

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI SELULOLITIK PADA
SERASAH NANAS (*Ananas comosus*) DI PERKEBUNAN PT GREAT
GIANT PINEAPPLE (GGP) TERBANGGI BESAR LAMPUNG TENGAH**

(Skripsi)

**Oleh
Niken Ayuningtyas**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRAK

ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI SELULOLITIK PADA SERASAH NANAS (*Ananas comosus*) DI PERKEBUNAN PT GREAT GIANT PINEAPPLE (GGP) TERBANGGI BESAR LAMPUNG TENGAH

Oleh

NIKEN AYUNINGTYAS

PT. Great Giant Pineapple (*PT. GGP*) memiliki lahan perkebunan nanas yang cukup luas dan setiap pasca panen lahan perkebunan nanas mampu memproduksi limbah serasah nanas (*A. comosus*) yang sangat banyak. Limbah serasah tersebut dapat menyebabkan penumpukan limbah organik yang mengganggu kesuburan lahan jika tidak terdekomposisi dengan cepat. Di dalam limbah serasah nanas mengandung komponen selulosa yang sulit untuk di degradasi, sehingga perlu adanya peran fungi selulolitik yang mampu dalam merombak selulosa dengan bantuan enzim selulase dan juga dapat digunakan untuk mempercepat proses dekomposisi limbah serasah.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi isolat fungi yang memiliki kemampuan selulolitik dalam mendegradasi senyawa selulosa yang berasal dari serasah nanas. Pada pengujian seleksi fungi selulolitik

menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan. Penelitian ini memiliki 7 parameter pengujian, yaitu uji zona jernih (halo) dan dilanjutkan dengan menghitung indeks selulolitik, penghitungan jumlah spora menggunakan *haemocytometer*, untuk mengetahui viabilitas spora dengan melakukan perhitungan CFU (*Colony Forming Unit*), karakterisasi isolat fungi meliputi pH, suhu dan herbisida serta dilakukan identifikasi isolat fungi. Data yang diperoleh dari rata-rata perhitungan indeks selulolitik dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan jika berpengaruh nyata maka dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5 %.

Hasil penelitian ini diperoleh 11 isolat fungi yang berasal dari serasah nanas, dan dari 11 isolat tersebut diperoleh 5 isolat fungi selulolitik. Isolat yang memiliki kemampuan selulolitik diantaranya berasal dari genus *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Paecilomyces*. Isolat yang memiliki kemampuan selulolitik tinggi dengan nilai indeks selulolitik sebesar 4.0 serta memiliki kemampuan dalam bertahan hidup yang tinggi pada cekaman asam, suhu 37 °C dan pada herbisida terdapat pada Bioggp 3 (*Aspergillus* sp.1).

Kata Kunci: Fungi selulolitik, serasah nanas, isolasi, karakterisasi, selulosa

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI SELULOLITIK PADA
SERASAH NANAS (*Ananas comosus*) DI PERKEBUNAN PT GREAT
GIANT PINEAPPLE (GGP) TERBANGGI BESAR LAMPUNG TENGAH**

Oleh

Niken Ayuningtyas

Skripsi

**Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi

: **ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI
SELULOLITIK PADA SERESAH NANAS (*Ananas
comosus*) DI PERKEBUNAN PT GREAT GIANT
PINEAPPLE (GGP) TERBANGGI BESAR
LAMPUNG TENGAH**

Nama Mahasiswa

: **Niken Ayuningtyas**

No. Pokok Mahasiswa: 1517021055

Jurusan

: **Biologi**

Fakultas

: **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

MENYETUJUI,

1. **Komisi Pembimbing**

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Bambang Irawan, M.Sc.

NIP 19650303 199203 1 006

Ir. Salman Farisi, M.Si.

NIP 19610418 198703 1 001

2. **Ketua Jurusan Biologi FMIPA**

Drs. M. Kanedi, M.Si.

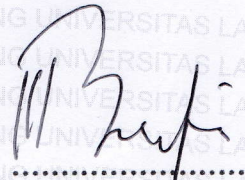
NIP 19610112 199103 1 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

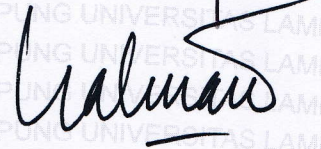
Ketua

: **Dr. Bambang Irawan, M.Sc.**



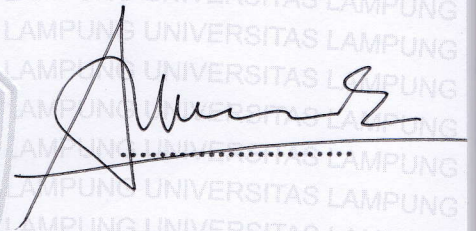
Sekretaris

: **Ir. Salman Farisi, M.Si.**



Penguji

Bukan Pembimbing : **Dr. Sumardi, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Drs. Suratman, M.Sc.

NIP. 19640604 199003 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **13 Juni 2019**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Niken Ayuningtyas
NPM : 1517021055
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

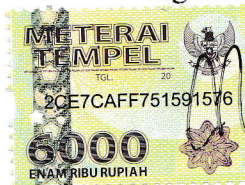
menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul:

“Isolasi dan Karakterisasi Fungi Selulolitik pada Serasah Nanas (*Ananas comosus*) di Perkebunan PT. Great Giant Pineapple (GGP) Terbanggi Besar Lampung Tengah”

baik gagasan, data, maupun pembahasannya adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku dan saya memastikan bahwa tingkat similaritas skripsi ini tidak lebih dari 20 %.

Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 13 Juni 2019
Yang menyatakan,



Niken Ayuningtyas
NPM. 1517021055

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Niken Ayuningtyas, dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 12 September 1997. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Condro Susilo, S.E. dan Ibu Daryanti.

Penulis mengawali jenjang pendidikan formal di Taman Kanak-Kanak Al-Azhar Bandar Lampung pada tahun 2002, Sekolah Dasar Swasta Al-Kautsar Bandar Lampung lulus pada tahun 2009. Sekolah Menengah Pertama Swasta Al-Kautsar Bandar Lampung lulus pada tahun 2012. Kemudian penulis melanjutkan pendidikannya di Sekolah Menengah Atas Swasta Al-Kautsar Bandar Lampung dan menyelesaikannya pada tahun 2015. Pada tahun yang sama, penulis terdaftar dan tercatat sebagai mahasiswi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswi, penulis pernah menjadi asisten praktikum Mikrobiologi Umum dan Mikologi. Pada bulan Januari-Maret tahun 2018, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Margasari, Kecamatan Labuhan Maringgai, Kabupaten Lampung Timur dan melaksanakan Praktik Kerja

Lapangan (PKL) di Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor (BBLITVET) pada bulan Juli-Agustus tahun 2018 dengan judul “**Identifikasi Cemarkan Jamur Dari Eksplan Tanaman Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*) Di Dalam Tanah BB-BIOGEN Yang Telah Diberi Anti Jamur Di Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor**”.

MOTTO

“Boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui”.

(QS. Al-Baqarah: 216)

“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain).

Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap”.

(QS. Al-Insyirah: 5-6)

“Believe in yourself and all that you are. Know that there is something inside you that is greater than any obstacle “.

(Christian D. Larson)

“Richness is not having many belongings, but richness is contentment of the soul”.

(HR. Bukhari Muslim)

“If you don’t go after what you want, you’ll never have it. And if you don’t ask, the answer is always no. Also if you don’t step forward, you’re always in the same place”.

(Nora Roberts)

PERSEMBAHAN



Alhamdulillah hirobbil'amin

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Puji syukur kepada Allah atas segala nikmat, karunia, serta ridho-Nya yang selalu dilimpahkan.

Dengan segala kerendahan hati kupersembahkan karya kecilku untuk:

Ibu dan Bapak tercinta. Terimakasih untuk segala kasih sayang yang tulus, pengorbanan luar biasa, semangat dan do'a yang tiada henti diberikan demi untuk kesuksesanku.

Para guru dan dosen. Terimakasih atas kesabaran, ketulusan dan keihklasannya dalam membimbing dan mengajariku.

Saudara dan Teman-teman yang tiada henti memberikan semangat dan motivasi serta selalu menjadi tempat sandaran di kala sedih.

Seseorang yang kelak menjadi teman hidupku di dunia dan akhirat.

Almamater Tercinta.

SANWACANA

Assalamualaikum W. W.

Alhamdulillahirobbil'alamin segala puji dan syukur bagi Allah S.W.T dengan segala rahmat, hidayah serta karunia-Nya, shalawat teriring salam penulis sampaikan kepada junjungan kita Nabi Muhammad S.A.W sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Isolasi dan Karakterisasi Fungi Selulolitik pada Serasah Nanas (*Ananas comosus*) di Perkebunan PT Great Giant Pineapple (GGP) Terbanggi Besar Lampung Tengah”**.

Dalam mengerjakan skripsi ini penulis menyadari bahwa banyak bantuan, bimbingan, saran, dukungan, serta perhatian dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tulus kepada:

1. Bapak Prof. Hasriadi Mat Akin, M. P. Selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Drs. Suratman, M. Si. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Bambang Irawan, M. Sc. selaku pembimbing I yang dengan sabar membimbing, memberikan arahan, bantuan, nasihat, ilmu dan motivasi selama proses pelaksanaan penelitian hingga penyusunan skripsi.

4. Bapak Ir. Salman Farisi, M. Si. selaku pembimbing II yang dengan sabar memberikan arahan, bantuan, nasihat, ilmu dan motivasi hingga terselesaikannya skripsi ini.
5. Bapak Dr. Sumardi, M. Si. selaku pembahas yang telah meluangkan waktu untuk memberikan kritik, saran, bantuan dan ilmu hingga terselesaikannya skripsi ini.
6. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung serta Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, nasihat dan motivasi selama penulis menuntut ilmu di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
7. Kedua orangtuaku bapak (Condro Susilo, SE.) dan ibu (Daryanti) yang aku cintai dan sayangi. Terimakasih atas nasihat, kasih sayang, dukungan, bimbingan, dan motivasi yang terus menerus diberikan untukku serta doa yang selalu mengalir setiap saat. Semoga Allah S.W.T. senantiasa selalu menyayangi, melindungi memberikan kesehatan, serta memberikan rezeki yang cukup.
8. Adikku Wiyoga Satriatama terimakasih atas dukungan, doa, semangat, dan kasih sayangnya.
9. Yayang Anas Persada, S. Si. partner yang selalu memberikan semangat, dukungan, do'a, nasihat, serta selalu sabar dalam mendengarkan segala keluh kesah penulis selama pelaksanaan penelitian hingga penyusunan skripsi.
10. Sepupuku tercinta Aliifah Narfa Tania Putri, Hanifah Pury Larasati, Tasya Gustira Aurelia, Alvin Azharisen, Muhammad Naufal Raffi, dan

Muhammad Firman terimakasih atas dukungan, doa, bantuan, serta semangat kepada penulis.

11. Sahabat sekaligus keluarga keduaku Amirah Dumasari F.H, Anggi A.T.H., Anneke Despia T. , Reyhan Kurnia Adi, Salwa Kamilah, Syfa Dinia Putri, Cahyani Intan Kesuma, Eti Purwanti, Jeany Audina .S, dan Nita Apriyani yang selalu memberikan dukungan, canda tawa, menguatkan penulis, selalu menemani, serta mendengarkan keluh kesah selama pelaksanaan penelitian hingga penyusunan skripsi.
12. Inten Wahyuningtias, Ola Apriyani Isky, dan Rachma Fadilla Haq sebagai partner selama penelitian dan pengerjaan skripsi yang selalu menemani, mendengarkan segala keluh kesah, berbagi pengetahuan dan memberikan semangat. Semoga kita semua sukses dan selalu diberikan kemudahan dalam mencapai segala keinginan dan cita-cita.
13. Teman-teman seperjuangan “Micrew 2015”, yang telah memberikan motivasi, semangat dan berbagi pengetahuan selama penulis berkuliah, hingga terselesaikannya skripsi ini.
14. Teman-teman “Kos Bu Rini” Jeany, Nita, Isni, Novia KS, Inten, Ola dan Eriola yang sempat menjadi partner hidupku di Bogor selama 35 hari. Terimakasih telah menemani, memberikan semangat, bantuan dan arahan kepada penulis.
15. Teman-teman Biologi Angkatan 2015 yang tidak dapat disebutkan satu persatu terimakasih atas kebersamaan, keakraban, canda tawa, bantuan serta dukungan selama ini yang telah kalian berikan.

16. Laboran Lab. Mikrobiologi, Ibu Oni Mastuti, S.Si. yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian hingga selesai.
17. Seluruh dosen dan staf Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu dan bantuan kepada penulis.
18. Almamater tercinta Universitas Lampung dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Allah S.W.T selalu memberikan berkah dan karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penulis. Akhir kata, penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan dan penyusunan pada skripsi ini, namun besar harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamualaikum W.W.

Bandar Lampung,

Penulis,

Niken Ayuningtyas

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	vii
RIWAYAT HIDUP	viii
MOTTO	x
PERSEMBAHAN.....	xi
SANWACANA	xii
DAFTAR ISI.....	xvi
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian.....	4
C. Manfaat Penelitian.....	4
D. Kerangka Pikir.....	5
E. Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	7

1. Klasifikasi Tanaman Nanas	7
2. Deskripsi Tanaman Nanas	7
3. Manfaat Tanaman Nanas	10
B. Serasah	10
C. Fungi.....	11
1. Deskripsi Fungi	11
2. Macam-macam Fungi.....	14
3. Syarat Pertumbuhan Fungi	16
D. Fungi Selulolitik.....	17
E. Selulosa.....	18
F. Isolasi dan Identifikasi	20
III. METODE PENELITIAN	22
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	22
B. Alat dan Bahan.....	22
C. Rancangan Penelitian.....	23
D. Prosedur Kerja	24
1. Isolasi Fungi.....	24
2. Peremajaan Isolat Fungi.....	25
3. Seleksi Fungi Penghasil Selulase	26
4. Perhitungan Jumlah Spora dan Nilai Viabilitas Spora.....	27
5. Karakterisasi Fungi Penghasil Selulase	29
6. Identifikasi Fungi Penghasil Selulase	30
E. Analisis Data	31
F. Diagram Alir Penelitian	32
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
A. Seleksi Fungi Penghasil Selulase.....	33
B. Jumlah Spora dan Nilai Viabilitas Spora Isolat Fungi.....	38
C. Karakterisasi Fungi Penghasil Selulase	41
D. Identifikasi Fungi Penghasil Selulase	45
V. KESIMPULAN DAN SARAN	55
A. Kesimpulan	55
B. Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Isolat Fungi yang Berasal dari Serasah Nanas	33
Tabel 2. Nilai Indeks Selulolitik pada Pengujian dengan Metode Teathre dan Wood (1982) menggunakan <i>congo red</i>	36
Tabel 3. Perhitungan Indeks Selulolitik	37
Tabel 4. Rata-rata Jumlah Spora dan Nilai Viabilitas Spora Isolat Fungi	39
Tabel 5. Pengaruh pH, Suhu dan Herbisida Terhadap Pertumbuhan Fungi	41
Tabel 6. Perbandingan Volume Asam Sitrat dan Natrium Sitrat	64

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Bagian-bagian Tanaman Nanas.....	8
Gambar 2. Struktur Kimia Selulosa	19
Gambar 3. Degradasi Selulosa	20
Gambar 4. Diagram Alir Penelitian	32
Gambar 5. Isolat Fungi Penghasil Selulase yang di Uji Menggunakan <i>Congo Red</i>	34
Gambar 6. Struktur Mikroskopis <i>Aspergillus</i> sp. 1 pada Isolat Bioggp 3 Perbesaran 400x dan Perbesaran 1000x	46
Gambar 7. Koloni <i>Aspergillus</i> sp. 1 pada Media Selulosa Agar.....	46
Gambar 8. Struktur Mikroskopis <i>Aspergillus</i> sp. 2 pada Isolat Bioggp 6 Perbesaran 400x dan Koloni <i>Aspergillus</i> sp. 2 pada Media Selulosa Agar	47
Gambar 9. Struktur Mikroskopis <i>Penicillium</i> sp. pada Isolat Bioggp 9 Perbesaran 400x dan Koloni <i>Penicillium</i> sp. pada Media Selulosa Agar	47
Gambar 10. Struktur Mikroskopis Isolat Bioggp 11 Perbesaran 400x	48
Gambar 11. Koloni Isolat Bioggp 11 pada Media Selulosa Agar.....	48
Gambar 12. Struktur Mikroskopis <i>Paecilomyces</i> sp. pada Isolat Bioggp 12 Perbesaran 400x dan Koloni <i>Paecilomyces</i> sp. pada Media Selulosa Agar	49
Gambar 13. Struktur Mikroskopis <i>Aspergillus tamarii</i> dan <i>Aspergillus niger</i>	52

Gambar 14. Struktur Mikroskopis <i>Penicillium</i>	53
Gambar 15. Struktur Mikroskopis <i>Paecilomyces</i>	54
Gambar 16. Isolasi Fungi	64
Gambar 17. Peremajaan Isolat Fungi	65
Gambar 18. Seleksi Fungi Penghasil Selulase	65
Gambar 19. Perhitungan Jumlah Spora	66
Gambar 20. Perhitungan Nilai Viabilitas Spora	67
Gambar 21. Karakterisasi Fungi Penghasil Selulase Terhadap Suhu	68
Gambar 22. Karakterisasi Fungi Penghasil Selulase Terhadap pH	69
Gambar 23. Karakterisasi Fungi Penghasil Selulase Terhadap Herbisida	70
Gambar 24. Identifikasi Fungi Penghasil Selulase	71
Gambar 25. Hasil Uji Negatif Zona Jernih (Halo) Isolat Bioggp 2	71
Gambar 26. Hasil Uji Positif Zona Jernih (Halo) Isolat Bioggp 3	72
Gambar 27. Hasil Uji Negatif Zona Jernih (Halo) Isolat Bioggp 4	72
Gambar 28. Hasil Uji Negatif Zona Jernih (Halo) Isolat Bioggp 5	72
Gambar 29. Hasil Uji Positif Zona Jernih (Halo) Isolat Bioggp 6	73
Gambar 30. Hasil Uji Negatif Zona Jernih (Halo) Isolat Bioggp 7	73
Gambar 31. Hasil Uji Negatif Zona Jernih (Halo) Isolat Bioggp 8	73
Gambar 32. Hasil Uji Positif Zona Jernih (Halo) Isolat Bioggp 9	74
Gambar 33. Hasil Uji Negatif Zona Jernih (Halo) Isolat Bioggp 10	74
Gambar 34. Hasil Uji Positif Zona Jernih (Halo) Isolat Bioggp 11	74
Gambar 35. Hasil Uji Positif Zona Jernih (Halo) Isolat Bioggp 12	75
Gambar 36. Hasil Uji pH yang Terdapat di Semua Isolat	78
Gambar 37. Hasil Uji Suhu yang Terdapat di Semua Isolat	79

Gambar 38. Hasil Uji Herbisida yang Terdapat di Semua Isolat	80
--	----

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

PT. Great Giant Pineapple (*GGP*) merupakan perkebunan nanas terbesar di dunia dengan luas ± 33.000 ha (Purba, 2008). Setiap pasca panen tanaman nanas akan menghasilkan banyak limbah daun nanas. Limbah nanas yang melimpah tersebut menjadi permasalahan dikarenakan penumpukan limbah organik yang dapat mengganggu keseimbangan kesuburan lahan jika tidak terdekomposisi dengan cepat. Pada limbah nanas terdapat komponen selulosa yang tidak mudah mengalami degradasi, baik secara kimia maupun mekanis karena selulosa memiliki sifat kristalin dan tidak mudah larut yang berasal dari struktur linier yang dimilikinya (Gupta, dkk., 2012), dengan begitu perlu adanya peran mikroorganisme pengurai selulosa yang terdapat di dalam limbah nanas agar limbah tersebut dapat terdekomposisi dengan cepat sehingga kesuburan lahan tidak terganggu dan penggunaan lahan untuk proses penanaman berikutnya juga menjadi tidak terhambat.

Salah satu mikroorganisme yang mampu untuk mempercepat proses dekomposisi adalah dari kelompok fungi. Fungi memiliki peran penting sebagai dekomposer dan termasuk kedalam kelompok organisme eukariotik

yang memiliki kemampuan dalam memanfaatkan nutrisi di lingkungannya. Fungi mencari sumber nutrisi paling banyak dari karbohidrat kompleks. Dengan sebelumnya penguraian karbohidrat kompleks dilakukan menggunakan enzim ekstraseluler sampai menjadi bentuk monosakarida, yang nantinya fungi dapat menyerap dan menggunakan hasil dari penguraian tersebut (Roosheroe, dkk., 2006). Fungi dianggap sebagai dekomposer selulosa yang aktif yaitu dengan menghasilkan selulase (Gautam, dkk., 2010).

Menurut Oramahi (2003) fungi yang mampu merombak selulosa dengan bantuan enzim selulase disebut dengan fungi selulolitik. Dalam hal ini, mikroba mengurai selulosa dari sisa tanaman dan organisme lain menjadi senyawa sederhana berupa glukosa, CO, dan hidrogen. Fungi selulolitik mampu untuk menghasilkan selulase yang aktif pada pH rendah. Salah satu cara untuk menyeleksi jenis fungi yang mampu menghasilkan selulase alkalin yang memiliki potensi tinggi dalam mendegradasi selulosa yaitu dengan melakukan identifikasi dan isolasi fungi dari berbagai sumber selulosa di daerah dengan pH yang rendah (Bajpai, 2010).

Pada bagian-bagian berkayu yang ada pada tanaman terdapat polimer-linier glukosa yaitu selulosa, yang merupakan pembentuk dari struktur dasar dinding sel dan bagian-bagian berkayu yang ada pada tanaman. Terdapat 50 % dari biomassa tanaman yang merupakan struktur polisakarida selulosa bersama-sama dengan hemiselulosa. Banyaknya enzim selulase yang mampu mendegradasi polimer linier glukosa dari selulosa dikarenakan

banyak pula jumlah selulosa yang ada di biosfer, hasil dari degradasi tersebut akan berguna dalam proses biokonversi selulosa menjadi produk yang bermanfaat (Gupta, dkk., 2012).

Selulosa merupakan polimer glukosa rantai lurus dari suatu selobiosa yaitu dimer dari glukosa dengan ikatan β -1.4 glukosida (Shuangqi, dkk., 2011) yang berhubungan melalui ikatan hidrogen dan gaya van der Waals (Perez, dkk., 2002). Kandungan yang terdapat dalam selulosa yaitu 50 %-90 % bagian berkristal dengan sisanya merupakan bagian amorf. Pemecahan menjadi monomer glukosa pada ikatan β -1.4 glukosida dapat dilakukan dengan cara hidrolisis asam atau enzimatis. Enzim selulase yang dihasilkan oleh mikroba mampu digunakan untuk mendegradasi selulosa dengan melakukan pendegradasi terhadap molekul selulosa yang tidak larut menjadi mono atau disakarida sederhana larut yang digunakan mikroba sebagai sumber energi. Dalam melakukan degradasi selulosa terdapat tiga komponen enzim yang bekerja secara sinergis yaitu, *endoglukanase*, *eksoglukanase*, dan β -*glukosidase* (Lyman, dkk., 1995). Terdapat beberapa kelompok fungi yang mampu dalam mendegradasi selulosa dan berperan sebagai dekomposer yaitu *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus* dan *Trichoderma*.

Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi terhadap fungi selulolitik yang berasal dari serasah nanas di perkebunan PT. Great Giant Pineapple (PT. GGP). Penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi fungi selulolitik pada serasah nanas (*Ananas comosus*) perlu dilakukan karena

melihat banyaknya manfaat yang dihasilkan terutama dalam mempercepat proses dekomposisi. Oleh karena itu, diharapkan dengan dilakukannya penelitian ini, maka akan dapat ditemukan berbagai macam isolat fungi selulolitik yang memiliki karakteristik tahan terhadap cekaman asam, pH dan herbisida serta berpotensi dalam mendegradasi senyawa selulosa yang berasal dari serasah nanas yang nanti nya mampu dalam meningkatkan kualitas kompos sehingga dapat digunakan untuk mempercepat proses dekomposisi, dan dapat dijadikan sebagai tolak ukur dasar bagi penelitian berikutnya.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi isolat fungi yang memiliki kemampuan selulolitik dalam mendegradasi senyawa selulosa yang berasal dari serasah nanas.

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai isolat fungi selulolitik yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa selulosa yang berasal dari serasah nanas di perkebunan PT. Great Giant Pineapple (*PT. GGP*) serta memiliki karakteristik tahan terhadap cekaman asam, suhu dan herbisida yang berperan untuk mempercepat proses dekomposisi serta dapat menjadi acuan bagi penelitian berikutnya.

D. Kerangka Pikir

PT. Great Giant Pineapple (PT. GGP) memiliki lahan perkebunan nanas yang cukup luas dan pada setiap pasca panen lahan perkebunan nanas mampu memproduksi limbah serasah nanas (*A. comosus*) yang sangat banyak. Limbah serasah tersebut dapat menyebabkan penumpukan limbah organik yang mengganggu kesuburan lahan jika tidak terdekomposisi dengan cepat. Di dalam limbah serasah nanas mengandung komponen selulosa yang sulit untuk di degradasi karena selulosa memiliki sifat kristalin dan tidak mudah larut yang berasal dari struktur linier yang dimiliki. Sehingga perlu adanya peran fungi selulolitik yang mampu dalam merombak selulosa dengan bantuan enzim selulase dan juga dapat digunakan untuk mempercepat proses dekomposisi limbah serasah. Fungi selulolitik mampu untuk menghasilkan selulase yang aktif pada pH rendah dengan mengisolasi fungi dari berbagai sumber selulosa. Dalam melakukan degradasi selulosa terdapat tiga komponen enzim yang bekerja secara sinergis yaitu, *endoglukanase*, *eksoglukanase*, dan β -*glukosidase*. Terdapat beberapa kelompok fungi yang mampu dalam mendegradasi selulosa dan berperan sebagai dekomposer yaitu *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Pencillium*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus* dan *Trichoderma*.

Diharapkan penelitian ini dapat memperoleh berbagai macam isolat fungi selulolitik yang memiliki karakteristik tahan terhadap cekaman asam, pH dan herbisida serta berpotensi tinggi dalam mendegradasi selulosa sehingga nantinya mampu digunakan untuk meningkatkan kualitas kompos serta mampu

dalam mempercepat proses dekomposisi dan dapat digunakan sebagai tolak ukur dasar bagi penelitian berikutnya. Terdapat berbagai macam penyeleksian fungi selulolitik pada penelitian ini, diantaranya yaitu uji zona jernih (halo) menggunakan metode *Congo Red* yang dilanjutkan dengan menghitung indeks selulolitik, perhitungan jumlah spora, menghitung viabilitas koloni fungi menggunakan CFU (*Colony Forming Unit*), karakterisasi yang meliputi pengujian pH, suhu, dan herbisida.

E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah didapatkan isolat fungi selulolitik dari serasah nanas (*Ananas comosus*) dan isolat unggulan yang mampu dalam mendegradasi senyawa selulosa yang berpotensi untuk mempercepat proses dekomposisi serta isolat yang mampu hidup pada cekaman asam, suhu dan herbisida, sehingga dapat dijadikan tolak ukur dasar bagi penelitian berikutnya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Nanas (*Ananas comosus*)

1. Klasifikasi Tanaman Nanas

Menurut Cronquist (1981) dan APG (2003) klasifikasi dari tanaman nanas adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Bangsa	: Poales
Suku	: Bromeliaceae
Marga	: <i>Ananas</i>
Jenis	: <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.

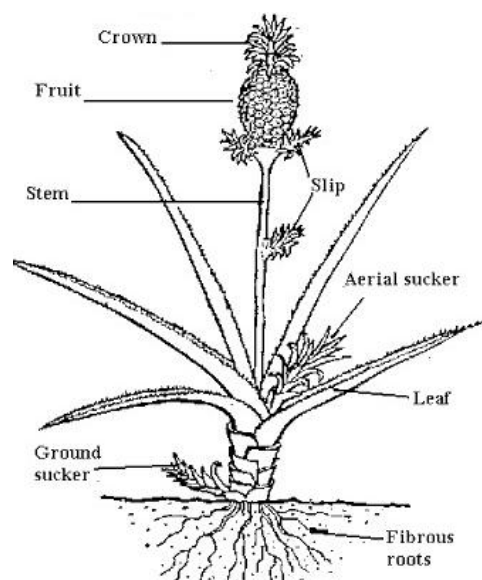
2. Deskripsi Tanaman Nanas

Nanas merupakan tanaman dari golongan kelas monokotil yang memiliki rangkaian bunga pada bagian ujung batang dengan pertumbuhan yang meluas. Tanaman nanas menggunakan tunas samping yang berkembang menjadi cabang-cabang vegetatif yang mampu untuk menghasilkan buah (Sari, 2002). Tanaman ini berasal dari Amerika dan tersebar di daerah

sekitar khatulistiwa antara 25 °LU dan °LS dan sudah banyak dibudidayakan di Indonesia dari mulai dataran rendah hingga dataran tinggi (Farid dan Handayani, 2007). Kandungan serat yang terdapat di dalam limbah nanas yaitu sebesar 57,3 % , sementara kandungan yang terdapat pada serat daun nanas yaitu terdiri dari hemiselulosa sebesar (25,95 %), lignin (7,31 %), dan selulosa (69,5-71,5 %) (Murni, dkk., 2008).

Tanaman nanas memiliki beberapa bagian yang terdiri dari batang, daun, tangkai buah (*slip*), mahkota tunas, tunas yang muncul di bagian batang di bawah permukaan tanah (*sucker*), ketiak daun yang terletak pada batang (*shoot*) dan akar.

Berikut merupakan bagian-bagian dari tanaman nanas:



Gambar 1. Bagian-bagian Tanaman Nanas (Farid dan Handayani, 2007).

Secara morfologi nanas memiliki sistem perakaran serabut yang mengarah ke arah vertikal dan horizontal. Akar tersebut memiliki kedalaman tidak lebih dari 50 meter yang terbagi menjadi akar primer dan sekunder berdasarkan dari pertumbuhannya. Pada akar primer yang hanya ditemukan dalam kecambah biji, dapat digantikan dengan akar adventif yang memiliki jumlah banyak dan muncul pada bagian pangkal batang. Dari akar primer, kemudian akan membentuk cabang menjadi akar sekunder yang berfungsi untuk memperkuat akar dan memperluas penyerapan unsur hara (Samson, 1980).

Batang nanas memiliki ukuran yang pendek yaitu antara 20-25 cm dan berdiameter 2-3,5 cm. Bagian batang nanas tidak dapat dilihat secara jelas melainkan dengan membuka satu persatu pada bagian daun. Ruas yang dimiliki batang nanas yaitu berkisar antara 1-10 cm. Batang tersebut berfungsi sebagai tempat melekatnya akar, daun, bunga, buah dan tunas (Irfandi, 2005).

Nanas memiliki bentuk daun seperti pedang, beralur, agak kaku dan tidak memiliki tulang daun. Pada bagian daun tersebut terdapat duri tajam yang tumbuh, tetapi terdapat pula duri yang tumbuh hanya di bagian ujung daun ataupun duri yang tidak tumbuh sama sekali (Surtiningsih, 2008).

3. Manfaat Tanaman Nanas

Tanaman nanas dapat dimanfaatkan sebagai adsorben limbah logam berat terutama pada bagian daun nanas yang mengandung selulosa tinggi.

Struktur rongga yang dimiliki oleh selulosa mampu dalam mengadsorpsi logam berat seperti Cu dan Ag (Handayani, 2010). Menurut pernyataan dari Giyatmi, dkk. (2008) kadar Cu dan Ag sudah melampaui batas normal, sehingga berakibat terjadinya pencemaran tanah karena limbah yang berlebih tersebut mampu untuk meresap kedalam tanah.

Pencemaran limbah logam berat pun dapat meluas hingga mempengaruhi kualitas air dan dapat berbahaya bagi manusia. Selain itu, pada limbah industri nanas dapat digunakan sebagai pupuk padat yang diletakkan pada penanaman nanas berikutnya dan secara perlahan akan mengalami proses dekomposisi (Rosyidah, 2011).

B. Serasah

Serasah merupakan bahan organik yang secara alami dihasilkan oleh tanaman yang berasal dari organ tanaman pada bagian bunga, daun, buah, dan bagian lain yang menginput bahan material organik serta aliran energi (Chairul, dkk., 2010). Menurut Aprianis (2011) letak serasah yaitu berada di atas permukaan tanah yang terdiri dari bahan-bahan yang telah mati. Serasah berperan penting bagi tanah dan mikroorganisme yang hidup didalamnya. Serasah akan menghasilkan hara yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman secara langsung setelah melalui proses dekomposisi.

Laju dekomposisi dan laju produksi mempengaruhi proses penyuburan tanah dan tanaman. Selain itu, penambahan hara ke dalam tanah ditentukan oleh komposisi serasah.

Proses mineralisasi merupakan perubahan senyawa-senyawa anorganik sederhana yang berasal dari hewan dan tumbuhan melalui proses penguraian bahan organik (Sutedjo, dkk., 1991). Menurut Vos, dkk. (2013) pada proses dekomposisi serasah melibatkan peran mikroorganisme tanah seperti fungi, bakteri, dan hewan tanah lainnya. Dekomposisi serasah sangat penting terutama perannya dalam siklus karbon dan nutrisi. Perolehan nutrisi tersebut merupakan proses awal yang terdapat di dalam siklus nutrisi. Faktor yang menyebabkan terjadinya dekomposisi serasah yaitu faktor kimia, faktor fisik, mikrofauna dan makro serta habitat (Kumar dan Tewari, 2014). Komposisi selulosa yang berasal dari limbah serasah berupa dedaunan dan ranting yaitu sebesar 45 % dari berat kering bahan, sedangkan hemiselulosa sebesar 20-30 % dan sisanya yaitu berupa lignin (Perez, dkk., 2002).

C. Fungi

1. Deskripsi Fungi

Fungi merupakan organisme eukariotik yang tidak memiliki klorofil, memiliki dinding sel yang mengandung kitin dan dinding sel tersebut berperan dalam menyerap nutrisi, fungi bereproduksi secara seksual dan aseksual, bersifat heterotrof, tumbuh sebagai hifa, serta spora pada fungi

mampu untuk mengekskresikan enzim-enzim ekstraseluler ke lingkungannya (Roosheroe, dkk., 2006). Dwidjoseputro (1978) menyatakan bahwa fungi tidak memiliki klorofil dan bersifat heterotrof sehingga hidupnya ialah dengan mengambil nutrisi ataupun zat-zat yang sudah dibuat oleh organisme lain. Namun, fungi tidak dapat menelan makanannya sendiri, melainkan dengan cara mengabsorpsi nutrisi yang berasal dari lingkungan di luar tubuh. Fungi mengekskresikan enzim-enzim hidrolitik ke lingkungan sekelilingnya dengan memecah molekul kompleks menjadi senyawa organik yang lebih sederhana sehingga fungi mampu untuk menggunakan dan menyerap senyawa tersebut ke dalam tubuh. Fungi juga mampu untuk menyerap nutrisi yang berasal dari sel tanaman yaitu dengan menembus dinding sel tanaman (Campbell, dkk., 2008). Fungi berkembang biak secara generatif yaitu melalui perkawinan oleh dua hifa yang berbeda dan berkembang biak secara vegetatif yaitu dengan cara fragmentasi, membelah diri, bertunas, dan konidiospora (Yudianto, 1992).

Bagian dari tubuh fungi yang sangat penting yaitu hifa. Hifa memiliki bentuk menyerupai benang panjang dan bercabang-cabang. Sekumpulan dari hifa dan tumbuh bercabang-cabang disebut dengan miselium. Terdapat 2 tipe hifa pada fungi yaitu hifa fertil yang umumnya tegak pada miselium yang ada di permukaan substrat dan berperan untuk reproduksi serta hifa vegetatif yang memiliki pertumbuhan ke dalam substrat dan berfungsi untuk mengabsorpsi nutrisi. Pada beberapa spesies, dapat ditemukan hifa yang tumbuh ke atas dan disebut dengan hifa udara,

misalnya pada beberapa spesies *Penicillium* sp. Pembentukan stolon (umumnya panjang), misalnya terdapat pada *Rhizopus* sp. dan *Mucor* sp.

Berdasarkan morfologi hifa secara mikroskopis dapat dibedakan menjadi 2, yaitu hifa bersekat dan tidak bersekat. Fungi yang memiliki hifa bersekat antara lain *Aspergillus oryzae*, *Curvularia lunata*, *Penicillium italicum*, dan sebagainya. Fungi yang memiliki hifa tidak bersekat antara lain *Mucor* sp, *Rhizopus* sp., *Absidia* sp., *Syncephalastrum* sp. dan sebagainya. Fungi memiliki beberapa tipe spora aseksual yaitu konidium pada spesies anamorf antara lain *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Curvularia* sp., *Trichoderma* sp. Pada blastospora yaitu fungi spesies *Saccharomyces cerevisiae*, artospora yaitu fungi spesies *Geotrichum candidum*, dan sporangiospora yaitu fungi spesies *Rhizopus* sp., *Mucor* sp. (Roosheroe, dkk., 2006).

Menurut Sumarsih (2003) terdapat 3 sifat fungi yaitu sebagai berikut:

a. Saprofit

Fungi saprofit mengeluarkan enzim hidrolase pada substrat tempat dimana melakukan penyerapan nutrisi dari organisme yang telah mati, untuk kemudian molekul kompleks mengalami dekomposisi menjadi molekul sederhana yang mudah diserap oleh hifa.

b. Parasit fakultatif

Parasit fakultatif merupakan fungi yang bersifat sebagai parasit jika berada pada inang yang sesuai, namun bersifat sebagai saprofit jika tidak berada pada inang yang sesuai.

c. Parasit obligat

Pada sifat ini, fungi hanya mampu hidup jika berada pada inangnya dan akan mati jika berada di luar inangnya.

2. Macam- macam Fungi

Fungi dapat dibedakan menjadi beberapa kelompok jika dilihat dari morfologi hifa, tipe spora dan siklus seksualnya (McKane dan Kandel, 1996).

Berikut merupakan penjelasan dari macam-macam fungi:

a. Ascomycetes

Pada kelompok jamur ascomycetes memiliki spora yang berada di dalam kantung disebut dengan askus. Askus merupakan sel yang membesar dan terdapat spora di dalamnya yang disebut askospora. Ascomycetes memiliki stadium konidium (seksual) dan stadium askus (aseksual), bersifat mikroskopis dan beberapa bersifat makroskopis yang memiliki tubuh buah (Landecker dan Moore, 1982).

b. Basidiomycetes

Anggota dari basidiomycetes terdiri dari jamur payung, cendawan berbentuk bola dan cendawan. Miselium primer ialah basidiospors yang terlepas dari cendawan menyebar dan berkecambah menjadi hifa vegetatif, sementara miselium sekunder berkembang biak dengan cara khusus. Miselium tersier merupakan bentukan dari

miselium sekunder yang membentuk jaringan teratur serta membentuk basidiokarp dan basidiofor (Dwidjoseputro, 1978).

c. Deuteromycetes

Jamur ini memiliki hifa bersekat yang menghasilkan konidia (Dwidjoseputro, 1978). Roosheroe, dkk.(2006) deuteromycetes disebut fungi tidak sempurna, tetapi pengelompokan tersebut tidak bersifat sementara karena pada reproduksi generatifnya diketahui terdapat pembentukan askus dan dikelompokkan ke dalam ascomycetes. Secara filogenetik deuteromycetes bukan termasuk ke dalam kelompok taksonomi.

d. Oomycetes

Oomycetes hidup sebagai saprofit dan parasit. Miselium pada jamur ini terdiri atas hifa tidak bersekat, bercabang, serta banyak mengandung inti. Memiliki perkembangbiakan secara seksual yaitu dengan oospora dan secara aseksual yaitu dengan zoospora (Alexopoulos dan Mims, 1979).

e. Zygomycetes

Anggota dari zygomycetes memiliki hifa tidak bersekat dan terdapat banyak inti (hifa senositik). Hifa senositik akan membentuk zigospora melalui konjugasi dengan hifa lain. Jamur ini hidup sebagai saprofit yang berkembang biak secara seksual yaitu dengan zigospora dan secara aseksual yaitu dengan spora.

Pembentukan individu baru terjadi ketika sporangium pecah, lalu spangiospora tersebar, kemudian jatuh pada medium yang cocok (Landecker dan Moore, 1982).

3. Syarat Pertumbuhan Fungi

Fungi memiliki beberapa persyaratan untuk pertumbuhannya yaitu, suhu, cahaya, kelembapan, substrat, pH, dan senyawa kimia yang ada di lingkungan hidupnya (Roosheroe, dkk., 2006).

Berikut adalah syarat untuk pertumbuhan fungi:

a. Cahaya

Pada umumnya cahaya menjadi faktor penghambat terhadap pembentukan struktur alat reproduksi dan spora. Dalam proses reproduksi hanya sebagian fase saja yang memerlukan cahaya. Perbedaan tingkat perkembangan memerlukan sinar yang berbeda pula. Besarnya pengaruh cahaya terhadap jamur ditentukan oleh kualitas cahaya, intensitas serta durasi (Purdy, 1956).

b. Kelembapan

Jamur tingkat rendah mampu hidup dalam kelembapan 90 %, sementara dari jenis hypomycetes mampu hidup dalam kelembapan 80 % (Santoso, dkk., 1999).

c. pH

pH atau derajat keasaman sangat penting bagi pertumbuhan fungi, karena penguraian yang dilakukan oleh enzim di suatu substrat

sesuai dengan pH tertentu. Fungi biasanya hidup di lingkungan dengan pH dibawah 7,0 tetapi pada jenis khamir akan dapat hidup pada pH 4,5-5,5 (Roosheroe, dkk., 2006).

d. Substrat

Sumber nutrisi utama fungi yaitu substrat. Fungi memanfaatkan nutrisi tersebut setelah eksresi enzim ekstraseluler yang mampu mengurai senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dilakukan. Adapun beberapa jenis enzim yang mampu dieksresikan dan dilakukan penguraian karbohidrat kompleks oleh fungi yaitu selulase, xylanase, pectinase, amilase, dextranase, dan chitinase. (Garraway dan Watkinson, 1984).

e. Suhu

Secara umum fungi mampu tumbuh pada suhu sekitar 25 °C-30 °C. Beberapa fungi mampu tumbuh pada suhu lemari es tetapi terdapat pula fungi yang tumbuh pada suhu -5 °C sampai -10 °C atau biasa disebut dengan fungi psikrotrofik (Roosheroe, dkk., 2006).

D. Fungi Selulolitik

Fungi selulolitik merupakan mikroba yang mampu merombak selulosa dengan bantuan enzim selulase. Dalam hal ini, mikroba mengurai selulosa dari sisa tanaman dan organisme lain menjadi senyawa sederhana berupa glukosa, CO₂, dan hidrogen (Oramahi, dkk., 2003). Menurut Gautam, dkk. (2010) fungi merupakan penghasil selulase yang paling utama dan sebagai

dekomposer selulosa yang lebih aktif. Pengomposan pada limbah organik menjadi lebih efektif dikarenakan terdapat mikroba selulolitik yang mampu menghasilkan aktivitas selulase yang tinggi. Adapun salah satu mikroba yang mampu menghasilkan enzim selulase yaitu *Trichoderma* sp. sehingga fungi ini sering dinamakan sebagai fungi selulolitik sejati (Salma dan Gunarto, 1999). Gilbert dan Hazlewood (1993) menyatakan bahwa *Trichoderma* sp. memiliki aktivitas enzim lebih besar dibandingkan dengan bakteri, meskipun dalam memproduksi selulosa, bakteri hanya memerlukan waktu yang lebih singkat.

E. Selulosa

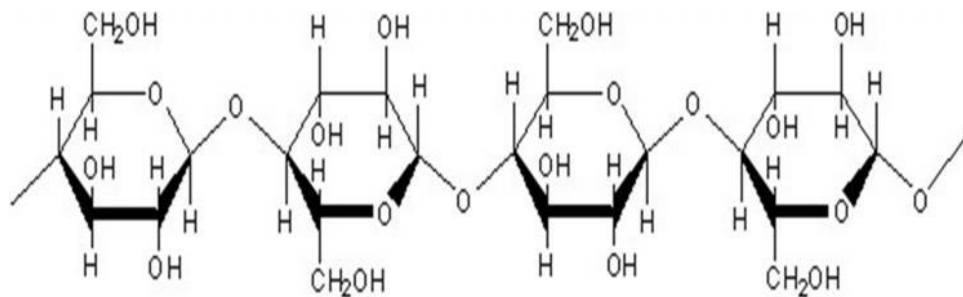
Selulosa terdapat pada dinding sel tanaman yang berperan dalam memperkuat struktur tanaman dan termasuk ke dalam senyawa organik (Yuniar, 2013). Selulosa merupakan polimer glukosa yang membentuk rantai linier dan dihubungkan oleh ikatan β -1.4 glukosida. Selulosa memiliki struktur kimia yang membentuk rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)_n$ yang terdiri dari unsur C, O, H dengan ikatan hidrogen yang sangat kuat sehingga tidak mudah untuk didegradasi (Pikukuh, 2011). Plackett (2011) menyatakan bahwa Selulosa terdiri dari ribuan unit glukosa yang terhubung dan membentuk struktur kristal yang dihubungkan dengan ikatan hidrogen sehingga memiliki kekuatan yang tinggi. Pembentukan serat berasal dari satu fibril selulosa yang saling berikatan membentuk mikrofibril. Gugus hidroksil (OH), dapat berinteraksi dengan gugus -S, -O, dan -N membentuk ikatan hidrogen yang

mempengaruhi reaktivitas serta sifat selulosa. Selulosa dapat bersifat hidrofilik jika gugus -OH berikatan dengan gugus -H pada air.

Menurut Anggarawati (2012) terdapat beberapa mikroorganisme yang dapat memproduksi enzim selulase yaitu, fungi, bakteri dan protozoa, tetapi diantara semuanya fungi merupakan penghasil selulase yang paling utama karena fungi mampu untuk memotong ikatan β -1.4 glukosidik yang ada pada selulosa.

Mikroorganisme selulolitik memperoleh energi dan karbon dari hasil pengeluaran enzim selulase yang mendegradasi selulosa menjadi senyawa C sederhana (Salma dan Gunarto, 2007). Dalam melakukan degradasi selulosa terdapat tiga komponen enzim yang bekerja secara sinergis yaitu, *endoglukanase*, *eksoglukanase*, dan β -glukosidase (Lymar, dkk., 1995).

Menurut Lehninger (1975) struktur kimia dari selulosa dan degradasi selulosa menjadi glukosa adalah sebagai berikut:



Gambar 2. Struktur Kimia Selulosa (Lehninger, 1975).

bakteri. Tetapi, pertumbuhan bakteri tersebut dapat dihambat dengan memberikan antibiotik kloramfenikol 100 mg/l sebelum sterilisasi (Roosheroe, dkk., 2006).

Identifikasi fungi pada tingkat genus dapat dilakukan dengan melihat sifat-sifat dari morfologinya, sementara pada tingkat spesies diperlukan data sifat fisiologi dan atau biokimia. Berikut merupakan beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam proses identifikasi fungi yaitu:

- a. Makroskopis, yaitu dengan melihat warna dan permukaan koloni , ada tidaknya garis-garis radial dari pusat koloni ke arah tepi koloni serta lingkaran-lingkaran konsentris.
- b. Mikroskopis, yaitu dengan melihat tipe hifa (bersekat atau tidak), spora aseksual berbentuk sederhana (arthospora, blastospora, klamidospora) dan berbentuk lebih khusus, hifa berbentuk spiral/bernodul, atau memiliki rhizoid, ukuran spora aseksual dan sebagainya (Gandjar, dkk., 1999).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2018 sampai dengan bulan Maret 2019. Pengambilan serasah nanas dilakukan di PT. Great Giant Pineapple (GGP), Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung. Isolasi dan karakterisasi fungi selulolitik dari serasah nanas dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf yang digunakan untuk sterilisasi basah bertekanan uap pada alat dan media, *oven* yang digunakan untuk sterilisasi kering, timbangan, *hot plate* dan *magnetic stirrer* yang digunakan untuk mengaduk media serta memanaskan media, jarum ose yang digunakan untuk mengambil biakan fungi, *laminar air flow*, inkubator, kulkas, labu erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, tabung reaksi, *vortex mixer*, *beaker glass*, pipet tetes, pipet volumetri, *object glass*, *cover glass*, *haemocytometer*, drigalski,

mikroskop, mikropipet, mikrotip, bunsen, rak tabung reaksi, alat tulis, dan gunting.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serasah nanas, *Potato Dextrose Agar (PDA)* racik dengan komposisi: kentang, dextrose 2 %, agar, *aquadest*, *Carboxymethyl Cellulose (CMC)* 2 %, air steril, *congo red* 0,1 %, alkohol 70 %, spiritus, dextrose 2 %, NaCl 1M, *lactophenol*, buffer sitrat (pH 3-5), herbisida 1 %, kloramfenikol, sumbat, tisu, dan plastik wrap.

C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini diawali dengan melakukan isolasi fungi yang berasal dari substrat serasah campuran daun dan tanah yang diambil menggunakan Metode *pourposive sampling*. Pengambilan bahan substrat organik sumber isolat fungi dilakukan di lokasi yang terdapat serasah baru dan serasah lama (sudah terdekomposisi sebagian dan berwarna kecoklatan atau kehitaman).

Isolat fungi yang telah diperoleh selanjutnya diseleksi dengan melakukan pengujian kualitatif terhadap kemampuan selulolitik. Seleksi fungi selulolitik mengikuti modifikasi metode dari Teathre dan Wood (1982) yaitu pengujian dengan menggunakan *congo red* yaitu dengan membuat media 2 lapis (*bilayer*) yang terdiri dari lapisan bawah merupakan media PDA 1/5 resep komposisi: 40 gram kentang, 4 gram dextrose, 62,5 miligram kloramfenikol, 15 gram agar, 1 liter *aquadest*. Lapisan atas merupakan media uji yang terdiri dari CMC dan agar. Isolat yang memiliki kemampuan tertinggi kemudian ditetapkan dengan menggunakan hasil rata-rata nilai seleksi.

Pada pengujian seleksi fungi selulolitik menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan membuat tiga kali ulangan dan dilakukan pengujian setelah 2-4 hari. Penelitian ini memiliki 7 parameter pengujian, yaitu uji zona jernih (halo) untuk mendeteksi adanya fungi selulolitik yang mendegradasi selulosa di media agar dan dilanjutkan dengan menghitung indeks selulolitik, penghitungan jumlah spora dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer*. Untuk mengetahui viabilitas isolat dengan melakukan perhitungan CFU (*Colony Forming Unit*). Karakterisasi fungi meliputi pengujian pH, suhu, dan herbisida serta dilakukan identifikasi fungi.

D. Prosedur Kerja

Prosedur kerja yang dilakukan dalam penelitian ini akan dijelaskan pada poin berikut:

1. Isolasi Fungi

Proses isolasi diawali dengan menggunakan bahan seresah campuran daun dan tanah yang diambil dari perkebunan nanas PT. GGP Terbanggi Besar, Lampung Tengah. Isolasi dilakukan dengan menggunakan metode dari Malloch dan Hobbie (1981) yang meliputi metode teknik isolasi langsung yaitu dengan *moist chamber method*. Metode tersebut memungkinkan semua isolat yang diinginkan untuk dapat tumbuh serta dapat memperoleh kelompok fungi yang mengalami pertumbuhan lambat, namun penggunaan *moist chamber method* membutuhkan waktu yang lama yaitu sekitar 2-3 minggu atau sampai tidak terlihat adanya pertumbuhan dari koloni baru.

Moist chamber method diawali dengan pemotongan terhadap spesimen campuran seresah yang dipotong kecil dengan ukuran ± 2 cm dan direndam selama semalaman di dalam air steril. Pengamatan dilakukan setiap hari, setiap fungi yang muncul diambil sporanya dengan menggunakan jarum ose yang disentuhkan pada spora jamur dan dipindahkan pada media PDA sampai diperoleh kultur murni (Gambar 16). Keseluruhan isolat fungi yang didapatkan kemudian diberi kode dan dilakukan pengamatan morfologinya agar tidak ditemukan isolat yang sama yang akan dipakai. Kemudian dibuat stok pada agar miring terhadap isolat yang diperoleh untuk keperluan berikutnya.

2. Peremajaan Isolat Fungi

Media PDA yang dibuat dengan modifikasi dari metode Malloch dan Hobbie (1981) digunakan untuk peremajaan fungi. Komposisi dari media PDA tersebut yaitu terdiri dari 200 gram kentang, 20 gram dextrose, dan 15 gram agar yang dilarutkan kedalam 1000 ml *aquadest*. Media PDA steril dituang kedalam cawan petri sebanyak 15-20 ml dan media tersebut dibiarkan hingga memadat. Satu ose biakan fungi diinokulasikan secara aseptik dan diletakkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media PDA. Inkubasi dilakukan selama 5-7 hari (Gambar 17).

3. Seleksi Fungi Penghasil Selulase

Seleksi dilakukan secara kualitatif untuk memilih calon isolat unggulan dan untuk memilih fungi penghasil selulase yang dilakukan dengan modifikasi metode dari Teathre dan Wood (1982) yaitu pengujian dengan menggunakan *congo red*. Isolat yang diperoleh kemudian dikulturkan pada media yang mengandung selulosa yaitu dengan menggunakan media 2 lapis (*bilayer*) yang sekaligus digunakan untuk pengujian zona jernih (halo). Komposisi dari media 2 lapis tersebut yaitu terdiri dari lapisan bawah berupa PDA racik 1/5 resep (40 gram kentang + dextrose 2 % + 15 gram agar + 1000 ml *aquadest*) serta lapisan atas terdiri dari *Carboxymethyl Cellulose (CMC)* 2 % , agar 15 gram, dan *aquadest* 1000 ml. Setelah itu fungi diinokulasikan di bagian tengah di dalam cawan petri yang telah berisi media, lalu diinkubasi selama 3-5 hari. Setelah inkubasi kemudian dilakukan pengujian zona jernih dengan menggunakan 0.1 % *congo red* yang ditambahkan ke dalam cawan petri dan didiamkan selama 20 menit pada suhu ruang. Kemudian media direndam dengan NaCl 1M (jika perlu didiamkan semalaman) (Gambar 18).

Pembentukan zona jernih (halo) disekitar koloni akan terlihat sebagai indikasi bahwa isolat tersebut menghasilkan enzim selulase yang mampu dalam mendegradasi selulosa di media agar. Penggunaan *congo red* merupakan metode yang sensitif dan cepat untuk mendeteksi fungi selulolitik, serta penggunaan *congo red* juga dapat digunakan sebagai indikator terjadinya degradasi selulosa di media agar. Isolat yang

menunjukkan hasil uji positif, dengan melihat dari adanya zona jernih tersebut kemudian digunakan untuk uji berikutnya.

Perhitungan nilai kapasitas hidrolisis ((hydrolysis capacity (HC)) dapat dilihat dari kemampuan potensial isolat selulolitik yang diestimasi secara kualitatif yaitu dengan menghitung rasio diameter zona jernih dan koloninya (Hendricks, dkk., 1995).

$$\text{Indeks Selulolitik} = \frac{\text{luas zona jernih total}}{\text{luas zona koloni}}$$

4. Perhitungan Jumlah Spora dan Nilai Viabilitas Spora

Perhitungan jumlah spora dan nilai viabilitas dilakukan pada isolat fungi yang telah berumur 14 hari menggunakan modifikasi metode dari Prescott (2002). Pengambilan spora dilakukan dengan cara dikerok menggunakan drigalski di dalam cawan petri berisi isolat fungi dan telah ditambahkan *aquadest* steril sehingga didapatkan suspensi spora. Pengenceran dilakukan dengan diambil sebanyak 1 ml suspensi dan dimasukkan ke dalam 9 ml *aquadest* steril untuk mendapatkan dilusi 10^{-1} selanjutnya dihomogenkan suspensi tersebut dengan menggunakan *vortex mixer* agar diperoleh sebaran spora yang merata (Malloch dan Hobbie, 1981). Suspensi spora diambil sebanyak 1 ml dari dilusi 10^{-1} dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kedua berisi 9 ml *aquadest* steril sehingga didapatkan dilusi 10^{-2} . Kemudian sebanyak 1-3 tetes dari dilusi 10^{-2} diambil dengan menggunakan pipet tetes, lalu diletakkan di atas *haemocytometer* dan ditutup menggunakan *cover glass* (Prescott, 2002).

Pengamatan *haemocytometer* dilakukan dibawah mikroskop dengan mengatur perbesaran lensa objektif hingga didapatkan perbesaran yang sesuai (Gambar 19).

Perhitungan jumlah spora menggunakan rumus Gabriel dan Riyanto (1989) yaitu sebagai berikut:

$$S = \frac{t \cdot d}{n \cdot 0.25} \times 10^6$$

Keterangan :

S : Jumlah spora/ml

t : Jumlah total spora dalam kotak sampel yang diamati

d : Tingkat pengenceran

n : Jumlah kotak yang diamati

0,25 : Faktor koreksi penggunaan kotak sampel skala kecil pada *Haemocytometer*

Untuk mengetahui viabilitas spora dilakukan perhitungan CFU (*Colony Forming Unit*). Perhitungan CFU dilakukan dengan cara sebanyak 1 ml suspensi diambil dan dimasukkan ke dalam 9 ml *aquadest* steril untuk mendapatkan dilusi 10^{-1} dan dilakukan pengenceran hingga 10^{-7} , sama seperti yang dilakukan pada perhitungan jumlah spora. Setelah itu, hasil dari pengenceran di-*plating* dengan cara sebanyak 1 ml suspensi diambil dari dilusi untuk membuat biakan 10^{-7} yang dimasukkan ke dalam cawan petri berisi media PDA yang dibuat dalam 2 cawan terpisah (duplo) dan digunakan metode *pour-plate technique*. Inkubasi terhadap fungi dilakukan selama 3-5 hari (Gambar 20). Perhitungan koloni secara kuantitatif dilakukan dengan metode *plate count* untuk melihat gambaran tingkat viabilitas spora.

Berikut rumus yang digunakan menurut Prescott (2002) untuk perhitungan jumlah koloni per gram bahan:

$$\text{Jumlah koloni per gram bahan} = \frac{\text{Jumlah Koloni}}{\text{Faktor Perngenceran}} \text{ CFU}$$

5. Karakterisasi Fungi Penghasil Selulase

Isolat yang menunjukkan hasil uji positif kemudian dikarakterisasi dengan dilakukan pengujian suhu, pH dan herbisida sebagai berikut:

a. Suhu

Pada pengujian ini menggunakan variasi suhu yaitu 30 °C, 35 °C dan 37 °C dengan menggunakan media selektif (50 gram kentang, CMC 2%, dextrose 2 %, 3,75 gram agar dan 250 ml *aquadest*). Fungi diinokulasikan dengan 3 kali ulangan ke dalam cawan petri yang sudah berisi media tersebut kemudian diinkubasi selama 7 hari (Gambar 21).

b. pH

Pada pengujian ini menggunakan variasi pH yaitu pH 3, pH 4 dan pH 5 dengan menggunakan campuran media selektif (50 gram kentang, CMC 2 %, dextrose 2 %, 50 ml *aquadest*), agar (3,75 gram agar dan 50 ml *aquadest*) serta 50 ml larutan buffer sitrat. Pembuatan larutan buffer sitrat dengan pH yang digunakan yaitu pH 3, 4 dan 5 yang menggunakan perbandingan campuran larutan asam sitrat dan natrium sitrat (Tabel 6). Apabila pH larutan belum sesuai maka ditambahkan dengan NaOH atau HCL. Selanjutnya fungi diinokulasikan dengan 3

kali ulangan ke dalam cawan petri yang sudah berisi media tersebut kemudian diinkubasi selama 7 hari (Gambar 22)..

c. Herbisida

Herbisida yang digunakan yaitu diuron dan ametrin dengan penggunaan konsentrasi sebanyak 1 %. Media yang digunakan merupakan campuran dari media selektif (50 gram kentang, CMC 2 %, dextrose 2 %, 3,75 gram agar dan 250 ml *aquadest*) dengan herbisida 1 %. Fungi diinokulasikan dengan 3 kali ulangan ke dalam cawan petri yang sudah berisi media tersebut kemudian diinkubasi selama 7 hari (Gambar 23).

6. Identifikasi Fungi Penghasil Selulase

Proses identifikasi dilakukan dengan pengamatan secara mikroskopis dan makroskopis. Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan melihat warna koloni dan permukaan koloni. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan menggunakan metode Malloch dan Hobbie (1981) yang dibuat pada *slide culture*. Cawan petri yang di dalamnya terdapat kertas filter lembab, batang penahan steril, dan object glass steril disiapkan. Kemudian medium agar berukuran 1 cm² diletakkan kedalam cawan petri secara aseptik yang diletakkan diatas *object glass* , isolat fungi diinokulasikan pada bagian tepi media agar, lalu ditutup dengan *cover glass* steril. Inkubasi dilakukan selama 3-5 hari, setelah itu dilakukan pengamatan dibawah mikroskop (Gambar 24).

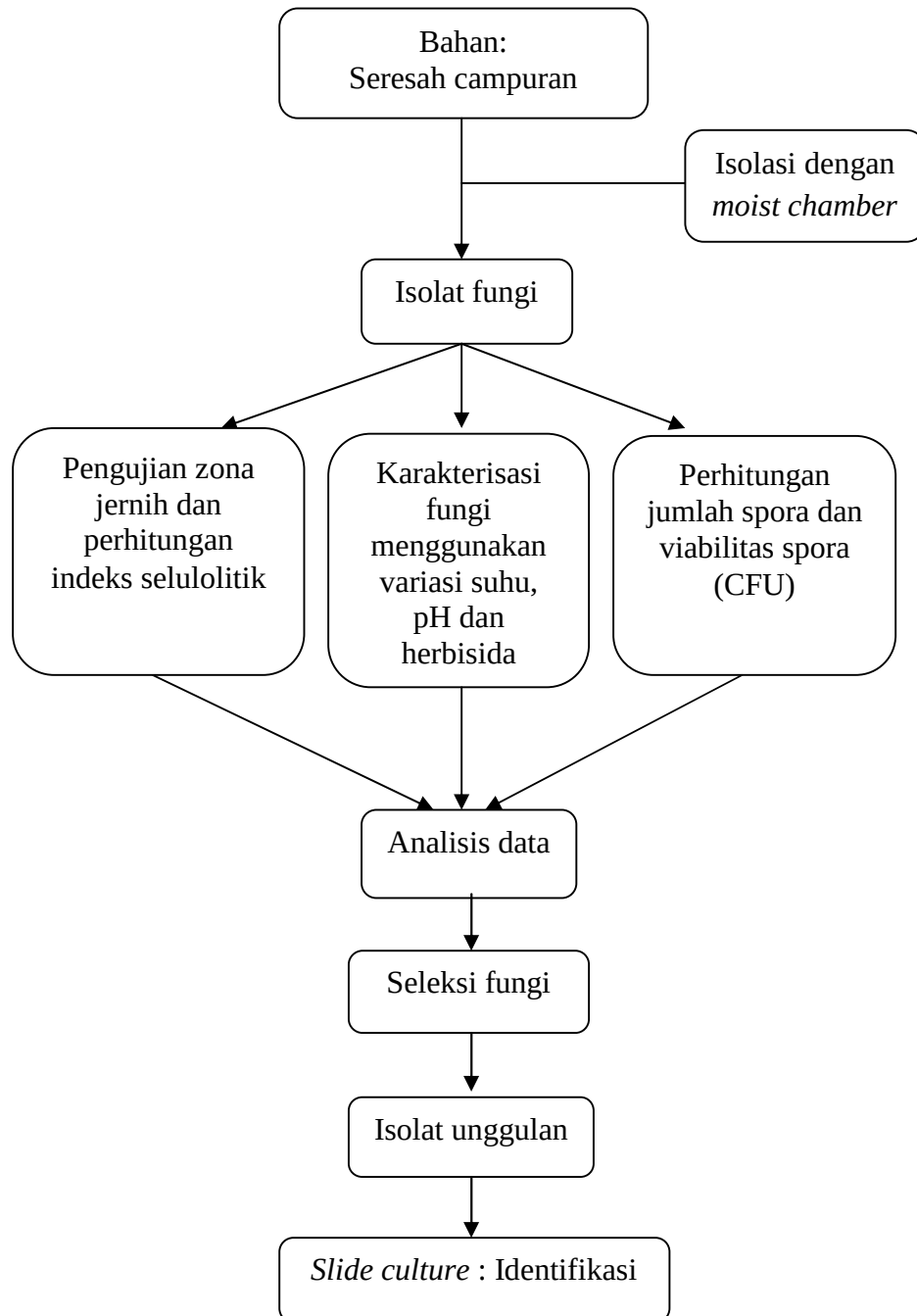
Identifikasi dilakukan dengan melihat morfologi isolat fungi berdasarkan kunci identifikasi dan dibandingkan dengan acuan buku yang berjudul *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* 4th Edition (Barnett dan Hunter, 1998); *Moulds (Their Isolation, Cultivation, and Identification)* (Malloch, 1981) dan *Pengenalan Kapang Tropik Umum* (Gandjar, dkk., 1999).

E. Analisis Data

Eksperimen dirancang menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan. Data yang diperoleh dari rata-rata perhitungan indeks selulolitik dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan jika berpengaruh nyata maka akan dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5 %.

F. Diagram Alir Penelitian

Tahapan penelitian dapat dilihat pada diagram alir berikut:



Gambar 4. Diagram Alir Penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa diperoleh 11 isolat fungi yang berasal dari serasah nanas. Dari 11 isolat tersebut diperoleh 5 isolat fungi selulolitik. Isolat yang memiliki kemampuan selulolitik diantaranya berasal dari genus *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Paecilomyces*. Isolat yang memiliki kemampuan selulolitik tinggi dengan nilai indeks selulolitik sebesar 4.0 serta memiliki kemampuan dalam bertahan hidup yang tinggi pada cekaman asam, suhu 37 °C dan pada herbisida terdapat pada Bioggp 3 (*Aspergillus* sp.1).

B. Saran

Disarankan adanya pembuatan inokulum dan pengaplikasian pada setiap fungi penghasil selulase untuk mengetahui kualitas masing-masing isolat terhadap kompos serasah.

DAFTAR PUSTAKA

- Abou-Taleb, K. A. A., W. A. Mashhoor, S. A. Nasr, M. S. Sharaf, dan H. H. M. Abdel-Azeem. 2009. Nutritional and Environmental Factors Affecting Cellulase Production by Two Strains of Cellulolytic Bacili. *AJBAS*.3(3): 2429-2436.
- Alexopoulos, C. J. dan C. W. Mims. 1979. *Introductory Mycology*. Third Edition. John Wiley and Sons, Inc. Canada.
- Ananda, S. 2009. Pengaruh Suhu, Kaporit dan pH Terhadap Pertumbuhan Cendawan Entomopatogen Transgenik *Aspergillus niger*-GFP dan Patogenisitasnya pada Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anggarawati, D. 2012. Aktivitas Enzim Selulosa Isolat SGS 2609 BBP4B-KP Menggunakan Substrat Limbah Pengolahan Rumput Laut yang Dipretreatment Dengan Asam. *Skripsi*. Fakultas Teknik Program Studi Teknologi Bioproses. Universitas Indonesia. Jakarta.
- A.P.G. (Angiosperm Phylogeny Group). 2003. An update of Angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399 -349.
- Aprianis, Y. 2011. Produksi dan Laju Dekomposisi Serasah *Acacia crasscarpa* A. Cunn. di PT Arara Abadi. Riau. *Jurnal Tekno Hutan Tanaman*. 4 (1): 41-47.
- Artikasari, W. 2018. Isolasi dan Seleksi Fungi Selulolitik Dari Serasah Perkebunan Nanas (*Ananas Comosus*) PT. Great Giant Pineapple (GGP). *Laporan Praktik Kerja Lapangan*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Bajpai, P. 2010. *Biotechnology for Pulp and Paper Processing*. Springer Science and Business Media. DOI 10.1007/978-1-4614-140904_2. LLC.
- Barnett, H. L. dan B. B. Hunter. 1998. *Illustrated Genera Of Imperfect Fungi*. Fourth Edition. The American Phytopathological Society. USA.

- Berri, A. M. M. 1984. Germination and Dormancy: Wilkins, M. B (Ed.) *Advanced Plant Physiology*. Longman, ELBS. London.
- Brock, T. D. dan K. M. Brock. 1987. *Basic Microbiology Edisi Revisi ke-5*. FMIPA UNY. Yogyakarta.
- Campbell, N. A., J. B. Reece, L. A. Urry, M. L. Cain, S. A. Wasserman, P. V. Minorsky dan R. B. Jackson. 2008. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 2*. Erlangga. Jakarta.
- Chairul, Syahbuddin, dan D. Maulinda. 2010. Laju Dekomposisi Serasah Daun Beberapa Jenis Pohon Pionir di Plot Permanen Hutan Penelitian dan Pendidikan Biologi (HPPB) Universitas Andalas Padang. *Prosiding Seminar dan Rapat Tahunan BKS-PTN Wilayah Barat ke-2*.
- Choi, Y. W. I. J. Hodgkiss, K.D. Hyde. 2005. Enzyme Production by Endophytes of *Brucea javanica*. *J Agric Tech*. 1: 55-56.
- Cronquist, A. 1981. *An Intergrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- Deacon, J.W. 1997. *Modern Mycology*. Blackwel Sciense. Pp 121.
- Dwidjoseputro, D. 1978. *Pengantar Mikolog Edisi Kedua*. Penerbit Alumni. Bandung.
- Farid, R. dan F. Handayani. 2007. *Budidaya Pasca Panen Nanas*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP). Kalimantan Timur.
- Frazier, W. C. dan D. C. Weshoff. 1958. *Food Microbiology*. Mc Graw Hill Publishing Co. Ltd. New York.
- Gabriel, B. P. dan Riyanto. 1989. *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. *Taksonomi, Patologi, Produksi, dan Aplikasinya*. Proyek Pengembangan Perlindungan Tanaman Perkebunan Departemen Pertanian. Jakarta.
- Gandjar, I., R. A. Samson, K. Van den Tweel-Vermeulen, A. Oetari dan I. Santoso. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Garraway, M. O. dan S. C. Watkinson, 1984. *Fungal Nutrition and Physiology*. John Wiley and Sons, Inc. Canada.

- Gautam, S.P., P. S. Bundela, A. K. Pandey, M. K. Awasth dan S. Sarsaiya. 2010. Screening of Cellulolytic Fungi For Management of Municipal Solid Waste. India. *Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation*. 5 (4): 391-395.
- Gilbert, H. J. dan G. F. Hazlewood. 1993. Bacterial Cellulases and Xylanases. *Journal of General Microb.* 139: 187-194.
- Giyatmi, Z. Kamal dan D. Melati. 2008. Penurunan Kadar Cu, Cr dan Ag Dalam Limbah Cair Industri Perak di Kotagede Setelah Diadsorpsi Dengan Tanah Liat Dari Daerah Godean. *Seminar Nasional IV SDM Teknologi Nuklir*. Yogyakarta.
- Gupta, P., K. Samant dan A. Sahu. 2012. Isolation of Cellulosa-Degrading Bacteria and Determination of Their Cellulolytic Potential. *International Journal of Microbiology*. National Institute of Technology and Institute of Technology Delhi. India.
- Hames, D. dan N. Hooper. 2005. *Biochemistry Edisi keempat*. Taylor and Francis Group. New York.
- Handayani, A. W. 2010. Penggunaan Selulosa Daun Nanas Sebagai Adsorben Logam Berat CD(II). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Hattori, T. 1973. *Microbial Life in The Soil : An Introduction*. Marcel Dekker. New York.
- Hendricks, C. W., J. D. Doyle dan B. Hugley. 1995. A New Solid Medium for Enumerating Cellulose-Utilizing Bacteria in Soil. *Applied and Environmental Microbiol.* 61(5): 2016-2019.
- Irfandi. 2005. Karakterisasi Morfologi Lima Populasi Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.). *Skripsi*. Program Studi Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Josua, C. 2017. Mikologi Tanaman : *Penicillium, Paecilomyces, Aspergillus*. <http://www.researchgate.net/publication/323384288>. Diakses pada tanggal 8 April 2019 pukul 15:31.
- Kumar, S. dan L. M. Tewari. Fall and Litter Decomposition in a *Quercus leucotrichophora* A. Camus Forest in Kumaun Himalaya. Department of Botany D. S. B. Campus Kumaun University. India. *International Journal of Biodiversity and Conservation*. 6(1): 108 - 114.
- Laili, N dan H. Imamuddin. 2011. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Herbisida Diuron dan Bromacil dari Area Perkebunan di Lampung. Berk. Penel. Hayati. 17: 57-61.

- Landecker dan Moore, E. 1982. *Fundamentals of The Fungi*. Second Edition. Prentice-Hall Inc. New Jersey.
- Lehninger, A. L. 1975. *Biochemistry*. Second Edition. Worth Publishers. New York.
- Lymar, E. S., B. Li dan V. Renganathan. 1995. Purification and Characterization of Cellulose- Binding β -Glucosidase from Cellulose-Degrading Cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. Department of Chemistry, Biochemistry, and Molecular Biology. Oregon Graduate Institute of Science and Technology. Portland. *Applied and Environmental Microbiology*. p. 2976-2980.
- Lynd, L. R., P. J. Weimer, H. V. Z. Willem dan S. P. Isak. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamental and Biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 66(3): 506-577.
- Malloch, D. 1981. *Moulds (Their Isolation, Cultivation, and Identification)*. University of Toronto Press. London.
- Malloch, M. S. dan J. E. Hobbie. 1981. *Moulds: Their Isolation, Cultivation, and Identification*. University of Toronto Press.
- Maretha, T. R. 2018. Uji Efektivitas Formulasi Spora *Metarhizium anisopliae* Pada Limbah Tahu dan Tongkol Jagung sebagai Agens Hayati Larva Kumbang Badak (*Oryctes rhinoceros* L.). *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Yogyakarta.
- McKane, L. dan J. Kandel. 1996. *Microbiology: Essentials and Applications*. McGraw-Hill. New York.
- Mikata, K. 1999. Preservation of yeast culture by L-drying: viability after 15 years storage at 5° C. *IFO Research Communications*. 19: 71- 82.
- Murni, R., S. Akmal dan B. L. Ginting,. 2008. *Buku Ajar Teknologi Pemanfaatan Limbah untuk Pakan*. Laboratorium Makanan Ternak. Fakultas Peternakan Universitas Jambi. Jambi.
- Oramahi, H., P. Kandel dan Haryadi. 2003. Optimasi Kadar Asam Dalam Asap Cair dari Kayu Karet Dengan RSM. *Skripsi*. Universitas Gadjah Mada . Yogyakarta.
- Panjaitan, F. J., B. Adirianto, T. Bachtiar. 2016. Isolasi Bakteri Pendegradasi Herbisida dari Rhizosfer Tanaman Padi Sawah dan Tanaman Hutan. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. *Prosiding Seminar Nasional FMIPA UT: Optimasi Peran Sains dan Teknologi menuju Kemandirian Bangsa*.

- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta.
- Perez, J., M. J. Kandel, T. de la. Rubia dan J. Martinez. 2002. Biodegradation and Biological Treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin. *Journal Int Microbiol*. 5: 53-56.
- Pikukuh, P. 2011. *Komponen yang paling banyak ditemukan di alam.html*. Diakses pada tanggal 15 November 2018 Pukul 16:55.
- Plackett, D. 2011. *Biopolymer: New Materials for Sustainable Films and Coating*. Willey Publisher. United Kingdom.
- Prescott, H. 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology*. Fifth Edition. McGraw-Hill Companies. 456.
- Purba, F. H. K. 2008. Perkembangan Ekspor Nenas Indonesia Sebagai Salah Satu Komoditas Pertanian Dalam Daya Saing Pasar Dunia. <http://agribisnis.deptan.go.id>. Diakses pada tanggal 24 November 2018 pukul 07.00.
- Purdy, L. H. 1956. Factors Affecting Apothecial Formation by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*. 46: 409-410.
- Rice, E. L. 1984. *Allelopathy*. Academic Press, Inc. Orlando.
- Roosheroe, G. I., W. Sjamsuridzal dan A. Oetari. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Rosyada, N. 2015. Isolasi Bakteri Asam Laktat dengan Aktivitas Selulolitik pada Saluran Pencernaan Mentok 9Cairina moschata). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Rosyidah. 2011. <http://rosyidah.com/2018/11/15/pt-great-giant-pineapple-ggpc-lambung-nanas-raksasa-di-indonesia/>. Diakses pada tanggal 15 November 2018 pukul 15:38.
- Salma, S. dan L. Gunarto. 1999. Enzim Selulase Dari *Trichoderma* sp. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor. *Jurnal Tinjauan Ilmiah Riset Biologi dan Bioteknologi Pertanian*. 2(2): 37-38.
- Salma S. dan Gunarto L. 2007. Enzim Selulase Dari *Trichoderma* sp. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 2(2).
- Samson, J. A. 1980. *Tropical Fruits, Tropical Agriculture Series*. Longmarch. London.

- Santoso, E., T. Maman dan T. N. Simon. 1999. Studi Antagonis *Trichoderma harzanium* Rifai Terhadap *Pythium* sp. Penyebab Penyakit Lodoh Pada Semai Sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen). *Prosiding Kongres Nasional XV dan Seminar Ilmiah PFI*. Purwokerto. 83-84.
- Sari, N. R. 2002. Analisis Keragaman Morfologi Dan Kualitas Buah Populasi Nanas (*Ananas comusus* (L.)Merr.) Queen Di Empat Desa Kabupaten Bogor. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Schlegel, H. G. 1994. *Mikrobiologi Umum Ed. ke-6*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Shuangqi, T., W. Zhenyu, F. Ziluan, Z. Lili dan W. Jichang. 2011. Determination Methods of Cellulase Activity. School of Food Science and Engineering. Harbin Institute of Technology. School of Forestry. Northeast Forestry University. China. *African Journal of Biotechnology*. 10(37):. 7122-7125.
- Simanjuntak, E., E. Rossi dan U. Pato. 2017. Isolasi dan Identifikasi Kapang Selulolitik dari Kulit Ari Kedelai Limbah Pengolahan Susu Kedelai. Program Studi Teknologi Hasil Pertanian. Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau. Pekanbaru. *Sagu*. Vol. 6 No. 1: 34 – 43
- Stoll, V. S dan A. S. Blanchard. 1990. Buffer Principles and Practice. *Journal Methods in Enzimology*. 182: 8-9.
- Sudiana, I. M., A. Kanto, M. Rahmansyah, S. Widiawati, Sulasih, R. W. Rahayu dan H. Imanudin. 2002. Populasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Yang Diisolasi Berbagai Ketinggian Lokasi di Taman Nasional Gunung Halman. Laporan *Teknik Proyek Inventarisasi dan Karakterisasi Sumberdaya Ayat*. Pusat Biologi-LIPI. Indonesia.
- Sumardi, C. N. Ekowati dan D. Haryani. 2010. Isolasi Bacillus Penghasil Selulase dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung. *J. Sains MIPA*. 16(1): 62-68.
- Sumarsih, S. 2003. *Peranan Dekomposisi dalam Proses Produksi Pada Ekosistem Laut*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Surtiningsih, P. 2008. Keragaman Genetik Nenas (*Ananas Comusus* (L). Merr.) Berdasarkan Penanda Morfologi Dan Amplified Fragment Lenght Polymorphism (AFLP). *Tesis*. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Susilawati. 2015. Sporulasi dan Viabilitas Konidia Cendawan Entomopatogen *Beauveria basiana* (Balsamo) Vuillemin di Berbagai Media Tumbuh. *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Sutedjo, M. M., A. G. Kartasapoetra dan R. S. Sastroatmodjo. 1991. *Mikrobiologi Tanah*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Syarafina, P. 2016. Karakterisasi Enzim Selulase Yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus plantarum* Pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat. *Skripsi*. Fakultas Sains dan teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Teather, R. M. dan P. J. Wood. 1982. Use of Congo Red-Polysaccharide Interactions in Enumeration and Characterization of Cellulolytic Bacteria from the Bovine Rumen. *Applied and Environmental Microbiol.* 43(4): 777-780.
- Vos V. C. A., J. V. Ruijven, M. P. Berg, T. H. M. Peeters, dan F. Berendse. 2013. Leaf Litter Quality Drives Litter Mixing Effects Through Complementary Resource Use Among Detritivores. *Oecologia* 173(1): 269 - 280.
- Wangge, E. S. A., D. N. Suprpta dan G. N. A. Wirya. 2012. Isolasi dan Identifikasi Jamur Penghasil Mitotoksin pada Biji Kakao Kering yang Dihasilkan di Flores. *J Agric Sci and Biotechnol.* 1(1): 39-47.
- Yudianto, S. A. 1992. *Pengantar Cryptogamae (Sistematik Tumbuhan Rendah)*. Tarsito Bandung. Bandung.
- Yuniar, W. 2013. Skring dan Identifikasi Selulolitik Pada Proses Vermikomposting Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKTS). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Jember. Jember.
- Zabaloy, M. C., J. L. Garland dan M. A. Gomez. 2008. An Intergrated Approach to Evaluate The Impacts of The Herbicides Glycophosphate 2,4-D and Metsulfuron-methyl on Soil Microbial Communities in the Pampas Region Argentina. *Appl Soil Ecol.* 40: 1-12.
- Zhang, Y. H. P., M. E. Himmel, J. R. Mielenz. 2006. Outlook for Cellulase Improvement: Screening and Seelection Strategies. *Biotech Adv.* 24: 452-481.
- Zubaidah, S. 2000. *Bakteri: Kajian tentang Beberapa Aspek Biologis*. Universitas Negeri Malang. Malang.
- Zverlova, V. V., W. Holl dan H. Schwarz. 2003. Enzymes for Digestion of Cellulose and Other Polysaccharides in The Gut of Longhorn Beetle Larvae *Rhagium inquistor* L. (Col., Cerambycidae). *International Biodeterioration and Biodegradation.* 51(2): 1775-179.