



**UNIVERSITAS
MUHAMMADIYAH
BANDUNG**
Islamic Technopreneur University

JSTE

Journal of Science, Technology,
and Entrepreneurship

Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Rumen Sapi (*Bibos javanicus*)

Solahuddin¹, Nisa Isneni Hanifa², Rizqa Fersiyana Deccati³, Handa Muliasari⁴

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram

Jl. Majapahit No. 62, Mataram, Nusa Tenggara Barat, (0370) 633007

e-mail: ¹5014solahuddin@gmail.com, ²nisa.isneni.hanifa@unram.ac.id, ³rizqa.fd@unram.ac.id,
⁴handamuliasari@unram.ac.id

Abstrak

Enzim selulase termasuk kedalam enzim hidrolase yang bekerja pada substrat selulosa. Enzim selulase dapat diproduksi oleh berbagai fungi, jamur, bakteri, dan ruminansia. Rumen sapi (hewan ruminansia) mengandung bakteri dan fungi yang mengeluarkan enzim selulase yang berguna pada proses hidrolisis selulosa pada pencernaan pakan ruminansia. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi enzim selulase dan mengukur aktivitas enzim selulase yang diisolasi dari rumen sapi. Isolasi enzim dimulai dengan proses dialisis cairan rumen sapi menggunakan kantong selofan dalam larutan buffer asetat 0,05 Molar, dilanjutkan dengan proses sentrifugasi dan diakhiri dengan penambahan amonium sulfat untuk mengendapkan enzim selulase yang lebih murni. Pengujian aktivitas enzim selulase ditentukan secara kuantitatif dengan metode asam 3,5-dinitrosalisilat menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Standar yang digunakan adalah glukosa dengan reagen dinitrosalisilat serta substrat Karboksimetil selulosa. Didapatkan hasil bahwa aktivitas enzim selulase rumen sapi sebesar 0,1467 Unit/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa isolat enzim selulase yang diperoleh memiliki kemampuan dalam menghidrolisis selulosa pada substrat karboksimetil selulosa membentuk gula pereduksi yaitu glukosa.

Kata kunci: Aktivitas Enzim Selulase, Rumen Sapi.

Abstract

Cellulase enzymes are included in hydrolase enzymes that work on cellulose substrates. Cellulase enzymes can be produced by various fungi, fungi, bacteria, and ruminants. The rumen of cattle (ruminants) contains bacteria and fungi that secrete cellulase enzymes which are useful in the hydrolysis of cellulose in the digestion of ruminant feed. This study aims to isolate the cellulase enzyme and measure the activity of the cellulase enzyme isolated from the rumen of cattle. The isolation of the enzyme started with the dialysis process of cow rumen fluid using cellophane bags in 0.05 Molar acetate buffer solution, followed by a centrifugation process, and ended with the addition of ammonium sulfate to precipitate a purer cellulase enzyme. The test of cellulase enzyme activity was determined quantitatively by the 3,5-dinitrosalicylic acid method using UV-Vis spectrophotometry. The standard used is glucose with dinitrosalicylate reagent and Carboxymethyl cellulose as substrate. The results showed that the activity of the bovine rumen cellulase enzyme was 0.1467 Unit/mL. These results indicate that the cellulase enzyme isolate obtained can hydrolyze cellulose on a carboxymethyl cellulose substrate to form a reducing sugar, namely glucose.

Keywords: Cellulase Enzyme Activity, Beef Rumen.

1. PENDAHULUAN

Rumen sapi merupakan salah satu limbah peternakan yang belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Limbah peternakan tersebut dapat menimbulkan masalah terhadap lingkungan.

Berdasarkan data pada tahun 2015 menyatakan bahwa produksi limbah berupa kotoran segar dari sapi dan kerbau mencapai 239.250 ton per hari [1]. Pemanfaatan limbah tersebut hanya sebagai pupuk organik dan pakan ternak [1], [2].

Enzim selulase terdiri dari tiga enzim ekstraseluler yang bekerja secara sinergis dalam mendegradasi selulosa, yakni endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase [3]. Enzim selulase umumnya digunakan untuk biokatalisator dalam industri tekstil, produksi bioetanol, pulp, dan paper [4]. Saat ini, telah berkembang penggunaan enzim sebagai pelarut dalam proses ekstraksi metabolit sekunder tanaman. Enzim selulase diketahui dapat mengekstrak senyawa tanin, alkaloid, dan flavonoid [5]. Harga yang mahal dan enzim tidak dapat digunakan secara berulang merupakan kendala utama dalam penggunaan enzim murni di berbagai bidang kehidupan. Salah satu solusi yang dapat dilakukan adalah melakukan isolasi enzim selulase dari bahan yang ada disekitar kita.

Enzim selulase dapat diproduksi oleh bakteri simbiotik dalam perut hewan ruminansia dan beberapa serangga [6]. Cairan pada rumen sapi mengandung berbagai mikroorganisme seperti bakteri, fungi maupun protozoa. Diketahui bahwa bakteri dan fungi tersebut mengeluarkan enzim selulase yang berguna pada proses hidrolisis selulosa pada pencernaan pakan ruminansia [7]. Banyaknya mikroorganisme yang membantu proses pencernaan sapi tersebut, cairan rumen sapi dilaporkan kaya akan berbagai enzim seperti enzim selulase, amilase, protease, dan xilanase [8]. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan melakukan uji aktivitas enzim selulase dari rumen sapi.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai November 2020 di Laboratorium Mikrobiologi (Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam), Laboratorium Penelitian (Program Studi Farmasi) Universitas Mataram.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, timbangan analitik, hotplate, mikropipet, magnetic stirrer, sentrifugator, oven, kantong selofan, dan spektrofotometri UV-Vis Specord®200. Bahan yang digunakan adalah cairan rumen sapi yang diambil di Rumah Potong Hewan Negeri Mataram, Kota Mataram Provinsi Nusa Tenggara Barat. Bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, aquades p.a, buffer asetat, buffer fosfat, amonium sulfat, glukosa p.a, kalium natrium tartrat (K-Na tartrat), asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), dan karboksimetil selulosa (CMC).

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Preparasi pelarut enzim (enzim selulase dari rumen sapi)

Isolasi enzim selulase dimulai dengan merendam cairan rumen sapi yang telah dibungkus menggunakan kantong selofan di dalam larutan buffer asetat 0,05 M selama 10 jam sehingga terjadi proses dialisis. Cairan rumen yang telah didialisis kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3400 rpm selama 30 menit dan dipisahkan antara endapan dengan supernatan. Supernatan yang didapat merupakan enzim selulase kasar, supernatan yang diperoleh kemudian ditambahkan amonium sulfat konsentrasi 40% sedikit demi sedikit. Kemudian diaduk menggunakan magnetic stirrer dengan diberi tempat yang sekelilingnya direndam es. Setelah pengadukan, dibiarkan campuran dalam keadaan dingin selama satu malam. Langkah berikutnya adalah dilakukan sentrifugasi hingga diperoleh endapan. Endapan tersebut dilarutkan dalam buffer asetat 0,05 M dan dilakukan dialisis kembali agar didapatkan hasil enzim selulase yang lebih murni [9].

2.3.2 Pengujian aktivitas enzim

a. Pembuatan pereaksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS)

Menimbang 1 gram asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), dilarutkan ke dalam 20 mL larutan NaOH 2 N dan 50 mL aquades, kemudian ditambahkan 30 gram K-Na tartrat dan diaduk dengan magnetik stirrer. Digenapkan volume akhir menjadi 100 mL dengan aquades [10].

b. Pembuatan kurva standar glukosa

Larutan stok glukosa dibuat dengan menimbang 0,05 gram glukosa dan dilarutkan dengan aquabides dalam labu ukur 50 mL. Dari larutan stok kemudian dibuat beberapa seri konsentrasi yaitu 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; dan 0,6 mg/mL. Pembuatan kurva standar dimulai dengan memasukkan masing-masing 1,5 mL larutan seri konsentrasi standar glukosa ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1,5 mL aquades ke dalam tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan reagen DNS sebanyak 1,5 mL dan dihomogenkan. Dipanaskan semua tabung reaksi selama 5 menit dan didinginkan selama 50 menit. Dengan mengukur serapan pada panjang gelombang (λ) 540 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mendapatkan hasil absorbansi [11].

c. Uji aktivitas enzim selulase

Larutan enzim selulase dibuat dengan cara menimbang isolat enzim selulase sebanyak 0,2732 gram dan dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan buffer fosfat. Uji aktivitas selulase dilakukan dengan menambahkan 1,5 mL supernatan (enzim), 1,5 mL larutan CMC 1%, dan, 1,5 mL buffer fosfat pH 7, kemudian dihomogenkan dengan vortex lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 55°C. Selanjutnya ditambahkan 1,5 mL pereaksi DNS pada larutan dan mendidihkan selama 5 menit pada penangas air dengan suhu 100°C, setelah itu didinginkan selama 50 menit, kemudian mengukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang (λ) 540 nm. Penentuan kadar glukosa yang terbentuk menggunakan kurva standar glukosa yang telah dibuat sebelumnya [12]. Aktivitas enzim selulase ditentukan dengan mengkonversi nilai absorbansi yang diperoleh dari konsentrasi glukosa standar, kemudian dihitung dengan menggunakan rumus [13].

$$AE = \frac{C}{BM \text{ Glukosa} \times T} \times \frac{H}{E} \quad (1)$$

Keterangan :

AE = Aktivitas enzim (Unit/mL)

C = Konsentrasi glukosa dalam sampel (mg/mL)

BM = Berat molekul glukosa (180 g/mol)

T = Waktu inkubasi (menit)

H = Volume total enzim-substrat (mL)

E = Volume enzim (mL)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Isolasi Enzim Selulase

Isolasi merupakan cara untuk memisahkan suatu zat dari campurannya, sehingga diperoleh zat yang murni. Tahap dalam proses isolasi enzim selulase rumen sapi yaitu pengambilan enzim selulase dari rumen sapi, dialisis tahap pertama, sentrifugasi tahap pertama, pemurnian enzim yang disertakan dengan proses sentrifugasi dan dialisis kembali. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah cairan rumen sapi yang sebelumnya telah dikumpulkan.

Dialisis tahap pertama

Cairan rumen sapi direndam dalam larutan buffer asetat 0,05 M, yang sebelumnya telah dibungkus menggunakan kantong selofan dan diletakkan es di sekelilingnya dan didiamkan selama 10 jam. Proses dialisis ini untuk memisahkan zat-zat pengotor yang masih bergabung dengan enzim selulase yang terdapat dalam rumen sapi. Prinsip dari dialisis adalah pemisahan dari molekul-molekul yang besar dari molekul-molekul yang berukuran kecil dengan menggunakan bantuan membran semipermeabel [14].

Membran semipermeabel yang digunakan adalah kantong selofan, memiliki ukuran pori-pori yang lebih kecil dari ukuran enzim selulase sehingga enzim tersebut terperangkap dalam kantong selofan sedangkan molekul-molekul kecil dan ion-ion akan melewati pori-pori selaput semipermeabel dan keluar dari kantong selofan. Pada proses dialisis, dilakukan penambahan larutan buffer asetat 0,05 agar garam ammonium sulfat dan garam lain yang ada dalam rumen sapi bisa melewati membran selofan dan keluar melewati membran semipermeabel karena perbedaan konsentrasi pelarut yang ada di dalam dan di luar kantong selofan. Hal ini mengikuti prinsip difusi osmosis sambil diaduk dengan

magnetic stirrer untuk mempercepat proses pemurnian enzim, dan dilakukan dengan meletakkan es di sekeliling wadah agar enzim tidak rusak dan tetap dalam keadaan stabil [15].

Sentrifugasi tahap pertama

Cairan rumen yang telah didialisis kemudian disentrifugasi untuk memisahkan enzim dan pengotor yang masih bercampur. Prinsip pemisahan ini berdasarkan perbedaan berat jenis molekul dengan cara memberikan gaya sentrifugal sehingga substansi yang lebih berat akan berada di dasar, sedangkan substansi yang lebih ringan akan terletak di atas [16]. Supernatan merupakan enzim selulase kasar yang belum murni.

Proses pemurnian enzim

Proses pemurnian enzim selulase yaitu dengan proses pengendapan menggunakan amonium sulfat 40%. Ammonium sulfat bertujuan untuk memisahkan ekstrak kasar enzim dari molekul-molekul protein enzim lain. Prinsip pengendapannya yaitu berdasarkan pada kelarutan enzim yang merupakan interaksi antara gugus polar dengan molekul air, interaksi ionik enzim dengan garam dan gaya tolak-menolak enzim yang bermuatan sama [17]. Penambahan ammonium sulfat sedikit demi sedikit atau konsentrasi rendah, akan menyebabkan terjadinya proses ionisasi sehingga kelarutan enzim dalam pelarutnya meningkat. Ion-ion dalam larutan tersebut akan melingkupi molekul enzim dari muatan enzim lain yang disebut peristiwa salting in yang dapat menyebabkan enzim-enzim yang memiliki muatan yang sama saling tolak-menolak. Peristiwa ini akan berlangsung hingga mencapai titik jenuh. Apabila ammonium sulfat semakin banyak, maka molekul air yang awalnya berikatan dengan bagian hidrofilik enzim menjadi berikatan dengan ammonium sulfat dan menyebabkan kelarutan enzim menurun yang disebut dengan peristiwa salting out. Menurunnya jumlah air yang berikatan dengan enzim menyebabkan kuatnya ikatan antara enzim, sehingga membentuk agregat dan mengendap [18].



Gambar 3.1 Hasil isolasi enzim selulase rumen sapi

Proses pengendapan enzim dilakukan selama 1 malam dan dalam keadaan dingin. Pemberian waktu pengendapan yang lama berfungsi untuk memberikan cukup waktu agar semua enzim dapat terendapkan [19]. Pada proses pengendapan tersebut, tidak semua enzim akan langsung mengendap. Maka dilakukan proses pemisahan menggunakan sentrifuga untuk memperoleh endapan enzim secara optimal [20]. Endapan yang diperoleh merupakan enzim yang masih mengandung ammonium sulfat. Menurut Selvia dkk. (2013) keberadaan amonium sulfat dapat mengganggu kerja dan kestabilan enzim, maka dilakukan pemurnian lebih lanjut untuk memisahkan ammonium sulfat dengan cara dialisis kembali menggunakan larutan buffer asetat 0,05 M. Hasil isolasi enzim selulase disajikan dalam gambar 3.1.

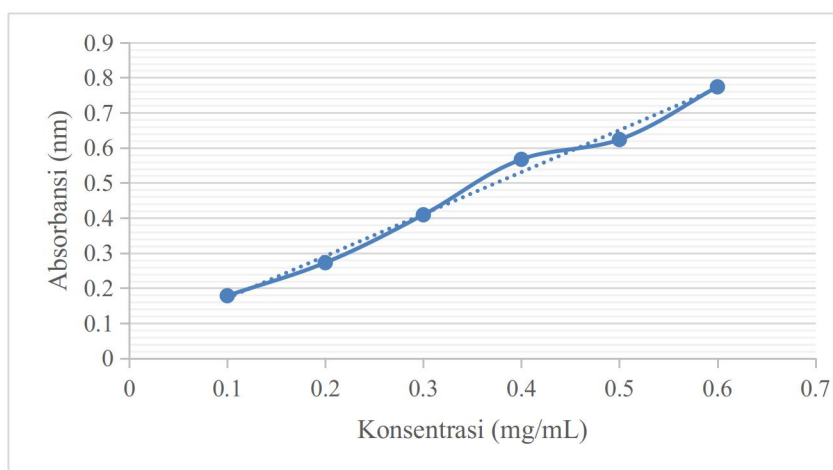
3.2 Uji Aktivitas Enzim Selulase

Pengujian aktivitas enzim ditentukan secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui kadar gula pereduksi yang terbentuk menggunakan metode DNS. Metode DNS dipilih karena metode yang sering digunakan dan hasil yang didapatkan lebih presisi. Gula pereduksi

yang terbentuk menggambarkan aktivitas enzim selulase. Semakin tinggi aktivitas enzim maka semakin banyak pula gula pereduksi yang dihasilkan, hal ini juga berarti semakin tinggi pula nilai absorbansi yang terukur pada spektrofotometer. Substrat yang digunakan adalah CMC. Aktivitas enzim selulase dinyatakan dalam satuan internasional yaitu U/mL. Satu unit merupakan jumlah enzim yang dibutuhkan untuk memecah 1 μmol selulosa menjadi gula pereduksi per menit pada kondisi pengujian [21].

Analisis diawali dengan pembuatan reagen DNS dengan mencampur asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dengan NaOH 2 N dan aquades, kemudian ditambahkan K-Na tartrat. DNS berfungsi sebagai reagen yang dapat membentuk senyawa berwarna dengan adanya gula pereduksi yang dihasilkan, sehingga dapat menyerap radiasi elektromagnetik dan nilai absorbansinya dapat ditentukan. Reaksi yang terjadi adalah reaksi redoks antara glukosa dengan DNS yang membentuk senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat [11].

Pada penelitian ini, pembuatan kurva kalibrasi menggunakan senyawa glukosa. kurva kalibrasi dibuat dalam 6 seri konsentrasi dengan ditambahkan reagen DNS. Masing-masing seri konsentrasi larutan standar dipanaskan yang bertujuan untuk mempercepat jalannya reaksi dengan DNS dan kemudian didinginkan kembali untuk menghentikan reaksi. Adapun pengukuran absorbansi dilakukan pada Panjang gelombang 540 nm dikarenakan senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang merupakan produk hasil reaksi glukosa dan DNS dapat menyerap dengan kuat radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang 540 nm [22], [23]. Dari hasil pengukuran, diperoleh kurva kalibrasi seperti pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Kurva kalibrasi glukosa

Berdasarkan kurva tersebut diperoleh persamaan regresi $y = 1,196x + 0,0522$ dengan nilai $R^2 = 0,9903$. Persamaan regresi linear tersebut kemudian digunakan untuk menghitung konsentrasi glukosa reduksi yang dihasilkan dari aktivitas enzim sehingga diketahui besar aktivitas dari enzim selulase. Penambahan buffer dalam pengujian aktivitas enzim bertujuan untuk menghidrolisis pati sebagai pengotor sehingga menghasilkan kadar pati yang lebih rendah dan meningkatkan kadar gula pereduksi [24]. Konsentrasi yang didapat kemudian disubstitusi dalam persamaan 1, sehingga didapatkan unit aktivitas enzim [11]. Hasil perhitungan aktivitas enzim selulase terlihat pada Tabel 3.2.

Pengujian aktivitas enzim secara kuantitatif menunjukkan bahwa isolat enzim selulase yang diperoleh memiliki kemampuan dalam menghidrolisis selulosa pada substrat CMC membentuk gula pereduksi yaitu glukosa. Data hasil uji aktivitas enzim yang didapat pada penelitian ini sudah termasuk kategori sedang ke tinggi jika dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya. Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan dari rumen sapi pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan aktivitas selulase yang dihasilkan dari jamur *Aspergillus* sp. yaitu sebesar 0,0612 U/mL [25] dan aktivitas selulase tertinggi pada bakteri penghasil selulase asal tanah kandang sapi sebesar 0,0011 U/ml [26].

Tabel 3.2 Aktivitas enzim selulase

Replikasi	absorbansi	Kadar glukosa	Aktivitas enzim selulase (Unit/mL)	Rata-rata aktivitas $\pm$ SD
1	0,5218	0,3927	0,1454	0,1461 $\pm$ 0,0011
2	0,5277	0,3976	0,1454	
3	0,5279	0,3977	0,1473	

Perbedaan aktivitas enzim disebabkan karena setiap enzim selulase yang berasal dari lokasi tumbuh yang berbeda akan memiliki karakteristik yang berbeda pula [27]. Hal ini dikarenakan enzim selulase dalam melakukan kerja kataliknya dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu diantaranya pH, suhu dan konsentrasi substrat. Besarnya konsentrasi substrat sebanding dengan besarnya aktivitas selulase, artinya semakin banyak konsentrasi substrat yang digunakan maka semakin bertambah pula produk glukosa yang dihasilkan [28]. Selain faktor dari tempat produksi, lingkungan tempat kerja enzim juga mempengaruhi aktivitas enzim yang dihasilkan, salah satunya pengaruh suhu. Aktivitas enzim berjalan maksimal pada suhu yang sesuai. ketika suhu bertambah sampai suhu yang tepat, maka kecepatan reaksi enzim naik karena energi kinetik bertambah. Bertambahnya energi kinetik akan mempercepat gerak vibrasi, translasi, dan rotasi baik enzim maupun substrat. Hal ini akan memperbesar peluang enzim dan substrat bereaksi. Namun, ketika suhu lebih tinggi lagi, maka protein berubah konformasi sehingga gugus reaktif terhambat. Denaturasi protein akan menyebabkan perubahan konformasi pada protein enzim. Substrat juga dapat berubah konformasinya pada suhu yang tidak sesuai, sehingga substrat tidak dapat masuk ke dalam sisi aktif enzim dan aktivitas enzim dapat menurun [9].

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa proses isolasi enzim selulase rumen sapi dilakukan melalui beberapa tahap, antara lain pengambilan enzim selulase dari rumen sapi, dialisis tahap pertama, sentrifugasi tahap pertama, pemurnian enzim yang disertakan dengan proses sentrifugasi dan dialisis kembali. Dan rata-rata aktivitas enzim selulase yang diperoleh sebesar 0,1461 Unit/mL.

Daftar Pustaka

- [1] S. Gunto, *Membuat Pakan Ternak dan Unggas dari Limbah Peternakan*. Jakarta: Jakarta : Agromedia Pustaka, 2018, pp. 4-7.
- [2] E. Basri, "Potensi dan Pemanfaatan Rumen Sapi Sebagai Bioaktivator," in *Prosiding Seminar Nasional Agroinovasi Spesifik Lokasi Untuk Ketahanan Pangan Pada Era Masyarakat Ekonomi ASEAN PROSES*, 2013, pp. 1365–1373.
- [3] F. Razie, A. Iswandi, A. Sutandi, L. Gunarto, and Sugianta, "Aktivitas Enzim Selulase Mikroba Yang Diisolasi Dari Jerami Padi Di Persawahan Pasang Surut Di Kalimantan Selatan," *J. Tanah Lingkung.*, vol. 13, no. 2, pp. 43–48, 2011.
- [4] B. T., R. K. Rathnan, and D. John, "Isolation, Screening, Identification and Optimized Production of Extracellular Cellulase from *Bacillus subtilis* Sub.sps using Cellulosic Waste as Carbon Source," *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, vol. 5, no. 4, pp. 442–451, 2016, doi: 10.20546/ijemas.2016.504.052.
- [5] H. Muliasari, A. D. Ananto, R. F. Deccati, D. Almira, and Solahuddin, "Application of crude natural enzymes for extraction of Wali seed [*Brucea javanica* (L) Merr]," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 712, no. 1, 2021, doi: 10.1088/1755-1315/712/1/012043.
- [6] R. Susanti and F. Fibriana, *Teknologi Enzim*. Yogyakarta: Yogyakarta : CV Andi Offset, 2017, pp. 89-95.
- [7] S. B. Oyeleke, "Isolation and characterization of cellulose hydrolysing microorganism from the rumen of ruminants," *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 7, no. 10, p. 142, 2008.

- [8] A. Budiansyah, Resmi, K. G. Wiryawan, M. T. Soehartono, Y. Widyastuti, and N. Ramli, "Isolasi dan karakterisasi enzim karbohidrase cairan rumen sapi asal rumah potong hewan," *Media Peternak.*, vol. 33, no. 1, pp. 36–43, 2010.
- [9] H. Setyoko and B. Utami, "Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase Cairan Rumen Sapi untuk Hidrolisis Biomassa," vol. 13, no. 1, pp. 863–867, 2016.
- [10] N. Azizah, "Pemurnian Enzim Selulase Dari Isolat Khamir Jenis *Candida Utilitis* Menggunakan Fraksinasi Amonium Sulfat," Universitas Alauddin Makassar, 2017.
- [11] H. Murtiyaningsih and M. Hazmi, "Isolasi Dan Uji Aktivitas Enzim Selulase Pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah," *Agritop*, vol. 15, no. 2, pp. 293–308, 2017.
- [12] N. M. O. Sonia and J. Kusnadi, "Isolasi dan Karakterisasi Parsial Enzim Selulase dari Isolat Bakteri Os-16 Asal Padang Pasir Tengger-Bromo," *J. Pangan dan Agroindustri*, vol. 3, no. 4, pp. 11–19, 2015.
- [13] R. Irawati, "Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi oleh *Bacillus circulans*," 2016.
- [14] E. Widowati, A. M. Sari, and F. Husnayaini, "Kombinasi Enzim Poligalakturonase dan Selulase pada Klarifikasi Sari Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis*) dalam Pembuatan Sirup," *J. Teknol. Has. Pertan.*, vol. 11, no. 2, pp. 110–126, 2018.
- [15] N. I. Sari, A. Ahmad, and S. Dali, "Isolasi dan Karakterisasi Protein Bioaktif dari *Spongy Callyspongia Sp.* Sebagai Zat Antioksidan," *Univ. Hasanuddin*, 2014.
- [16] H. Masruroh, U. D. Masruroh, F. S. Nugraheni, and V. Paramita, "Analisa Kadar Lemak Dalam Susu Perah Sapi Menggunakan Gaya Sentrifugasi," *Metana*, vol. 14, no. 1, pp. 25–30, 2018, doi: 10.14710/metana.v14i1.19172.
- [17] D. Margiati, D. Ramdhani, and A. P. Wulandari, "Comparative Study of Antioxidant Phycocyanin Extracts Activity between *S. platensis* with *S. fusiformis* Using DPPH Method Studi Komparatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fikosianin *S. platensis* dengan *S. fusiformis* Menggunakan Metode DPPH," vol. 6, no. 2, pp. 52–58, 2019.
- [18] E. Pasaribu, T. Nurhayati, and M. Nurilmala, "Ekstraksi dan Karakterisasi Enzim Pepsin dari Lambung Ikan Tuna (*Thunnus albacares*)," *J. Pengolah. Has. Perikan. Indones.*, vol. 21, no. 3, pp. 486–496, 2018.
- [19] S. K. Abdullah and M. T. Flayyih, "Production, Purification, and Characterization of Uricase Produced by *Pseudomonas aeruginosa*," *Iraqi J. Sci.*, vol. 56, no. 3B, pp. 2253–2263, 2015.
- [20] R. I. Selvia, Wuryanti, and Sriatun, "Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (*Lepidoptera*)," *J. Kim. Sains dan Apl.*, vol. 16, no. 3, pp. 97–101, 2013.
- [21] M. Nababan, I. B. W. Gunam, and I. M. M. Wijaya, "Produksi Enzim Selulase Kasar dari Bakteri Selulolitik," *J. Rekayasa dan Manaj. Agroindustri*, vol. 7, no. 2, pp. 190–199, 2019.
- [22] R. S. S. Teixeira, A. S. A. Da Silva, V. S. Ferreira-Leitão, and E. P. Da Silva Bon, "Amino Acids Interference on the Quantification of Reducing Sugars by the 3,5-Dinitrosalicylic Acid Assay Mislead Carbohydrase Activity Measurements," *Elsevier*, vol. 363, pp. 33–37, 2012, doi: 10.1016/j.carres.2012.09.024.
- [23] S. Nurjanah, E. Marliana, and W. Astuti, "Yang Berpotensi Sebagai Antidiabetes," *J. At.*, vol. 5, no. 2, pp. 94–98, 2020.
- [24] L. Herlina, "Penetapan Kadar Glukomanan dan Asam Oksalat Dalam Ekstrak Etanol Umbi Suweg (*Amorphophallus paeoniifolius*) beserta Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakterinya," *Skripsi*, vol. universitas, 2021.
- [25] Y. B. Subowo, "Uji Aktifitas Enzim Selulase dan Ligninase dari Beberapa Jamur dan Potensinya Sebagai Pendukung Pertumbuhan Tanaman Terong (*Solarium melongena*)," *Ber. Biol.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–6, 2010.
- [26] A. Sembiring, "Isolasi Dan Uji Aktivitas Bakteri Penghasil Selulase Asal Tanah Kandang Sapi," *J. Biol. Sci. Educ.*, vol. 8, no. 1, pp. 21–28, 2019.
- [27] A. L. Lehninger, *Biochemistry*. New York: WorthPublisher Inc, 1997, pp. 89-101.
- [28] A. Mokodompit, J. Ngangi, and E. M. Moko, "Characterization of Bacterial Isolate Cellulase Enzymes in the Digestive Tract Termites (*Odontotermes javanicus*)," *J. Ilmu Hayati*, vol. 1, no. 2, pp. 47–54, 2020.