharomyces cerevisiae*” Thesis Master, IPB, Bogor.
- Apriyanto, A., Dedi F., Ni Luh P, Sedarnawati, Slamet Budiyo., (1989). “*Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan*”, Institut Pertanian Bogor : Bogor
- Anindyawati, T., (2009), “*Prospek Enzim Dan Limbah Lignoselulosa Untuk Produksi Bioetanol*”, Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI.
- Belitz H. D., Grosch, W., dan Schieberle, P., (2008), “*Food Chemistry*”, 4th ed. Berlin: Springer-Verlag, pp. 327-337
- Danielson RM, Davey CB., (2002), “*Non nutritional factors affecting the growth of Trichoderma in culture*” Soil Biol Chem Vol. 5, pp. 495-504.

- Graf, A. & Koehler, T., (2000), "*Oregon Cellulose-Ethanol study. An Evaluation of the potential for ethanol production in Oregon using cellulose-based feedstock*", Oregon Office of Energy. Oregon.
- Ghori M. I., (2001), "*Production and Kinetic Study of Cellulases From Agricultural Wastes*". Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in Chemistry: Bahauddin Zakryia University, Pakistan.
- Ghose, T.K., (1987), "*Measurement of Cellulase Activities. Biochemical Engineering Research Center*" New Delhi – India
- Heba I., Abo-Elmagd., dan Manal M Housseiny., (2012), "*Purification and Characterization of CMC-ase and Protease by Ulocladium botrytis Preuss ATCC 18042 using Water Hyacinth as a Substrate Under Solid State Fermentation*". Ann Microbiol, Vol. 62, pp. 1547-1556.
- Harfinda, E.M., (2011), "*Pengaruh Kadar Air, pH, dan Waktu Fermentasi Terhadap Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus niger Pada Ampas Sagu*". Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Madigan MT, Martinko JM., (2006), "*Brock Biology of Microorganisms 11th ed. New Jersey*" Pearson Education., pp. 178-185.
- Mandels M., (1975), "*Microbial Source of Cellulase*". Biotechnol. Bioeng, Vol. 5, pp. 81-105.
- Miettinen A., (2004). "*Trichoderma reesei Strains for Production of Cellulases for the Textile Industry*". Helsinki: VTT Biotechnology.
- Miller, G L., (1959), "*Use Of Dinitrosalicylic Acid Reagent For Determination Of Reducing Sugar*", Anal Chem, Vol. 31, pp. 426-428.
- Ryu D. D. Y dan Mandels M., (1980), "*Cellulases: Biosynthesis and Applications*". Journal of Enzyme Microb. Technol, Vol 2, pp. 91-102.
- Sari L, Purwadaria T., (2004), "*Pengkajian nilai gizi hasil fermentasi mutan Aspergillus niger pada substrat bungkil kelapa dan bungkil inti sawit*". Biodiversitas, Vol. 5 (2), pp. 48-51.
- Sukardati, S., Kholisoh, D.S., Prasetyo, H., Santoso P.W., dan Mursini.T., (2010), "*Produksi Gula Reduksi dari Sabut Kelapa Menggunakan Jamur Trichoderma reesei*", Teknik Kimia, UPN Yogyakarta, (Tesis).
- Sukumaran, R. K., Sighania, R. R and Pandey, A., (2005), "*Microbial Cellulases : Production, Applications and Challenges*", J. Scientific & Industrial Res. Vol 64, pp. 832-844.
- Taruna, H., Rita A., Tania S., Sri A., (2010), "*Studi Awal Pemanfaatan Limbah Kertas HVS sebagai Bahan Baku Dalam Proses Pembuatan Etanol*". Universitas Indonesia.
- White, J.G., (2000), "*Oregon perspective on cellulose-to-ethanol*". Oregon Office of Energy. Oregon