

## Hidrolisis Ampas Tebu Menggunakan Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis* Dalam Upaya Pemanfaatannya Sebagai Bahan Pakan Ikan

<sup>1</sup>NUNAK NAFIQOH, <sup>2</sup>LUSI H SURYANINGRUM

<sup>1</sup>Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP)  
Jl. Sempur No. 1 Bogor, Indonesia. 16129

<sup>2</sup>Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP)  
Jl. Sempur No. 1 Bogor, Indonesia. 16129  
Email: lusihera@gmail.com

### ABSTRACT

Bagasse is a byproduct or waste resulting from the processing of sugarcane at a sugar factory, which has the potential to be utilized as fish feed ingredient after going several processes for its utilization. This study was aimed to determine the optimum temperature and pH of bagasse hydrolysis using crude enzyme extract from the bacterium *Bacillus subtilis*, to optimize bagasse quality as fish feed ingredient. Measured temperature in this study were ranged from 40°C to 60°C (40°C, 45°C, 50°C, 55°C and 60°C), while measured pH were 4.0; 4.5; 5.0; 5.5; 6.0. The analyzed parameters were reducing sugar and nutrient composition before and after hydrolysis. The results showed that the hydrolysis of bagasse using crude extract of the cellulase enzyme from *B. subtilis* had an optimum temperature of 50°C and an optimum pH of 5.0. The proximate test results showed that the quality of bagasse meal significantly increased. The nutrient composition of bagasse meal after hydrolysis were protein, lipid, ash, crude fiber and NFE 20.23%, 1.17%, 6.33%, 11.25%, 61.02% (in dry weight), respectively. This study was concluded that the crude extract of the cellulase enzyme from *B. subtilis* is proven to increase the quality of bagasse and make it feasible to be used as fish feed ingredient.

Keywords: *Bacillus subtilis*; cellulose; fish feed; hydrolysis; sugar cane bagasse

### INTISARI

Ampas tebu merupakan hasil samping atau buangan yang dihasilkan dari proses pengolahan tebu di pabrik gula yang memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ikan setelah melalui proses pengolahan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan temperatur dan pH optimum hidrolisis ampas tebu menggunakan ekstrak kasar enzim selulase dari bakteri *Bacillus subtilis*, dalam upaya perbaikan kualitas ampas tebu untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ikan. Temperatur yang dicobakan adalah 40°C, 45°C, 50°C, 55°C dan 60°C, sedangkan pH yang dicobakan adalah 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0. Parameter yang diukur adalah gula reduksi dan komposisi nutrisi ampas tebu sebelum dan setelah hidrolisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hidrolisis ampas tebu menggunakan ekstrak kasar enzim selulase dari bakteri *B. subtilis* memiliki temperatur optimum 50°C dan pH optimum 5,0. Hasil uji proksimat menunjukkan bahwa kualitas tepung ampas tebu meningkat cukup signifikan. Komposisi nutrisi tepung ampas tebu setelah hidrolisis adalah protein 20,23%, lemak 1,17%, abu 6,33%, serat kasar 11,25%, BETN 61,02%, dengan demikian ekstrak kasar enzim selulase dari *B. subtilis* terbukti mampu meningkatkan kualitas ampas tebu sehingga memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ikan.

Kata kunci: ampas tebu; *Bacillus subtilis*; hidrolisis; pakan ikan; selulase

### PENDAHULUAN

Ampas tebu merupakan sisa proses pengolahan tebu menjadi gula di pabrik gula. Ampas tebu terdapat dalam jumlah yang cukup melimpah. Teixeira *et al.* (2015) menyebutkan bahwa ampas tebu yang dihasilkan mencapai sekitar 25% dari total tebu yang digunakan sebagai bahan baku. Hasil penelitian Sulaiman *et al.* (2019) melaporkan bahwa setiap pabrik gula di Indonesia membutuhkan tebu sekitar 3.900 ton per hari untuk diolah menjadi gula. Selama ini ampas tebu belum banyak

dimanfaatkan. Beberapa pabrik gula menggunakannya sebagai bahan bakar, namun dalam jumlah yang tidak terlalu banyak. Sifat ampas tebu yang meruah menyebabkan pabrik gula harus mengalokasikan area yang cukup luas sebagai tempat penyimpanan. Banyaknya kuantitas ampas tebu juga dikhawatirkan menimbulkan masalah lingkungan. Pemanfaatan ampas tebu sebagai bahan baku pakan ikan bisa menjadi salah satu solusi. Selain mengurangi kuantitas limbah juga mendukung kebijakan akuakultur yang

berkelanjutan. Upaya pemanfaatan limbah sebagai bahan baku pakan ikan merujuk pada kebutuhan material alternatif dalam rangka substitusi bahan baku pakan yang harus diimpor. Dengan demikian penggunaan material alternatif diharapkan mampu menekan tingginya biaya pakan pada usaha budidaya ikan air tawar.

Ampas tebu masih memiliki nutrisi yang bisa dimanfaatkan meskipun termasuk dalam kategori limbah atau buangan. Hasil penelitian Leang & Gaw (2011), Aragaw (2016) dan Adebisi *et al.* (2017), menyebutkan bahwa nutrisi yang terkandung dalam ampas tebu antara lain protein 1-3%, lemak <3%, abu 2-8%, serat kasar 25-35% dan BETN 50-60%, dalam bobot kering. Ampas tebu merupakan material lignoselulosa sehingga membutuhkan proses multistap untuk membuatnya menjadi produk yang memiliki nilai lebih (Xiao *et al.*, 2012). Secara umum, pengolahan material lignoselulosa dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama adalah delignifikasi untuk menghilangkan lignin, dan tahap kedua adalah hidrolisis selulosa menggunakan enzim. Enzim berfungsi sebagai katalis yang mempercepat laju reaksi tanpa ikut bereaksi (Robinson, 2015). Variasi enzim sangat beragam. Enzim selulase adalah salah satu variasi yang memiliki peran penting dalam proses biokonversi material organik (Deka *et al.*, 2013). Enzim dapat dihasilkan oleh mikroorganisme (bakteri, kapang atau khamir). Selulase yang dihasilkan oleh bakteri menjadi pilihan utama, karena bakteri memiliki pertumbuhan yang cepat sehingga lebih efisien dari segi waktu (Sadhu & Saiti, 2013). Enzim selulase adalah enzim yang memiliki kemampuan mendegradasi selulosa dan menghasilkan gula pereduksi sebagai produk (Behera *et al.*, 2017). Enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus subtilis* diketahui banyak dilibatkan dalam pengolahan material lignoselulosa (Amit *et al.*, 2018).

Hidrolisis enzimatis memiliki banyak keuntungan, di antaranya tidak perlu alat dengan konstruksi spesifik, tidak perlu temperatur dan pH yang ekstrim, memiliki nilai konversi yang tinggi, prosesnya lebih mudah dikendalikan, biaya purifikasi lebih ekonomis, dan kerusakan warna dapat diminimalkan

(Ni'maturrohman & Yuniarta, 2015). Hidrolisis enzimatis dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu temperatur, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim dan inhibitor. Temperatur dan pH merupakan faktor utama penentu reaksi yang harus segera diketahui (Robinson, 2015), karena enzim hanya akan bekerja optimal pada temperatur dan pH tertentu. Temperatur yang terlalu tinggi akan membuat enzim terdenaturasi, sedangkan pH yang tidak sesuai akan memberi pengaruh yang sangat besar pada jalannya reaksi.

Upaya perbaikan kualitas limbah yang telah dilakukan oleh Iluyemi *et al.* (2010), Bag & Mahapatra (2012), dan Yanto *et al.* (2018), terbukti mampu meningkatkan kandungan nutrisi sehingga bisa dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan pada beberapa jenis ikan tanpa mengganggu pertumbuhannya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan temperatur dan pH optimum hidrolisis pada ampas tebu menggunakan ekstrak kasar enzim selulase dari bakteri *B. subtilis*, dalam upaya perbaikan kualitas ampas tebu untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ikan.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Pakan dan Laboratorium Mikrobiologi Pakan, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP) Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain isolat bakteri *Bacillus subtilis*, tepung ampas tebu, TSB (*Triptic Soy Broth*),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , NaCl,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , *Yeast extract*, akuades, *buffer* sitrat, *buffer* asetat, *buffer* fosfat, NaOH, CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*), reagen asam dinitro salisilat (DNS), kertas saring, etanol. Alat yang digunakan dalam penelitian adalah *UV-Vis Spektrofotometer*, pH meter, *autoclave*, *laminar air flow*, *vortex*, *waterbath*, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, termometer, pipet mikro dan tip, *magnetic stirrer*, *hot plate*, timbangan analitik, bunsen, penjepit, kapas, aluminium foil, refrigerator, inkubator, digester, destilator, titrator digital, tanur, oven, ekstraktor, pompa vakum, desikator.

### **Pembuatan Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari *B. subtilis***

Satu ose kultur murni bakteri *B. subtilis* diambil kemudian ditambahkan ke media TSB 10 mL, diinkubasi selama 24 jam di inkubator dengan temperatur 28°C. Hasil kultur diambil sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam 9 mL media TSB dan diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya kultur bakteri disentrifugasi 9000 rpm, temperatur 4°C selama 30 menit. Supernatan yang terbentuk diambil kemudian disimpan di refrigerator untuk penggunaan berikutnya.

### **Penentuan Temperatur Optimum Hidrolisis Ampas Tebu Menggunakan Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari *B. subtilis***

Tahap ini bertujuan untuk menentukan temperatur maksimum hidrolisis enzimatis pada ampas tebu menggunakan ekstrak kasar enzim selulase yang berasal dari bakteri *B. subtilis*. Hidrolisis enzimatis dilakukan dengan mencampurkan tepung ampas tebu sebanyak 5 gram, ditambahkan akuades 50 mL, larutan buffer pH 6 sebanyak 25 mL dan ekstrak kasar enzim selulase dari bakteri *B. subtilis* sebanyak 15 mL, campuran diaduk hingga rata, kemudian ditutup rapat dan diinkubasi selama 24 jam. Temperatur yang dicobakan adalah 40°C, 45°C, 50°C, 55°C dan 60°C. Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap, masing-masing dengan tiga kali ulangan. Reaksi dihentikan dengan memanaskan sampel menggunakan oven pada temperatur 105°C selama 10 menit. Kemudian campuran dikeringkan pada temperatur 60°C selama 24 jam atau hingga diperoleh bobot konstan. Selanjutnya campuran ditepungkan untuk homogenisasi kemudian dibuat ekstraknya untuk keperluan analisis.

### **Penentuan pH Optimum Hidrolisis Ampas Tebu Menggunakan Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari *B. subtilis***

Derajat keasaman optimum ditentukan dengan cara mencampurkan tepung ampas tebu sebanyak 5 gram, ditambahkan akuades 50 mL, larutan buffer 25 mL dan ekstrak kasar enzim selulase asal bakteri *B. subtilis* sebanyak 15 mL, campuran diaduk hingga rata, kemudian

ditutup rapat dan diinkubasi selama 24 jam. Derajat keasaman yang dicobakan adalah 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0. Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap, masing-masing dengan tiga kali ulangan. Setelah selesai waktu inkubasi, hidrolisis dihentikan dengan memanaskan sampel menggunakan oven pada temperatur 105°C selama 10 menit. Kemudian campuran dikeringkan pada temperatur 60°C selama 24 jam atau hingga diperoleh bobot konstan. Selanjutnya campuran ditepungkan untuk homogenisasi kemudian dibuat ekstraknya untuk keperluan analisis.

### **Pembuatan Ekstrak Tepung Ampas Tebu Hasil Hidrolisis untuk Analisis**

Ampas tebu hasil hidrolisis ditimbang dan ditambahkan akuades panas dengan perbandingan 1/20 (b/v), kemudian dimasukkan dalam *waterbath* dengan temperatur 100°C selama 10 menit, dihomogenkan menggunakan *stirrer* dengan kecepatan 200 rpm selama 10 menit. Selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 15.000 rpm pada temperatur 27°C selama 20 menit. Supernatan yang terbentuk diambil untuk keperluan analisis.

### **Penentuan Gula Reduksi**

#### **a. Pembuatan Reagen DNS**

Ditimbang asam 3,5-dinitrosalisilat sebanyak 1 gram dan dilarutkan ke dalam 20 mL akuades menggunakan labu ukur 100 mL. Kemudian ditambahkan NaOH 1 gram, fenol 0,2 gram, Na<sub>2</sub>SO 0,05 gram, Na-K tartrat 40% 1 mL dan ditambahkan akuades hingga batas meniskus kemudian dihomogenkan.

#### **b. Pengukuran Kadar Glukosa**

Diambil 1 mL ekstrak hasil hidrolisis kemudian ditambahkan 1 mL reagen DNS dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Campuran dimasukkan dalam *waterbath* temperatur 100°C selama 10 menit, diangkat dan didiamkan selama 20 menit. Ditambahkan akuades sebanyak 5 mL, dihomogenkan kemudian ditambahkan lagi akuades sebanyak 5 mL. Blanko dibuat dengan mengganti 1 mL ekstrak hasil hidrolisis dengan akuades.

Absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum. Hasilnya diplotkan pada kurva kalibrasi glukosa untuk mendapatkan kadar gula reduksi.

### c. Penentuan Komposisi Nutrien pada Ampas Tebu Hasil Hidrolisis Enzimatis

Komposisi nutrien tepung ampas tebu sebelum dan sesudah hidrolisis dilakukan dengan metode proksimat. Kadar air ditetapkan secara gravimetri dengan memanaskan sampel pada temperatur 105°C selama 4 jam atau hingga diperoleh bobot konstan. Protein ditetapkan melalui tahapan destruksi, destilasi dan titrasi. Lemak ditetapkan melalui ekstraksi pelarut organik. Abu ditetapkan melalui pengabuan menggunakan tanur pada temperatur 600°C selama 3 jam dan kadar serat kasar ditetapkan melalui pemanasan menggunakan asam kuat dan basa kuat.

### Analisis Data

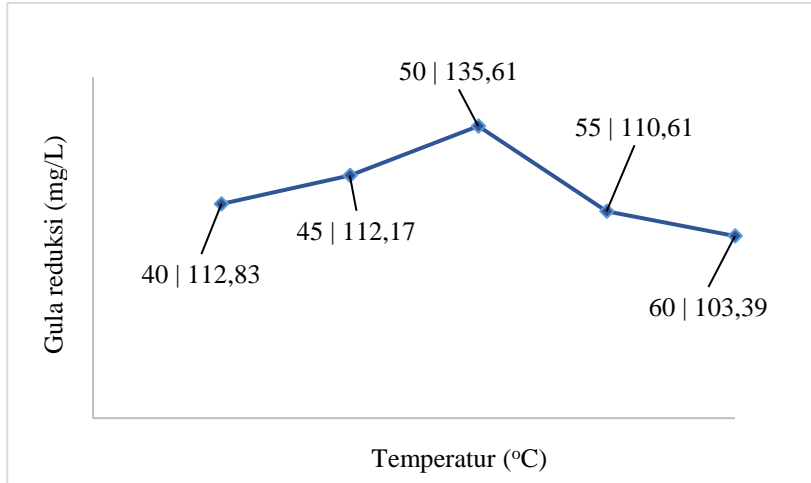
Data yang diperoleh ditabulasi menggunakan perangkat lunak Ms Excel kemudian dianalisis menggunakan *Analysis of Variant (ANOVA) One Way*. Jika ada perbedaan dilanjutkan dengan uji beda nyata Duncan. Perangkat lunak yang digunakan adalah *Statistical Program for Social Science (SPSS) version 21.0 for Windows* dengan taraf signifikansi  $p < 0,05$ .

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Ampas tebu merupakan material lignoselulosa sehingga untuk memanfaatkannya sebagai bahan baku pakan ikan diperlukan pengolahan terlebih dahulu. Pengolahan tahap pertama adalah delignifikasi untuk menghilangkan kandungan lignin, sedangkan tahap kedua adalah hidrolisis enzimatis untuk memperbaiki kualitasnya dengan meningkatkan nutrien yang terkandung di dalam ampas tebu. Hidrolisis enzimatis menggunakan ekstrak kasar enzim selulase bertujuan untuk mendegradasi selulosa pada ampas tebu menjadi senyawa penyusunnya

yang lebih sederhana sehingga bisa dicerna dengan mudah oleh ikan. Hidrolisis selulosa menggunakan enzim selulase dapat diamati dengan metode DNS, berdasarkan pada glukosa atau gula reduksi yang terbentuk (Jennifer & Thiruneelakandan, 2015). Gula reduksi yang dihasilkan akan mengubah warna reagen DNS dari kuning menjadi jingga kemerahan. Semakin gelap warna yang dihasilkan mengindikasikan bahwa gula reduksi yang terbentuk semakin banyak.

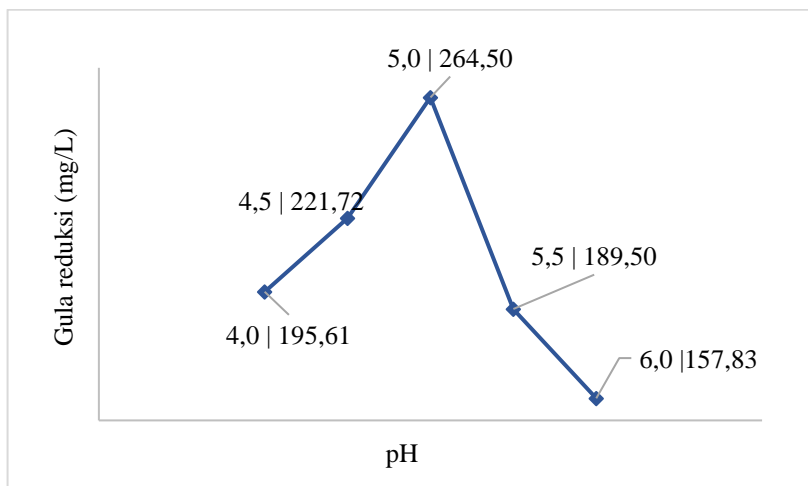
Hidrolisis enzimatis akan mendapatkan hasil maksimal ketika berada pada kondisi optimum, karena enzim akan mengikat dan mengolah substrat dengan kecepatan tinggi. Islam *et al.* (2019) menyebutkan bahwa temperatur dan pH merupakan faktor utama yang menentukan jalannya reaksi yang melibatkan enzim. Hasil penelitian menyatakan bahwa temperatur optimal hidrolisis ampas tebu menggunakan ekstrak kasar enzim selulase bakteri *B. subtilis* adalah 50°C (Gambar 1). Temperatur optimal merupakan temperatur yang paling tepat pada suatu reaksi enzimatis (Daniel *et al.*, 2009). Pengaruh temperatur pada jalannya reaksi juga diilustrasikan pada Gambar 1, di mana peningkatan temperatur hingga 50°C meningkatkan kecepatan reaksi hidrolisis yang ditunjukkan oleh jumlah gula reduksi yang terbentuk. Ketika temperatur mencapai 55°C, gula reduksi yang terbentuk mulai berkurang, demikian juga ketika temperatur mencapai 60°C. Artinya pada temperatur 55°C mulai terjadi denaturasi enzim. Brown *et al.* (2013) menyatakan bahwa denaturasi akan mengubah struktur protein enzim dan menyebabkan terjadinya penurunan kecepatan reaksi. Sebagian besar enzim selulase termasuk dalam golongan mesozim yang memiliki kinerja optimal pada rentang temperatur 20–50°C (Saropah *et al.*, 2012), sehingga enzim selulase yang digunakan dalam penelitian ini termasuk dalam golongan mesozim.



Gambar 1. Temperatur optimum hidrolisis enzimatik pada ampas tebu

Pengaruh pH terhadap jalannya reaksi ditampilkan pada Gambar 2. Berdasarkan jumlah gula reduksi yang dihasilkan, maka derajat keasaman optimum hidrolisis ampas tebu menggunakan ekstrak kasar enzim selulase dari bakteri *B. subtilis* adalah 5,0. Gula reduksi mulai turun ketika pH mencapai 5,5 dan terus turun pada pH yang lebih tinggi.

Hasil ini sejalan dengan penelitian Irfan *et al.* (2017) yang melaporkan bahwa pH optimum selulase yang dihasilkan dari *B. subtilis* K-18 adalah 5,0. Selanjutnya Seo *et al.* (2013) menyebutkan bahwa kisaran pH optimum untuk enzim selulase berkisar antara 3-6 atau pada pH asam.



Gambar 2. pH optimum hidrolisis enzimatik pada ampas tebu

Derajat keasaman atau pH optimum dibutuhkan oleh enzim untuk bereaksi dan mengaktifkan seluruh enzim yang mengikat substrat untuk kemudian mengubahnya menjadi produk. Secara umum enzim akan aktif pada kisaran pH terbatas. Enzim memiliki sisi aktif yang memiliki peran sebagai katalis dalam pembentukan kompleks enzim-substrat. Berubahnya nilai pH akan mengubah struktur asam amino pada enzim yang berperan dalam reaksi pembentukan kompleks enzim-substrat.

Sisi aktif enzim yang mengandung gugus bermuatan ( $-NH_3^+$  atau  $-COO^-$ ) akan mengalami perubahan muatan pada pH yang berbeda, yang kemudian mengganggu ikatan ionik sehingga konformasi enzim berubah. Enzim akan bekerja maksimal jika terdapat keseimbangan antara kedua muatannya. Enzim adalah protein yang tersusun dari asam amino yang bisa terionisasi dan ion tersebut harus stabil agar bisa tetap aktif (Hames & Hooper, 2000). Muatan enzim cenderung positif pada

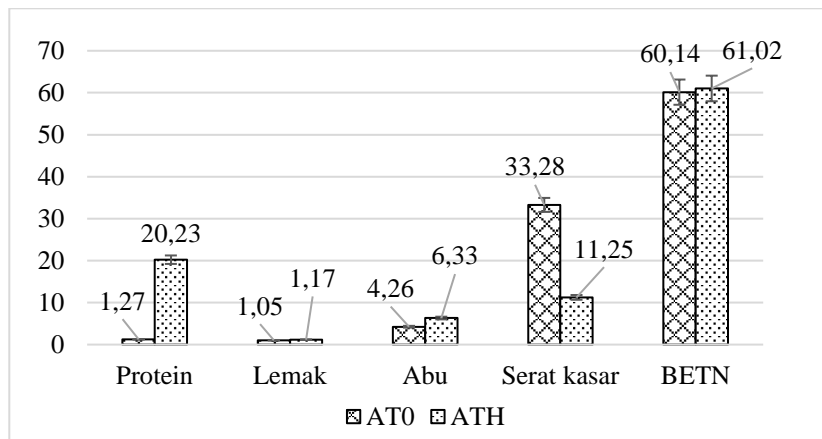


kondisi asam, dan cenderung negatif pada kondisi basa, sehingga pada kondisi basa kinerja enzim cenderung melemah.

### Kandungan Nutrien pada Ampas Tebu

Komposisi nutrien pada ampas tebu sebelum dan setelah hidrolisis enzimatis

menggunakan ekstrak kasar enzim selulase dari bakteri *B. subtilis* terdapat pada Gambar 3. Protein meningkat secara signifikan yaitu dari 1,27% menjadi 20,23%, sedangkan serat kasar turun dari 33,28% menjadi 11,25% (dalam bobot kering).



Gambar 3. Komposisi nutrien tepung ampas tebu (% bobot kering)  
 AT0 = ampas tebu awal, ATH = ampas tebu hasil hidrolisis

Protein yang terkandung dalam ampas tebu hasil hidrolisis cukup tinggi yaitu 20,23%. Bahan baku yang memiliki kandungan protein >20% termasuk dalam golongan kontributor protein pakan. Protein yang terkandung dalam pakan yang diberikan pada ikan, akan memberikan pengaruh sangat besar terhadap pertumbuhan, karena protein merupakan nutrien utama yang menentukan pertumbuhan ikan. Semakin tinggi protein yang terkandung pada pakan, maka potensi ikan untuk tumbuh semakin tinggi.

Ampas tebu merupakan material lignoselulosa sehingga memiliki kadar serat kasar yang cukup tinggi yaitu 33,28%. Serat kasar yang terlalu tinggi menjadi masalah bagi ikan, karena sebagai hewan monogastrik, ikan tidak memiliki kemampuan yang cukup baik untuk mencerna pakan yang memiliki kandungan serat kasar tinggi. Hidrolisis menggunakan ekstrak kasar enzim selulase dari bakteri *B. subtilis* mampu menurunkan kadar serat kasar pada ampas tebu menjadi 11,25%. Kadar serat kasar ini relatif cukup rendah.

Kadar nutrien terbesar yang terdapat pada ampas tebu adalah karbohidrat (BETN/Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen). BETN pada ampas tebu setelah hidrolisis mengandung glukosa

hasil degradasi selulosa. Glukosa merupakan karbohidrat paling sederhana yang bisa dicerna dengan mudah oleh ikan, terutama jenis herbivora. Secara umum, ampas tebu hasil hidrolisis memiliki kandungan nutrien yang cukup baik sehingga memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ikan.

Limbah yang telah diolah bisa dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ikan, Hasil penelitian Iluyemi *et al.* (2010) menyatakan bahwa bungkil inti sawit yang telah diolah dan dijadikan sebagai bahan baku pakan ikan Nila merah (*Oreochromis sp.*) membuat daging ikan memiliki kandungan mineral kalsium (Ca) dan fosfor (P) yang lebih tinggi serta lemak yang lebih rendah. Bag & Mahapatra (2012) melaporkan bahwa limbah jeroan ikan yang telah diolah mampu meningkatkan pertumbuhan dan kandungan PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) pada daging ikan Nila (*O. niloticus*). Hasil penelitian Yanto *et al.* (2018) menggunakan dedak yang telah diolah, menyebutkan bahwa efisiensi pakan dan pertumbuhan ikan Jelawat (*Leptobarbus hoevenii*) meningkat sebanyak 25,66-26,78%.

## KESIMPULAN

Hidrolisis selulosa pada ampas tebu menggunakan ekstrak kasar enzim selulase dari bakteri *B. subtilis* berjalan optimum pada temperatur 50°C dan pH 5,0; berdasarkan pada jumlah gula reduksi yang terbentuk. Hidrolisis enzimatik terbukti mampu memperbaiki kualitas ampas tebu dengan meningkatkan kadar nutriennya sehingga memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abou-Taleb KA, Mashhoor WA, Nasr SA, Sharaf MS, and Abdel-Azeem HH. 2009. Nutritional and environmental factors affecting cellulase production by two strains of cellulolytic. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. vol 3(3): 2429-2436.
- Adebisi JA, Agunsoye JO, and Bello SA. 2019. Extraction of silica from sugarcane bagasse, cassava periderm and maize stalk: proximate analysis and physico-chemical properties of wastes. *Waste and Biomass Valorization*. vol 10: 617-629. doi: 10.1007/s12649-017-0089-5.
- Amit K, Nakachew M, Yilkal B, and Mukesh Y. 2018. A review of factors affecting enzymatic hydrolysis of pretreated lignocellulosic biomass. *Research Journal of Chemistry and Environment*. vol 22(7): 62-67.
- Aragaw TA. 2016. Proximate analysis of cane bagasse and synthesizing activated carbon: emphasis on material balance. *J. Environ. Treat. Tech*. vol 4(4): 102-110.
- Bag MP and Mahapatra SC. 2012. Efficiency of fermented fish offal meal on growth and fatty acid profile of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Biol*. vol 8(4): 62-66.
- Behera BC, Sethi BK, Mishra RR, Dutta SK, and Thatoi HN. 2016. Microbial cellulases - diversity & biotechnology with reference to mangrove environment: A review. *J. Genet. Eng. Biotechnol*. vol 15(1):197-210. doi: 10.1016/j.jgeb.2016.12.001
- Brown I, Dafforn TR, Fryer PJ, and Cox PW. 2013. Kinetic study of the thermal denaturation of a hyperthermostable extracellular  $\alpha$ -amilase from *Pyrococcus furiosus*. *Biochimica et Biophysica Acta*. vol 1834: 2600-2605.
- Daniel RM, Peterson ME, Danson MJ, Price NC, Kelly SM, Monk CR, Weiberg CS, Oudshoorn ML, and Lee CK. 2010. The molecular basis of the effect of temperature on enzyme activity. *Biochem J*. vol 425(2): 353 - 359. doi: 10.1042/BJ20091254.
- Deka D, Das SP, Sahoo N, Das D, Jawed M, Goyal D, and Goyal A. 2013. Enhanced cellulase production from *Bacillus subtilis* by optimizing physical parameters for bioethanol production.
- Hames BD and Hooper NM. 2000. *Biochemistry: The Instant Notes*. Ed. ke-2. Hongkong: Springer-Verlag.
- Iluyemi FB, Hanafi MM, Radziah O, and Kamarudin MS. 2010. Nutritional evaluation of fermented plam kernel cake using Red Tilapia. *Afr. J. Biotech*. vol 9(4): 502-507. doi: 10.5897/AJB09.863.
- Irfan M, Mushtaq Q, Tabssum F, Shakir HA, and Qazi JI. 2017. Carboxymethyl cellulase production optimization from newly isolated thermophilic *Bacillus subtilis* K-18 for saccharification using response surface methodology. *AMB Express*. vol 7(1): 29-35. doi: 10.1186/s13568-017-0331-3.
- Islam M, Sarkar PK, Mohiuddin AKM, and Suzauddula M. 2019. Optimization of fermentation condition for cellulose enzyme production from *Bacillus* sp. *Malaysian J. Halal Res*. vol 2(2): 19-24. doi: 10.2478/mjhr-2019-0009.
- Jennifer V and Thiruneelakandan G. 2015. Enzymatic activity of marine *Lactobacillus* species from South East Coast of India. *IJISSET*. vol 2(1): 542-546.
- Ni'maturohmah dan Yunianta. 2015. Hidrolisis pati sagu untuk pembuatan deskstrin. *J. Pangan Agro*. vol 3(1): 292-302.
- Robinson PK. 2015. Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays Biochem*. vol 59: 1-41. doi:10.1042/bse0590001.
- Sadhu S and Maiti TK. 2013. Cellulase production by bacteria: a review. *British Microbiol Res. J*. vol 3: 235-258. doi: 10.9734/BMRJ/2013/2367.
- Saropah DA, Jannah A, dan Maunatin A. 2012. Kinetika reaksi enzimatik ekstrak kasar enzim selulase bakteri selulolitik hasil isolasi dari bekatul. *Alchemy*. vol 2(1): 34-45.
- Seo JK, Park TS, Kwon IH, Piao MY, Lee CH, and Ha JK. 2013. Characterization of cellulolytic and xylanolytic enzymes of *Bacillus licheniformis* JK7 isolated from the rumen of a native Korean goat. *Asian-Australasian J. Anim. Sci*. vol 26(1): 50-58. doi: 10.5713/ajas.2012.12506.
- Sulaiman AA, Sulaeman Y, Mustikasari N, Nursyamsi D and Syakir AM. 2019. Increasing sugar production in Indonesia through land suitability analysis and sugar mill restructuring. *Land*. vol 8(61): 1-17. doi:10.3390/land8040061.
- Teixeira SR, Arenales A, de Souza AE, Magalhaes RS, Pena AFV, Aquino D, and Freire R. 2015. Sugarcane bagasse: applications for energy production and ceramic materials. *J. Solid Waste Tech. Management*. doi: 10.527/JSWTM.2015.229

- Xiao W, Wang Y, Xia S, and Ma P. 2012. The study of factors affecting the enzymatic hydrolysis of cellulose after ionic liquid pretreatment. *Carbohydr. Poly.* vol 87(3): 2019-2023. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.10.012.
- Yanto H, Junianto, Rostika R, Andriani Y, Tanuwiria UH. 2018. Effect of different levels of fermented rice bran for the growth of Jelawat, *Leptobarbus hoevenii*. *Nusantara Bioscience*. vol 10(2): 81-86. doi: 10.13057/nusbiosci/n100203.