



KINETIKA ENZIMATIK HIDROLISIS SELULOSA MENGGUNAKAN SELULASE DARI CAIRAN RUMEN KAMBING

Enzymatic Kinetics of Cellulose Hydrolysis Using Cellulase From Goat Rumen Fluids

Gunawan Wijonarko^{1*}, Ike Sitoresmi Mulyo Purbowati¹, dan Ali Maksum¹

¹Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman,
Purwokerto Indonesia

*Alamat koresponden: gunawan.wijonarko@unsoed.ac.id

ABSTRAK

Sejalan dengan semakin menipisnya cadangan minyak bumi dari fosil telah memaksa manusia untuk mencari alternatif sumber energi terbarukan. Batang tanaman nipah merupakan bahan organik yang banyak mengandung lignoselulosa. Selulosa pada lignoselulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa untuk menghasilkan bioetanol. Permasalahan muncul karena hidrolisis menggunakan selulase murni membutuhkan biaya relatif tinggi sehingga perlu mencari alternatif sumber selulase yang murah. Salah satu sumber selulase yang murah adalah cairan rumen kambing. Sampai saat ini belum banyak informasi terkait kinetika reaksi dan karakteristik selulase dari cairan rumen kambing. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi ekstrak selulase kasar, menentukan aktivitas spesifik, laju reaksi maksimum (V_{maks}) dan konstanta Michaelis-Menten (K_M), serta menentukan suhu dan pH optimum. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pertanian Unsoed Sampel yang digunakan adalah tujuh cairan rumen. Penelitian diawali dengan isolasi kemudian diikuti dengan studi kinetika enzimatik. Fraksinasi dilakukan dengan penambahan garam amonium sulfat (50, 60, 70, dan 80 %), dan sentrifugasi 7.000 rpm pada suhu 4 °C selama 15 menit. Ekstrak selulase kasar dengan nilai aktivitas enzim tertinggi digunakan untuk studi kinetika reaksi enzimatik dan karakterisasi. Uji daya tahan selulase kasar terhadap suhu dilakukan pada suhu 45, 55 dan 65 °C dan terhadap pH dilakukan pada pH 4, 5, 6, 7 dan 8. Nilai K_M dan V_{maks} ditentukan dengan mengukur aktivitas ekstrak selulase kasar pada berbagai konsentrasi CMC (1, 1,5, 2, 2,5, dan 3 %). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak selulase kasar memiliki rata-rata aktivitas spesifik 1,7356 IU/mg. Aktivitas enzim tertinggi sebesar 0,9854 IU/ml. Ekstrak selulase kasar optimum pada pH 6 dengan aktivitas sebesar 1,1015 IU/ml dan suhu 60 °C dengan aktivitas sebesar 0,7829 IU/ml. Pada konsentrasi CMC 2,5 % ekstrak selulase kasar mempunyai aktivitas sebesar 0,3179 IU/ml dengan nilai V_{maks} 0,0045 IU/ml dan K_M 0,0252 %.

Kata kunci: lignoselulosa, selulase, kinetika enzimatik, K_M dan V_{maks}



ABSTRACT

In line with the depletion of petroleum reserves from fossils, humans have forced people to look for alternative renewable energy sources. Nipah plant stems are organic material that contains a lot of lignocellulose. Cellulose in lignocellulose can be hydrolyzed to glucose to produce bioethanol. Problems arise because hydrolysis using pure cellulase requires relatively high costs, so it is necessary to find an alternative source of cheap cellulase. One of the cheap sources of cellulase is goat rumen fluid. Until now, there is not much information regarding the reaction kinetics and cellulase characteristics of goat rumen fluid. The purpose of this study was to isolate crude cellulase extract, determine the K_M and V_{max} values and determine the optimum temperature and pH. The research was carried out at the Unsoed Agricultural Technology Laboratory. The samples used were seven rumen fluids. The study began with isolation followed by enzymatic kinetics studies. Fractionation was carried out by adding ammonium sulfate salt (50, 60, 70, and 80 %), and centrifugation at 7,000 rpm at 4 °C for 15 minutes. Crude cellulase extract with the highest enzyme activity value was used for the study of enzymatic reaction kinetics and characterization. The crude cellulase resistance test to temperature was carried out at 45, 55 and 65 °C and the pH was carried out at pH 4, 5, 6, 7 and 8. The K_M and V_{max} values were determined by measuring the activity of crude cellulase extract at various concentrations of CMC (1, 1.5, 2, 2.5, and 3 %). The results showed that crude cellulase extract had an average specific activity of 1.7356 IU/mg. The highest enzyme activity was 0.9854 IU/ml. The optimum crude cellulase extract was at pH 6 with an activity of 1.1015 IU/ml and a temperature of 60 °C with an activity of 0.7829 IU/ml. At a CMC concentration of 2.5% crude cellulase extract had an activity of 0.3179 IU/ml with a V_{max} value of 0.0045 IU/ml and a K_M of 0.0252 %.

Keyword: lignocellulose, cellulase, enzymatic kinetics, K_M dan V_{max}

PENDAHULUAN

Energi sangat dibutuhkan oleh manusia pada berbagai sektor mulai sektor industri, sektor ekonomi sampai sektor social (Muhyiddin & Nugroho, 2021). Ketersediaan cadangan minyak bumi yang berasal dari fosil semakin menipis sementara kebutuhan terhadap minyak bumi semakin meningkat (Speirs et al., 2015). Kondisi cadangan minyak bumi yang berasal dari fosil diperkirakan dapat dieksploitasi hingga 18 tahun lagi. Bila masalah ini tidak segera terpecahkan, maka diperkirakan dalam waktu 2-3 tahun mendatang Indonesia merupakan negara pengimpor bahan bakar minyak dalam jumlah yang cukup besar. Kondisi ini menuntut ditemukannya sumber energi yang terbarukan dan ramah lingkungan. Saat ini, teknologi yang berpeluang untuk dikembangkan sebagai energi alternatif adalah bioetanol (Senam, 2009).

Perkembangan penelitian produksi bioetanol saat ini sudah memasuki fase kedua, yaitu pembuatan bioetanol dengan memanfaatkan limbah agroindustri yang mengandung lignoselulosa



(Sukowati et al., 2014). Lignoselulosa dapat didegradasi menjadi glukosa melalui proses hidrolisis. Hidrolisis merupakan satu tahapan penting dalam biokonversi biomassa sebagai sumber gula menjadi bioetanol. Pada proses ini terjadi pemecahan selulosa oleh enzim maupun katalisator lainnya menjadi gula-gula sederhana seperti selobiosa dan glukosa (Askarieh et al., 2000).

Sampai saat ini hidrolisis lignoselulosa menggunakan asam lebih banyak diterapkan dibandingkan hidrolisis menggunakan enzim karena harganya lebih mahal dan sulit didapatkan. Aji (2016), melaporkan hidrolisis pelepah nipah menggunakan asam H_2SO_4 menunjukkan hasil kurang menggembirakan karena glukosa yang dihasilkan sangat sedikit. Oleh karena itu, perlu dicoba hidrolisis melalui proses enzimatik. Menurut Fuadi et al. (2015), hidrolisis menggunakan enzim biasanya lebih disukai daripada hidrolisis menggunakan asam karena enzim bekerja lebih spesifik sehingga menghasilkan produk sesuai yang diharapkan, dapat digunakan pada kondisi proses yang lebih ringan, serta lebih ramah lingkungan.

Salah satu enzim yang memiliki peranan penting dalam pembuatan bioetanol adalah selulase (Abada et al., 2018). Harga selulase murni di pasaran cenderung sangat mahal, sehingga salah satu langkah alternatif untuk mendapatkan sumber selulase yang murah yaitu dengan memanfaatkan limbah rumen kambing yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH). Rumen kambing mengandung berbagai jenis mikroba yang membantu proses pencernaan, zat perangsang pertumbuhan dan enzim. Menurut Williams & Withers. (1992), cairan rumen yang diperoleh dari rumah potong hewan banyak mengandung α -amilase, galaktosidase, hemiselulase, selulase, dan xilanase.

Informasi mengenai karakteristik selulase yang diperoleh dari cairan rumen kambing masih belum banyak tersedia, sehingga perlu dilakukan isolasi dan karakterisasi. Isolasi selulase dari cairan rumen lebih mudah dilakukan daripada isolasi dari mikroorganisme. Karakterisasi enzim dilakukan untuk mengetahui kinerja selulase yang diperoleh dari rumen kambing dalam mendegradasi selulosa sehingga dihasilkan glukosa secara optimal. Karakterisasi yang akan dilakukan meliputi ketahanan selulase terhadap pH, suhu serta parameter kinetika reaksi. Berdasarkan hal tersebut di atas, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk : (1) memperoleh ekstrak selulase kasar dari cairan rumen kambing menggunakan ammonium sulfat



serta menentukan aktivitas spesifik enzim, dan (2) mengetahui pH optimum, suhu optimum, dan parameter kinetika hidrolisis selulosa.

METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pertanian dan Laboratorium Riset dan Teknologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto Utara, Jawa Tengah. Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain cairan rumen kambing, amonium sulfat, larutan buffer, asam sitrat, disodium fosfat dihidrat, natrium dihidrogen fosfat, asam borat, sodium tetraborat dekahidrat, trisodium sitrat, *Dinitrocalycylic acid* (DNS), NaOH, fenol, glukosa, *coomasie blue* G-250, etanol, H_3PO_4 , *Bovine Serum Albumin* (BSA), pereaksi *Bradford*, dan *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC). Sedangkan peralatan yang digunakan antara lain *sentrifuge*, *magnetic stirrer*, *water bath*, spektrofotometer, refrigerator, kertas saring *Whatman* No. 01, timbangan analitik, pipet tetes, labu erlenmeyer serta tabung reaksi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Kambing yang digunakan adalah jenis kambing Jawa (*Capra aegragus hircus*) umur 11 - 12 bulan dari di Laboratorium Exfarm Fakultas Peternakan Unsoed. Semua kambing diberi pakan rumput dan dipelihara pada kondisi pemeliharaan yang sama. Sampel yang digunakan adalah cairan rumen kambing yang berasal dari 5 ekor kambing dan diberi kode K1, K2, K3, K4 dan K5. Penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap, yaitu isolasi dan karakterisasi. Tahap isolasi terdiri dari filtrasi menggunakan kain saring, fraksinasi dengan penambahan garam amonium sulfat (50, 60,70, dan 80 %), dilanjutkan dengan sentrifugasi 7.000 rpm pada suhu 4 °C selama 15 menit.

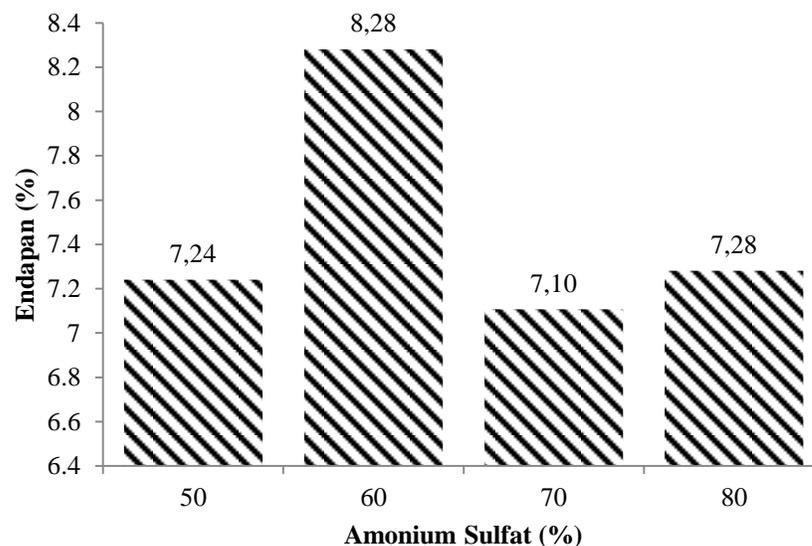
Ekstrak enzim kasar yang dihasilkan diuji aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim. Sampel yang memiliki nilai aktivitas selulase terbaik selanjutnya digunakan untuk tahap karakterisasi. Tahapan karakterisasi terdiri dari ketahanan terhadap pH (5, 6, 7, 8, dan 9), ketahanan terhadap suhu (60, 70, dan 80 °C), dan parameter kinetika reaksi enzimatik yaitu K_M dan V_{maks} dengan mengukur aktivitas selulase pada berbagai konsentrasi substrat (1; 1,5; 2; 2,5; dan 3 %). Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif kuantitatif berdasarkan tahapan penelitian yang dilakukan. Nilai K_m dan V_{max} ekstrak selulase kasar ditentukan menggunakan model persamaan Michaelis-Menten (Mulyaningtyas et al., 2015).



HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi selulase dari cairan rumen kambing

Isolasi selulase dilakukan beberapa tahap di antaranya pengambilan cairan rumen kambing sebagai sumber selulase, filtrasi, fraksinasi menggunakan amonium sulfat, dan sentrifugasi untuk mendapatkan ekstrak enzim kasar. Tingkat kejenuhan amonium sulfat yang digunakan dalam penelitian ini adalah 50, 60, 70, dan 80 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase endapan tertinggi diperoleh pada konsentrasi amonium sulfat 60 % (Gambar 1). Pada konsentrasi 50 % endapan yang dihasilkan sebesar 7,24 % dan meningkat pada konsentrasi 60 % menjadi sebesar 8,28%. Namun, pada konsentrasi 70 dan 80 % endapan mengalami penurunan masing-masing sebesar 7,1067 % dan 7,28 %. Hal ini sesuai dengan Wardhani (2012) yang menyatakan bahwa pengendapan enzim dari cairan rumen domba menggunakan 60 % ammonium sulfat menghasilkan endapan yang banyak. Berdasarkan hasil tersebut penambahan amonium sulfat pada masing-masing sampel cairan rumen kambing menggunakan konsentrasi amonium sulfat 60 %.



Gambar 1. Grafik penentuan persentase amonium sulfat.



Penentuan aktivitas selulase dan aktivitas spesifik enzim

Hasil pengamatan terhadap aktivitas selulase dan aktivitas spesifik enzim dapat dilihat pada (Tabel 1). Uji aktivitas selulase diawali dengan penyaringan menggunakan substrat kertas saring Whatman No. 1 (FP-ase) untuk mendapatkan filtrat. Kadar glukosa sebagai hasil aktivitas selulase ditentukan dengan metode DNS (3,5-dinitrosalisilat).

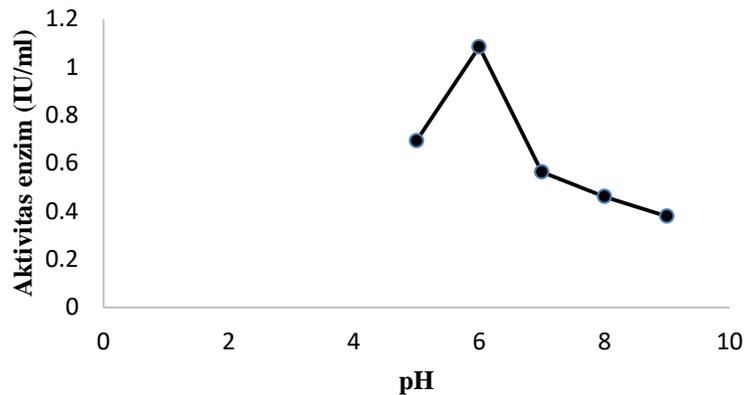
Tabel 1. Uji aktivitas dan aktivitas spesifik selulase dari rumen kambing

Ekstrak selulase kasar	Kadar gula pereduksi (mg/ml)	Aktivitas enzim (IU/ml)	Kadar protein (mg/ml)	Rata-rata aktivitas spesifik (IU/mg protein)
K1	0,0956	0,8852	1,1543	
K2	0,0705	0,6524	2,3196	
K3	0,0705	0,6524	1,5952	1,6256
K4	0,0853	0,7893	0,5559	
K5	0,0831	0,7688	0,1464	

Berdasarkan (Tabel 1) diperoleh informasi bahwa aktivitas selulase K1 = 0,8852 IU/ml, K2 dan K3 = 0,6524 IU/ml, K4 = 0,7893, dan K5 = 0,7688 IU/ml. Hal tersebut menunjukkan bahwa cairan rumen kambing merupakan sumber selulase yang potensial. Aktivitas spesifik enzim diperoleh dengan membagi aktivitas enzim dengan kadar protein. Hasil dari perhitungan, rata-rata aktivitas spesifik selulase dari rumen kambing yaitu 1,6256 IU/mg. Aktivitas spesifik enzim menunjukkan tingkat kemurnian suatu enzim, semakin tinggi aktivitas spesifik suatu enzim maka semakin tinggi kemurnian enzim tersebut (Triana, 2013).

Penentuan pH optimum

Nilai pH larutan akan berpengaruh terhadap aktivitas enzim. Pada saat pH larutan menurun atau meningkat maka sifat berbagai gugus asam dan amina pada rantai samping asam amino berubah, sehingga menyebabkan perubahan keseluruhan bentuk struktur tiga dimensi enzim. Pada pH yang sangat tinggi atau sangat rendah umumnya enzim akan kehilangan sebagian atau seluruh aktivitas katalitiknya. Enzim menjadi tidak stabil ketika pH berubah sangat ekstrim (Saryono, 2011).



Gambar 2. Pengaruh pH terhadap aktivitas selulase dari rumen kambing

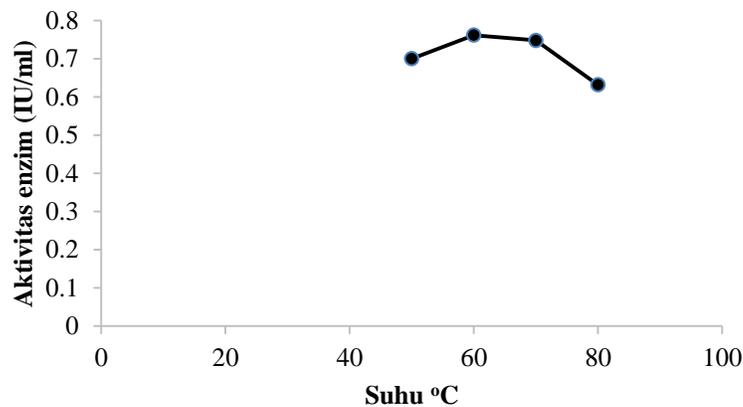
Pengaruh pH pada aktivitas selulase diamati pada rentang pH 5 sampai 9. Berdasarkan kurva pada (Gambar 2) dapat dilihat bahwa perubahan aktivitas enzim terhadap pH dimulai pada pH 5 dengan aktivitas enzim sekitar 0,6935 IU/ml dan mengalami peningkatan pada pH 6 dengan aktivitas enzim sebesar 1,0837 IU/ml. Pada nilai pH larutan lebih dari 6 aktivitas enzim mulai mengalami penurunan. Aktivitas enzim pada pH 7, 8 dan 9 berturut-turut adalah 0,5634 IU/ml, 0,4607 IU/ml, dan 0,3785 IU/ml. Hasil ini sesuai dengan penelitian (Sholihati et al., 2015) yang menyatakan bahwa selulase yang diproduksi oleh *Bacillus subtilis* mempunyai pH optimum 6 dengan aktivitas sebesar 0,00436 IU/ml. Berbeda dengan Sholihati et al. (2015), penelitian (Wardhani, 2012) menunjukkan bahwa aktivitas selulase rumen domba optimum pada pH 8 dengan aktivitas sebesar 0,00419 IU/ml. Penelitian Budiansyah et al. (2010), menunjukkan aktivitas enzim selulase cairan rumen sapi impor optimum pada pH 4. Hal ini menunjukkan bahwa enzim selulase memiliki pH optimum yang bervariasi tergantung dari sumbernya.

Penentuan suhu optimum

Suhu sangat berpengaruh terhadap laju kecepatan reaksi enzimatik. Enzim dapat menjalankan aktivitas optimumnya pada kisaran suhu tertentu. Suhu optimum merupakan suhu pada saat reaksi enzimatik mencapai laju reaksi maksimum. Pada suhu 50 °C selulase memiliki nilai aktivitas enzim sebesar 0,7003 IU/ml, dan mengalami peningkatan pada suhu 60 °C dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0,7619 IU/ml (Gambar 3). Akan tetapi pada suhu 70-80 °C nilai aktivitas selulase menurun kembali dengan nilai aktivitas enzim berturut-turut sebesar 0,7482



dan 0,6319 IU/ml. Hal ini menunjukkan bahwa suhu juga berperan penting dalam mengontrol kecepatan reaksi enzimatik. Kenaikan suhu lingkungan akan menaikkan aktivitas enzim sampai batas suhu tertentu dan jika suhu dinaikan terus maka enzim akan mengalami penurunan aktivitas.



Gambar 3. Pengaruh suhu terhadap aktivitas selulase dari rumen kambing.

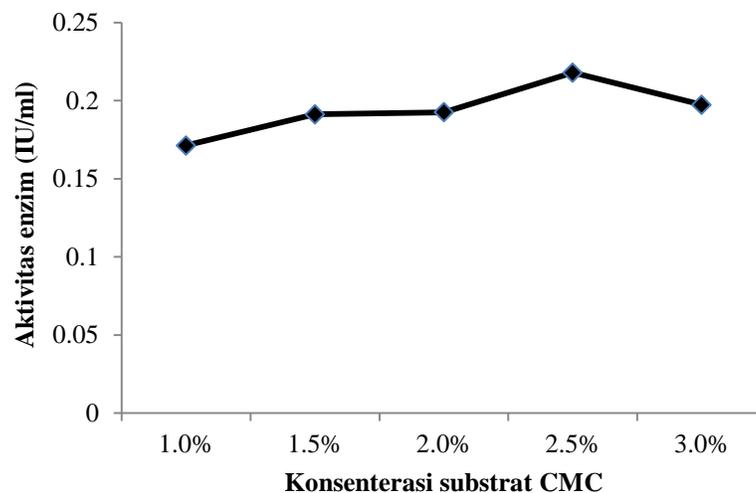
Penelitian ini memberikan hasil yang berbeda dengan penelitian Budiansyah et al. (2010), yang menyatakan bahwa suhu optimum selulase dari rumen sapi lokal adalah pada suhu 50 °C dan sapi impor pada suhu 40 °C. Sedangkan pada penelitian Masfufatun (2009), suhu optimum selulase dari bekicot adalah 50 °C. Aktivitas optimum selulase dari *Bacillus amyloliquefaciens* juga terjadi pada suhu 50°C (Ye et al., 2017). Ekstrak kasar selulase dari rumen kambing ini termasuk dalam golongan termozim, yaitu golongan enzim yang tahan panas karena selulase dapat bekerja optimum pada suhu 60 °C. Menurut (Meryandini et al., 2009) enzim yang memiliki aktivitas optimum antara suhu 50 °C sampai dengan 80 °C masuk dalam golongan termozim. Sedangkan enzim yang mempunyai aktivitas optimum lebih dari 80 °C termasuk dalam golongan hipertermozim.

Kinetika reaksi enzimatik

Konsentrasi substrat merupakan salah satu faktor yang berpengaruh langsung terhadap aktivitas enzim. Untuk dapat menentukan parameter kinetika maka hubungan antara konsentrasi substrat dengan laju reaksi enzimatik harus digambarkan dengan garis lurus Lineweaver-Burk. Pengaruh konsentrasi substrat sintetis *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) terhadap aktivitas



selulase dapat dilihat pada (Gambar 4). Aktivitas enzim pada konsentrasi 1-2,5 % mengalami peningkatan. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi substrat maka semakin banyak konsentrasi kompleks enzim-substrat yang terbentuk. Hal ini menyebabkan produk akan semakin banyak dengan semakin besarnya kecepatan reaksi. Akan tetapi pada penambahan konsentrasi CMC di atas 2,5 % mengalami penurunan aktivitas enzim karena adanya mekanisme penghambatan. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian (Irawati, 2016) yang menyatakan bahwa aktivitas optimum selulase terhadap substrat CMC terjadi pada konsentrasi CMC sebesar 2,5% dengan nilai aktivitas 0,0221 IU/ml.

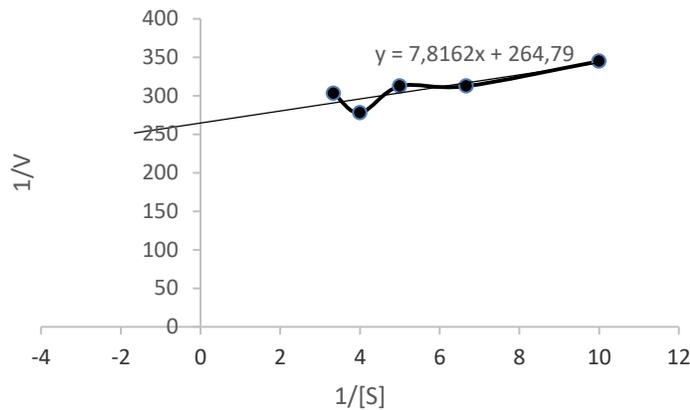


Gambar 4. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas selulase dari rumen kambing.

Hasil analisis pengaruh konsentrasi substrat selanjutnya digunakan untuk menentukan laju reaksi maksimum (V_{maks}) dan konstanta Michaelis-Menten (K_M). Analisis penentuan nilai V_{maks} dan K_M dilakukan dengan mentransformasikan persamaan Michaelis-Menten ke dalam persamaan Lineweaver-Burk:

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{maks}} + \frac{K_M}{V_{maks}} \frac{1}{[S]} \dots\dots\dots (1)$$

Diperoleh nilai intersep = $\frac{1}{V_{maks}}$, slope = $\frac{K_M}{V_{maks}}$, $y = \frac{1}{V}$, dan $x = \frac{1}{[S]}$



Gambar 5. Grafik hubungan 1/V dengan 1/[S]

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi substrat CMC terhadap nilai aktivitas selulase dari rumen kambing

Konsentrasi	Absorbansi	Aktivitas enzim (IU/ml)	1/[S]	1/V	K_M	V_{max}
1,0 %	0,256	0,1713	10	344,8276	0,029 5	0,0038
1,5 %	0,285	0,1912	6,6667	312,5		
2,0 %	0,287	0,1925	5	312,5		
2,5 %	0,324	0,2179	4	277,7778		
3,0 %	0,294	0,1973	3,3333	303,0303		

Berdasarkan (Gambar 5) menunjukkan 1/V adalah fungsi dari 1/[S]. Dengan demikian, jika dibuat kurva hubungan antara 1/V dengan 1/[S], akan terbentuk garis lurus dan diperoleh persamaan $y = 7,8162x + 264,79$. Sehingga dari hasil perhitungan diperoleh nilai V_{maks} sebesar 0,0038 IU/ml yang menunjukkan kecepatan maksimum selulase ketika jenuh dengan substrat selulosa. Nilai K_M sebesar 0,0295 % yang menunjukkan konsentrasi CMC pada saat laju aktifitas enzim selulase mencapai setengah dari kecepatan maksimumnya (Tabel 2). Nilai K_M yang rendah ini menunjukkan afinitas substrat yang besar terhadap enzim sehingga reaksi enzimatik cepat mencapai maksimum. Hal ini menguntungkan karena dapat meningkatkan produktifitas.



SIMPULAN

Ekstrak selulase kasar terbanyak diperoleh pada saat konsentrasi amonium sulfat 60 %. Ekstrak selulase kasar mempunyai nilai rata-rata aktivitas spesifik sebesar 1,6256 IU/mg. Isolat K1 digunakan untuk proses karakterisasi karena memiliki nilai aktivitas selulase tertinggi yaitu sebesar 0,8852 IU/ml. Karakteristik selulase kasar dari cairan rumen kambing mempunyai nilai pH optimum 6 dengan aktivitas enzim sebesar 1,0837 IU/ml, dan suhu optimum 60 °C dengan aktivitas enzim sebesar 0,7619 IU/ml. Pada konsentrasi optimum substrat CMC sebesar 2,5 % maka nilai aktivitas enzim sebesar 0,2179 IU/ml. Selulase dari rumen kambing mempunyai nilai V_{maks} 0,0038 IU/ml dan nilai K_M 0,0295 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Abada, E. A., Masrahi, Y. S., Al-Abboud, M. A., Alnashiri, H. M., & El-Gayar, K. E. (2018). Bioethanol Production with Cellulase Enzyme from *Bacillus cereus* Isolated from Sesame Seed Residue from the Jazan Region. *BioResources*, 13(2), 3832–3845. <https://doi.org/10.15376/BIORES.13.2.3832-3845>
- Aji, K. P. (2016). *Pengaruh Konsentrasi H₂SO₄ dan Waktu Hidrolisis terhadap Kadar Gula Reduksi Pelepah Nipah Untuk Pembuatan Bioetanol*. Universitas Jenderal Soedirman.
- Askarieh, C. A. V., Daniel, F. B. D., Fitz, G. P. L., Holto, G. J., Pilkington, N. J., & Rees, H. J. (2000). The chemical and microbial degradation of cellulose in the near field of a repository for radioactive wastes. *Waste Management*, 20, 93–106.
- Budiansyah, A., Resmi, Wiryawan, K. G., Soehartono, M. T., & Widyastuti., Y. R. N. (2010). Isolasi dan karakterisasi enzim karbohidrase cairan rumen sapi asal rumah potong hewan. *Jurnal Peternakan*, 33(1), 36–43.
- Fuadi, A. M., Harismah, K., & Setiawan., A. (2015). Pengaruh suhu dan pH terhadap banyaknya yield (kadar glukosa) yang dihasilkan pada proses hidrolisis enzimatik dari limbah kertas. *Jurnal Teknik Kimia*, 178–185.
- Irawati, R. (2016). Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi Oleh *Bacillus Circulans*. *Journal of Chemical Information and Modeling*,



53(9), 1689–1699.

- Masfufatun, masfufatun. (2009). Optimasi proses hidrolisis carboxy methyl cellulose (CMC) dengan enzim selulase dari bekicot (*Achatina Fulica*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa*, 362–370. <https://doi.org/10.1038/132817a0>
- Meryandini, A., W, W., & Maranatha, B. (2009). Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Jurnal Sains*, 13(1), 33–38.
- Muhyiddin, M., & Nugroho, H. (2021). A Year of Covid-19: A Long Road to Recovery and Acceleration of Indonesia's Development. *Jurnal Perencanaan Pembangunan: The Indonesian Journal of Development Planning*, 5(1), 1–19. <https://doi.org/10.36574/jpp.v5i1.181>
- Mulyaningtyas, A., Ningsih, R., Syamsiah, S., Sarto, & Sediawan, W. B. (2015). Kinetics of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose Using *Aspergillus niger*. *Advanced Materials Research*, 1101, 294–298.
- Saryono. (2011). *Biokimia Enzim*. Nuha Medika.
- Senam. (2009). Prospek bioetanol sebagai bahan bakar yang terbarukan dan ramah lingkungan. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan Dan Penerapan MIPA*, 2009.
- Sholihati, A. M., Baharuddin, M., & Santi. (2015). Produksi dan uji aktivitas enzim selulase dari bakteri *Bacillus subtilis*. *Jurnal Kimia*, 78–90.
- Speirs, J., McGlade, C., & Slade, R. (2015). Uncertainty in the availability of natural resources: Fossil fuels, critical metals and biomass. *Energy Policy*, 87, 654–664. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2015.02.031>
- Sukowati, A., Sutikno, & Rizal., S. (2014). Produksi bioetanol dari kulit pisang melalui hidrolisis asam sulfat. *Jurnal Teknologi Dan Industri Hasil Pertanian*, 19(3), 275–288. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2015.03.025><http://dx.doi.org/10.1038/nature10402><http://dx.doi.org/10.1038/nature21059><http://journal.stainkudus.ac.id/index.php/equilibrium/article/view/1268/1127><http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2577>
- Triana, R. (2013). *Pemurnian dan karakterisasi enzim glukosa oksidase dari isolat local *Aspergillus niger* (IPBCC.08.610)*. IPB.
- Wardhani, D. S. (2012). *Evaluasi Stabilitas Aktivitas Enzim Selulase Cairan Rumen Domba*. IPB.



- Williams, A. G., & Withers., S. E. (1992). Changes in the rumen microbialpopulation and its activities during the refaunation period after the reintroduction of ciliate protozoa into the rumen of defaunated sheep. *Canadian J Microbiology*, 39, 61.
- Ye, M., Sun, L., Yang, R., Wang, Z., & Qi, K. (2017). The optimization of fermentation conditions for producing cellulase of bacillus amyloliquefaciens and its application to goose feed. *Royal Society Open Science*, 4(10), 171012. <https://doi.org/10.1098/rsos.171012>