



Produksi *Crude* Selulase dari Limbah Kayu Mahoni Menggunakan *Phanerochaete chrysosporium*

Sri Rulianah*, Christyfani Sindhuwati, Prayitno Prayitno

Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang, Jl. Soekarno Hatta No. 9, Malang 65141, Indonesia

*E-mail: rulianahpolinema@yahoo.com

ABSTRAK

Limbah kayu mahoni dapat dikategorikan sebagai limbah lignoselulosa yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan *biofuel*, seperti bioetanol. Selulosa pada limbah kayu mahoni dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku produksi *crude* selulase dengan bantuan kapang *Phanerochaete chrysosporium*. *Crude* selulase yang dihasilkan memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi dan penambahan konsentrasi serbuk kayu mahoni terhadap aktivitas *crude* selulase, dan untuk mengetahui kondisi operasi terbaik sehingga diperoleh *crude* selulase dengan aktivitas yang tertinggi. Produksi *crude* selulase dari limbah kayu mahoni melalui beberapa tahapan yaitu, *size reduction*, peremajaan dan pembuatan inokulum kapang *Phanerochaete chrysosporium*, produksi *crude* selulase dan uji aktivitas selulase dengan metode DNS. Variabel berubah pada penelitian ini adalah % penambahan serbuk kayu mahoni pada media pembuatan *crude* selulase yaitu 5%, 6% dan 7%, dan waktu inkubasi pembuatan *crude* selulase yaitu 9, 11, 13, 15 dan 17 hari. Hasil penelitian menunjukkan, semakin lama waktu fermentasi, dan semakin tinggi jumlah penambahan serbuk kayu mahoni, maka aktivitas selulase yang dihasilkan semakin tinggi. Kondisi operasi terbaik diperoleh pada waktu inkubasi selama 17 hari, dan jumlah penambahan serbuk kayu mahoni 7% , diperoleh aktivitas *crude* selulase sebesar 39,034 U/ml.

Kata kunci: *crude* selulase, kayu mahoni, lignoselulosa, *Phanerochaete chrysosporium*, selulosa

ABSTRACT

Mahogany waste can be categorized as lignocelluloses waste which can be used as raw material of *biofuel* such as bioethanol. Cellulose in mahogany can also be utilized as *crude* cellulose raw material with the help of *Phanerochaete chrysosporium*. *Crude* selulase produced has high economic value and can be utilized in many sectors. This research is aim to determine the effect of fermentation time and the addition of mahogany concentration on *crude* cellulase activity, and to determine the best operating conditions. *Crude* cellulase production from waste of mahogany through several steps, those are *size reduction*, rejuvenation and inoculum production of *Phanerochaete chrysosporium*, *crude* cellulase production and activity test with DNS method. The variable in this experiment was the percentage of mahogany powder added on *crude* cellulase production media which was 5%, 6% and 7%, and incubation time of *crude* cellulase production which were 9, 11, 13, 15 and 17 days. The experiment shows that the highest cellulase activity was at concentration of mahogany powder of 7% with incubation time of 17days as 39,034 U/ml.

Keywords: cellulose, *crude* cellulase, lignocellulose waste, mahogany, *Phanerochaete chrysosporium*

1. PENDAHULUAN

Enzim selulase adalah suatu enzim yang bisa memecah selulosa (menghidrolisis) ikatan $\beta(1-4)$ pada selulosa [1]. Selulase merupakan enzim extra seluler yang terdiri atas complex endo β -1,4-glukonase, ekso β -1,4-glukonase, dan β -1,4-glukosidase [2,3]. Enzim ini digunakan secara luas dalam industri tekstil, deterjen, pulp dan kertas, pakan ternak, pengolahan kopi dan kadang-kadang digunakan dalam industri farmasi sebagai zat untuk membantu sistem pencernaan. Saat ini, enzim selulase juga digunakan sebagai pengganti bahan kimia pada proses pembuatan alkohol dari bahan yang mengandung selulosa [4].

Enzim mempunyai dua fungsi pokok yaitu mempercepat atau memperlambat reaksi kimia dan mengatur sejumlah reaksi yang berbeda-beda dalam waktu yang sama. Enzim dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia berkali-kali lipat. Studi telah menemukan bahwa enzim dapat mempercepat reaksi kimia sampai 10 milyar kali lebih cepat. Zat kimia yang hadir pada awal proses biokimia disebut sebagai substrat, yang mengalami perubahan kimia membentuk produk akhir [5,6].

Crude selulase dapat dihasilkan dari substrat yang memiliki kandungan selulosa. Kandungan selulosa bisa ditemukan pada biomass atau bahan lignoselulosa. Lignoselulosa adalah komponen organik di alam yang berlimpah dan terdiri dari tiga tipe polimer, yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Lignoselulosa bisa diperoleh dari bahan kayu, jerami, rumput-rumputan, limbah pertanian/hutan, limbah industri (kayu, kertas) dan bahan berserat lainnya. Kandungan dari ketiga komponen lignoselulosa bervariasi tergantung dari jenis bahannya [7]. Selulosa dan hemiselulosa membentuk hampir 70% dari keseluruhan biomassa dan terikat

kuat dengan komponen lignin melalui ikatan kovalen dan hydrogen yang menyebabkan strukturnya sulit dipecah dan tahan terhadap berbagai macam perlakuan.

Tabel 1. Karakteristik lignoselulosa dari berbagai sumber bahan [8]

Bahan	1 (%)	2 (%)	3 (%)
Limbah perkebunan	25-50	37-50	5-15
Kayu keras	25-40	46-47	20-25
Kayu lunak	25-29	40-45	30-60
Bagas	20	52,7	24,2
Jerami	24	32	13
Rerumputan	35-50	25-40	11-30
Kertas koran	25-40	40-55	18-30

Keterangan: 1= Hemiselulosa, 2 = Selulosa, 3 = Lignin

Kayu mahoni termasuk dalam golongan kayu keras dengan kandungan selulosa 40 – 54%, kandungan lignin 18 -33%, dan kadar air 13% [9]. Menurut referensi [10], kayu mahoni mengandung 42,86% selulosa, 23,75% lignin, dengan kadar air 10,36%. Melihat dari kandungan selulosa yang cukup tinggi tersebut maka serbuk kayu mahoni mempunyai potensi yang cukup bagus untuk bahan baku produksi *crude* selulase yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. Rulianah pada tahun 2014 menggunakan bagas sebagai media untuk pembuatan *crude* selulase dengan rentang waktu 5,7,9 hari, dan jumlah media yang ditambahkan 1-5 %, maka diperoleh hasil yang terbaik pada waktu fermentasi 9 hari dan % penambahan media 5 % diperoleh *crude* selulase yang aktivitasnya tertinggi [11]. Rulianah (2017) melanjutkan penelitian dengan menggunakan variabel waktu (9, 11, 13, 15, dan 17 hari), dan penambahan bagas (5, 6, dan 7 %) diperoleh kondisi terbaik

pada waktu fermentasi 17 hari dan penambahan bagas 7% dengan aktivitas enzim sebesar 91,304 U/mL [12].

Rulianah (2014) sudah melakukan penelitian pembuatan *crude* selulase dari serbuk kayu mahoni menggunakan kapang *Aspergillus niger* dengan delignifikasi menggunakan NaOH 8%, dengan variabel suhu delignifikasi 100°C, dan 120°C selama 150 menit, dan konsentrasi penambahan media bagas (2, 3, 4, 5, dan 6%), diperoleh hasil terbaik pada suhu delignifikasi 120°C, dan konsentrasi penambahan substrat kayu mahoni sebesar 5 %, diperoleh aktivitas *crude* selulase sebesar 117,013 units/mL [13].

Pada kesempatan ini akan dilakukan pembuatan *crude* selulase dari serbuk kayu mahoni dengan menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* sehingga tidak diperlukan proses delignifikasi karena kapang ini mampu mendegradasi lignin, sehingga diharapkan prosesnya lebih sederhana. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi media terhadap aktivitas *crude* selulase yang dihasilkan. Pada penelitian ini akan dilakukan perubahan variabel penelitian waktu fermentasi dengan rentang waktu 9, 11, 13, 15, dan 17 hari, dan penambahan media 5%, 6% dan 7 %.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioproses dan Laboratorium Analisa Instrumental Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang. Media pembuatan *crude* selulase dihasilkan dari limbah serbuk kayu mahoni. Kapang yang digunakan adalah *Phanerochaete chrysosporium*. *Phanerochaete chrysosporium* diregenerasi dengan bantuan PDA (*Potato Dextrosa Agar*) dan dibuatkan inokulumnya dengan

menggunakan media NLM (*Nitrogen Limited Media*). Larutan *Neutral Detergent Fiber* (NDF) dan *Acid Detergent Fiber* (ADF) digunakan sebagai bahan pelengkap dalam tahapan karakterisasi bahan baku. *Buffer* yang digunakan adalah *buffer* Asetat pH 5. *Crude* selulase yang dihasilkan akan dianalisa dengan spektrofotometer menggunakan CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) dan larutan DNS (*3,5-dinitrosalicylic acid*). CMC digunakan sebagai substrat pada analisa aktivitas *crude* selulase [2].

Penelitian diawali dengan *pretreatment* bahan (limbah serbuk kayu mahoni) yaitu dengan mengeringkan serbuk kayu mahoni dan mengecilkan ukuran partikel sampai 42 *mesh*, serta analisa awal bahan baku yaitu kadar air, kadar lignin dan kadar selulosa dengan metode Van Soest. Tahap berikutnya meremajakan *starter* dengan cara mengembangkan bibit dalam media cair dengan menggunakan media NLM yang sudah diadaptasikan dengan serbuk kayu mahoni. Tahap selanjutnya membuat kurva pertumbuhan. Pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan cara, membuat suspensi spora *Phanerochaete chrysosporium*, kemudian suspensi spora tersebut diinokulasikan ke dalam masing-masing erlemeyer yang sudah diisi dengan media NLM. Jumlah erlemeyer yang digunakan sebanyak 20 erlemeyer. Suspensi yang ditambahkan jumlahnya 10 % dari media. Setelah diinokulasi, semua erlemeyer diinkubasi sesuai dengan waktunya mulai dari 1 hari sampai 20 hari. Kemudian dianalisa massa sel kering kapang tiap-tiap erlemeyer, yang kemudian datanya untuk membuat kurva pertumbuhan.

Langkah selanjutnya adalah pembuatan *crude* selulase: serbuk kayu mahoni yang sudah dikeringkan dan dihaluskan dimasukkan ke dalam media NLM sesuai dengan variasi konsentrasi, yaitu 5, 6, dan

7 % b/v dari volume media, kemudian disterilisasi dengan menggunakan *autoclave*, setelah dingin, diinokulasi dengan starter *Phanerochaete chrysosporium*. Media yang sudah diinokulasi kemudian diinkubasi dengan lama waktu sesuai dengan variabel penelitian (9, 11, 13, 15, dan 17 hari). Hasil fermentasi dihomogenkan kemudian disaring menggunakan pompa vakum, filtratnya merupakan ekstrak kasar enzim selulase yang kemudian dianalisa aktivitas selulasenya menggunakan metode DNS untuk tiap variabel[14].

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan pemanfaatan bahan berlignoselulosa yaitu serbuk kayu mahoni sebagai bahan baku pembuatan *crude* selulase. Mikroorganisme yang digunakan adalah kapang *Phanerochaete chrysosporium*. Penggunaan kapang *Phanerochaete chrysosporium* bertujuan untuk memecah ikatan lignin dan selulosa yang terdapat di dalam bahan atau substrat. Karakterisasi bahan baku (serbuk kayu mahoni) dapat dilihat pada tabel 2.

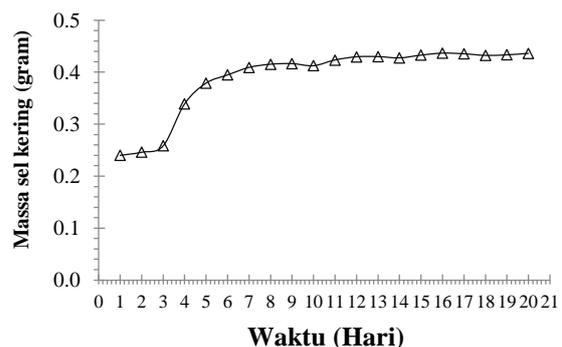
Tabel 2. Karakterisasi serbuk kayu mahoni

Kandungan	%
NDF	88,0877
ADF	66,0363
Lignin	42,7218
Selulosa	42,6057
Hemiselulosa	22,0514
Air	13,6524

Tabel 2, menunjukkan bahwa limbah serbuk kayu mahoni mengandung selulosa yang cukup tinggi yaitu sebesar 42,6%. Selulosa yang terkandung dalam serbuk kayu mahoni tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan *crude* selulase. Kandungan lignin yang cukup besar pada serbuk kayu mahoni yaitu

sebesar 42,7% dapat mengganggu proses produksi *crude* selulase. Lignin pada biomassa berfungsi sebagai pertahanan awal dari masuknya air dan bahan-bahan lain dari luar. Lignin memiliki struktur amorf, membungkus hemiselulosa dan selulosa, sehingga supaya selulosa dapat dimanfaatkan dengan baik, maka lignin serbuk kayu mahoni harus dihilangkan.

Upaya pengurangan kadar lignin biomassa dikenal dengan sebutan *pretreatment*. *Pretreatment* dapat dilakukan dengan berbagai macam cara, yaitu secara fisik, kimia dan biologi. Kelebihan dari kapang *Phanerochaete chrysosporium*, selain mampu memutus ikatan selulosa, juga mampu mendegradasi lignin, sehingga penggunaan serbuk kayu mahoni dalam pembuatan *crude* selulase tidak memerlukan *pretreatment* lanjutan cukup dengan *size reduction* untuk mendapatkan ukuran media yang seragam mengingat kelebihan yang dimiliki oleh kapang *Phanerochaete chrysosporium* dalam mendegradasi lignin [13,14]. Karakterisasi bahan baku menggunakan metode Van Soest [17].



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *Phanerochaete chrysosporium* pada media kayu mahoni

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan kurva pertumbuhan *Phanerochaete chrysosporium* menggunakan media serbuk kayu mahoni dengan kurun waktu

dari 1 sampai 20 hari, dan hasilnya disajikan pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan bahwa fase lag (terjadi mulai hari ke 1 sampai hari ke 3, fase log dimulai dari hari ke 3 sampai hari ke 5 dan fase stasioner dimulai dari hari ke 6 sampai hari ke 20 fase stasioner masih tetap berlangsung. Kapang *Phanerochaete chrysosporium* menghasilkan enzim-enzim yang bisa mendegradasi lignin dan selulosa pada metabolit sekundernya seperti enzim selulase, lignin peroksidase, dan mangan peroksidase. Gambar 1 menunjukkan mulai hari ke 6 kapang tersebut sudah selesai fase lognya dan memulai fase stasioner, ini menunjukkan bahwa mulai hari ke 6 kapang tersebut sudah memulai untuk memproduksi enzim-enzim yang bisa mendegradasi lignin, selulosa dan hemiselulosa. Proses produksi metabolit sekunder dimulai dari hari ke 6 sampai hari ke 20. Pada hari ke 20 belum menunjukkan tanda-tanda adanya fase kematian, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui sampai berapa lama fase stasioner berlangsung. Pada penelitian yang dilakukan oleh Mahyeti (2013) degradasi lignin oleh *Phanerochaete chrysosporium* bisa mencapai 95 % pada waktu inkubasi 30 hari. Hal ini menunjukkan bahwa sampai hari ke 30 kapang ini masih mampu bertahan hidup untuk mempertahankan fase stasionernya.

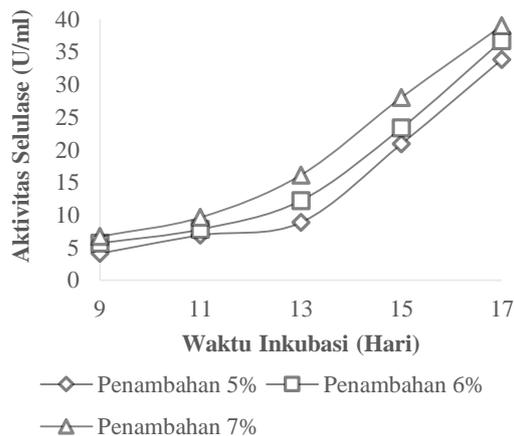
Keberhasilan suatu fermentasi sangat dipengaruhi oleh dosis inokulum dan lama fermentasi yang diberikan. Abu Hassan (2007), menyatakan bahwa kandungan lignin kayu tanpa perlakuan adalah 50,9% dengan lama waktu fermentasi 20 hari mampu memberikan hasil yang baik dalam menurunkan kandungan lignin dengan kapang *Phanerochaete chrysosporium* [18].

Phanerochaete chrysosporium merupakan salah satu kapang yang dapat

mendegradasi lignin secara lebih cepat dan ekstensif dibanding mikroorganisme lain. Kandungan substrat yang diperlukan bagi pertumbuhan mikroorganisme ini adalah selulosa dan hemiselulosa. Degradasi lignin terjadi pada akhir pertumbuhan primer melalui metabolisme sekunder dalam kondisi defisiensi nutrisi seperti nitrogen, karbon atau sulfur [19]. Selain itu *Phanerochaete chrysosporium* mampu menghasilkan senyawa pengoksidasi yang digunakan untuk membelah ikatan lignin [20].

Menurut Kodri (2013), pada dasarnya mekanisme pemotongan rantai ikatan oleh enzim selulase sangat kompleks karena melibatkan sinergitas kerja 3 komponen besar yaitu endo-1,4- β -D-glukanase yang berfungsi memutuskan ikatan selulosa secara random dengan memulai serangan acak pada sisi internal daerah amorf dari serat selulosa sehingga sisi yang terbuka dapat diserang oleh *cellobiohydrolase*. Ekso- β -1,4-glukanase akan memotong ujung-ujung rantai individu selulosa dan ekso- β -1,4-glukanase atau *cellobiohydrolase* menyerang bagian luar dari selulosa sehingga dihasilkan selobiosa sebagai struktur utamanya. Setelah itu β -glukosidase berfungsi memotong selobiosa menjadi molekul-molekul glukosa [21].

Glukosa dan selobiosa adalah inhibitor enzim dalam menghidrolisis selulosa. Selobiosa menghambat enzim sellobiohidrolase pada kompleks enzim selulase dan glukosa menghambat enzim penghidrolisis selobiosa. Selobiosa mempunyai potensi menjadi inhibitor yang lebih kuat dibandingkan dengan glukosa pada mekanisme hidrolisis selulosa [22]. Pengaruh konsentrasi media serbuk kayu mahoni terhadap aktivitas *crude* selulase dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi penambahan kayu mahoni, terhadap aktivitas crude selulase yang dihasilkan.

Pada Gambar 2 terlihat bahwa penambahan konsentrasi kayu mahoni berpengaruh terhadap aktivitas crude selulase. Aktivitas selulase tertinggi didapatkan pada konsentrasi media 7% sebesar 39,034 U/mL. Konsentrasi penambahan kayu mahoni dalam media sangat berpengaruh terhadap aktifitas enzim yang dihasilkan. Semakin besar konsentrasi penambahan, maka semakin besar pula aktifitas enzim yang dihasilkan. Hal ini dapat dijelaskan dengan hipotesis kompleks enzim substrat oleh Michaelis-Menten [23]. Kompleks enzim substrat mengalami kesesuaian bila sisi afinitas enzim sesuai dengan jumlah molekul substrat pada bagian aktifnya. Jika konsentrasi substrat terus diperbesar maka akan terjadi penambahan aktivitas. Ketika penambahan substrat melebihi titik optimal maka terjadi kompetisi antara bagian aktif substrat dalam memperebutkan sisi afinitas enzim, dan akibatnya terjadi penghambatan pada proses penggabungan enzim-substrat. Gambar 2 juga menunjukkan bahwa semakin lama waktu inkubasi maka semakin besar aktivitas selulase yang didapatkan.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diperoleh hasil: Semakin lama waktu fermentasi, dan semakin tinggi jumlah penambahan serbuk kayu mahoni, maka semakin tinggi aktivitas selulase yang dihasilkan. Kondisi operasi terbaik diperoleh pada waktu fermentasi 17 hari, dan konsentrasi penambahan serbuk kayu mahoni 7 %, diperoleh crude selulase dengan aktivitas sebesar 39,034 U/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Disampaikan ucapan terima kasih pada Politeknik Negeri Malang yang telah memberikan dana untuk pelaksanaan penelitian ini melalui anggaran DIPA 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] I. Ul-Haq, M. M. Javed, T. S. Khan, Z. Siddiq, Cotton Saccharifying Activity of Cellulases Produced by Co-culture of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*, *J. Agric. Biol. Sci.*, vol. 1, no. 3, hal. 241–245, 2005.
- [2] A. Meryandini, W. Widosari, B. Maranatha, T. C. Sunarti, N. Rachmania, and H. Satria, Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya, *Makara Sains*, vol. 13, no. 1, hal. 33–38, 2009.
- [3] A. Trisanti, Potensi Selulase Dalam Mendegradasi Lignoselulosa, *Ber. Selulosa*, vol. 45, no. 2, hal. 70–77, 2010.
- [4] Z. Fan, L. R. Lynd, Conversion of paper sludge to ethanol, II: Process design and economic analysis, *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 30, no. 1, hal. 35–45, 2007.
- [5] T. Noviyanti, P. Ardiningsih, Pengaruh Temperatur Terhadap Aktivitas Enzim Protease Daun

- Sansakgn (Pycnarrhena cauliflora Diels), *J. Kim. Khatulistiwa*, vol. 1, no. 1, hal. 1–6, 2013.
- [6] Nurkhotimah, E. Yulianti, Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri Termofilik Sungai Gendol, vol. 6, no. 8, hal. 465–471, 2017.
- [7] J. Pérez, J. Muñoz-Dorado, T. de la Rubia, J. Martínez, Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview, *Int. Microbiol.*, vol. 5, no. 2, hal. 53–63, Jun. 2002.
- [8] A. Limayem, S. C. Ricke, Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects, *Prog. Energy Combust. Sci.*, vol. 38, no. 4, hal. 449–467, 2012.
- [9] H. Krisnawati, M. Kallio, M. Kannien, *Swietenia Macrophylla King Ecology, Silviculture and Productivity*. 2011.
- [10] G. Pari, Hartoyo, Analisa Kimia 9 Jenis Kayu Indonesia, *For. Prod. Res.*, vol. 7, no. 4, hal. 130–133, 1990.
- [11] S. Rulianah, Hardjono, Pemanfaatan Bagasse Sebagai Crude Selulase Menggunakan Kapang Phanerochaete chrysosporium, *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*, 2014.
- [12] S. Rulianah, Z. Irfin, Mufid, Prayitno, Produksi Crude Selulase dari Bahan Baku Ampas Tebu Menggunakan Kapang Phanerochaete chrysosporium, *J. Tek. Kim. dan Lingkung.*, vol. 1, no. 1, hal. 17–27, 2017.
- [13] S. Rulianah, D. Melany, D. Moentamaria, Pengaruh Suhu Delignifikasi dan Konsentrasi Penambahan Substrat Kayu Mahoni Terhadap Aktivitas Crude Selulase yang Dihasilkan pada Proses Fermentasi dengan Kapang *Aspergillus niger*, in *Prosiding Pro Poltel*, 2014.
- [14] G. L. Miller, *Analytical Chemistry*, 31. 1959.
- [15] Mahyati, A. R. Patong, M. N. Djide, D. P. Taba, Biodegradation Of Lignin From Corn Cob By Using A Mixture Of Phanerochaete Chrysosporium, Lentinus Edodes And Pleurotus Ostreatus, *Int. J. Sci. Technol.*, vol. 2, no. 11, 2013.
- [16] S. Rulianah, H. Profiyanti, Y. Maryanty, B. Irawan, The Effect of Fermentation Time and Addition of CMC to Decrease of Linin Content in Fermentation of Patchouli Leaves Using Phanerochaete chrysosporium, *Adv. Sci. Lett.*, vol. 23, no. 6, 2017.
- [17] V. Soest, J. Robertson, Standardization of Analytical Methodology For Feeds, *System of Analysis for Evaluating Fibrous Feeds*, International Development Research Center, 1980, hal. 49–60.
- [18] M. Wan Zahari, O. Abu Hassan, H. K. Wong, J. B. Liang, Utilization of oil palm frond - Based diets for beef and dairy production in Malaysia, *Asian-Australasian J. Anim. Sci.*, vol. 16, no. 4, hal. 625–634, 2003.
- [19] A. Hatakka, Biodegradation of Lignin, *Biopolymers*, vol. 1, hal. 129–180, 2001.

- [20] Fadilah, S. Distantia, S. R. Dwiningsih, D. S. Ma'rifah, Pengaruh Penambahan Glukosa dan Ekstrak Yeast terhadap Biodelignifikasi Ampas Batang Aren, *Ekuilibrium*, vol. 8 (1), no. 0271, hal. 29–33, 2009.
- [21] Kodri, B. D. Argo, R. Yulianingsih, Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma Reseei* dan *Aspergillus Niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi dengan Pretreatment Microwave, *J. Bioproses Komod. Trop.*, vol. 1, no. 1, hal. 36–43, 2013.
- [22] K. Ambriyanto, Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Pendegradasi Selulosa dari Serasah Daun Rumput Gajah, Institut Teknologi Sepuluh November, 2010.
- [23] M. Dixon and E. C. Webb, *Enzymes*. New York: Academic Press, 1985.