

## Isolasi dan seleksi jamur tanah pengurai selulosa dari berbagai lingkungan

### Isolation and selection of cellulose-degrading soil fungi from several environments

Y.B. SUBOWO

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta Bogor Km 46 Cibinong, Bogor 16911, Jawa Barat. Tel.: +62-21-876156. Fax. +62-21-8765062. Email: yosubowo@yahoo.com

Manuskrip diterima: 3 Maret 2015. Revisi disetujui: 28 April 2015.

**Abstrak.** Subowo YB. *Isolasi dan seleksi jamur tanah pengurai selulosa dari berbagai lingkungan. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 423-427.* Telah dilakukan penelitian mengenai isolasi dan seleksi jamur tanah pengurai selulosa dari beberapa lingkungan di Kalimantan Barat, Jawa dan Bali. Beberapa jenis jamur tanah mempunyai kemampuan menguraikan senyawa selulosa yang terdapat dalam jaringan tumbuhan. Jamur ini dapat digunakan untuk menguraikan limbah berasal dari industri pertanian yang sebagian besar mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selain itu beberapa jenis jamur pengurai selulosa ini juga sudah dimanfaatkan untuk menghasilkan enzim selulase yang banyak digunakan dalam industri. Tujuan penelitian untuk memperoleh isolat jamur yang mempunyai kemampuan tinggi dalam menguraikan selulosa. Sampel tanah diambil dari beberapa lingkungan di Kalimantan Barat, Jawa dan Bali meliputi: tanah gambut, tanah kering, tanah pantai, tanah mangrove, dan tanah perkebunan. Sampel tanah dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi jamur yang terdapat di dalamnya. Hasil isolasi diperoleh 84 nomor isolat. Setelah ditumbuhkan pada media CMC diperoleh 77 isolat jamur yang membentuk *clear zone* (15 isolat membentuk *clear zone* besar dan 62 membentuk *clear zone* kecil) dan 7 isolat tidak membentuk. Setelah dilakukan seleksi lebih lanjut diperoleh jamur *Aspergillus niger* PA2 yang menghasilkan bobot miselium paling tinggi pada media mengandung CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*). Jamur ini mempunyai aktivitas enzim selulase 0,031 unit/mL, suhu optimum 50°C dan pH optimum 7.

**Kata kunci:** Jamur tanah, pengurai selulosa, *Aspergillus niger*

**Abstract.** Subowo YB. *Isolation and selection of cellulose-degrading soil fungi from several environments. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 423-427.* A research on the isolation and selection of cellulose-degrading soil fungi from several habitats in West Kalimantan, Java and Bali has been done. Some types of soil fungi including Ascomycetes have the ability to decompose cellulose compounds contained in the plant tissue. This fungus can be used to degrade the waste comes from industrial agriculture, mostly containing cellulose, hemicellulose, and lignin. In addition, some types of cellulose-degrading fungi have also been used to produce cellulase enzymes are widely used in industry. The aim of the research was to obtain fungal isolates that have the ability in cellulose degradation. Soil samples were taken from several habitats in West Kalimantan, Java and Bali, include peat land, dry land, the land of beaches, mangrove land, and agricultural land. Soil samples were taken to the laboratory for isolation of contained fungi. The results were obtained 84 numbers of isolates. After they grown on CMC medium obtained 77 isolates of fungi that form a clear zone (15 isolates from the large clear zone and 62 small clear zones) and 7 isolates did not form a clear zone. After the further selection was obtained *Aspergillus niger* PA2 which produces the highest weight of mycelium. This fungus has a cellulase enzyme activity of 0.031 units / mL, temperature optimum 50°C and pH optimum 7.

**Keywords:** soil fungi, cellulose decomposing, *Aspergillus niger*

#### PENDAHULUAN

Pada dekade terakhir ini banyak industri yang menggunakan bahan baku berasal dari tumbuhan. Penyusun jaringan tumbuhan adalah selulosa ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub>, hemiselulosa dan lignin. Keberadaan senyawa selulosa di alam cukup melimpah, setiap tahun dihasilkan 100 x 10<sup>9</sup> ton. Di alam senyawa ini cukup resistant dan sukar terurai. Sektor pertanian selain menghasilkan bahan-bahan yang dibutuhkan seperti beras, jagung, kedelai juga menghasilkan limbah mengandung selulosa, misalnya: jerami padi, batang jagung, batang dan daun ubi jalar,

batang dan daun kacang-kacangan dan lain-lain. Limbah lignoselulosa ini dapat diproses menjadi bahan yang berguna. Bahan lignoselulosa dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku konversi bioetanol karena penyusun utama dari lignoselulosa adalah selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa tersebut merupakan polisakarida yang apabila diproses lebih lanjut dapat menghasilkan etanol (Risdiyanto et al. 2009).

Beberapa jamur mempunyai kemampuan menguraikan selulosa yang terdapat dalam jaringan tumbuhan yang telah mati, misalnya limbah pertanian (jerami padi, ampas tebu, pelepah pisang) menjadi senyawa yang lebih sederhana

yang dapat dimanfaatkan oleh organisme lain. Jamur telah diketahui merupakan agen dekomposisi bahan organik khususnya selulosa. Kadarmoidheen et al. (2012) menggunakan jamur *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* dan *Fusarium oxysporum* untuk mendegradasi limbah selulosa. Dari hasil degradasi limbah, jamur *Trichoderma viride* menunjukkan kemampuan paling tinggi kemudian *Aspergillus niger* dan terakhir *Fusarium oxysporum*. Jamur *Helminthosporium* sp mempunyai kemampuan lebih tinggi dalam proses sakarifikasi jerami dibandingkan *Cladosporium* sp. (Sivaramanan 2014).

Beberapa jamur selulolitik juga telah dikembangkan untuk menghasilkan enzim selulase yang banyak dibutuhkan oleh industri. Enzim selulase memiliki beberapa aplikasi komersial seperti *maltng*, pengolahan kayu, persiapan pembuatan kain drill dari jaringan tanaman dan proses penghilangan tinta dari kertas cetak (Oyeleke, 2012). Enzim selulase dihasilkan oleh jamur *Chaetomium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Myrothosium* dan *Trichoderma* (Akinyele et al. 2013).

Lingkungan gambut, lingkungan mangrove, lingkungan tanah kering, lingkungan perkebunan dan lingkungan pantai di Kalimantan Barat, Jawa dan Bali memiliki kondisi yang berbeda dibandingkan dengan lingkungan biasa. Tentunya hal ini akan berdampak pada jenis dan sifat fisiologi mikroba yang terdapat di dalamnya. Lingkungan gambut yang umumnya memiliki pH rendah, tentunya memiliki mikroba yang tahan asam. Lingkungan tanah mangrove dan pantai yang berdekatan dengan laut memiliki mikroba tahan salinitas tinggi. Lingkungan tanah kering memiliki mikroba yang tahan pada kelembapan rendah. Penelitian untuk mencari jamur tanah yang mampu menguraikan selulosa di lingkungan gambut, tanah kering, tanah perkebunan dan lingkungan pantai di Kalimantan Barat, Jawa dan Bali terus dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat jamur yang mempunyai kemampuan tinggi menguraikan senyawa selulosa.

## BAHAN DAN METODE

### Pengambilan sampel tanah

Pengambilan sampel tanah sebagai sumber mikroba dilakukan pada beberapa lokasi yaitu Kalimantan Barat, Pantai Rambutsiwi Bali, Perbekuban Tebu di Jawa dll. Sampel tanah gambut diambil di Rasaujaya; sampel tanah mangrove diambil di Mempawah dan Singkawang; Sampel tanah kering diambil di desa Koroho kecamatan Mandor. Sampel tanah pantai diambil di Kabupaten Singkawang dan Pantai Rambutsiwi Jembrana dan sampel tanah perkebunan tebu diambil di Jawa Timur. Sampel tanah kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi terhadap jamur tanah yang terdapat di dalamnya.

### Isolasi jamur

Sampel tanah sebanyak 1 g dilarutkan dalam air steril 9 mL, kemudian dilakukan pengenceran. Pada pengenceran  $10^{-3}$  dan  $10^{-4}$  dilakukan *pour plate* pada media Taoge agar. Koloni jamur yang tumbuh kemudian dipindahkan pada media baru untuk pemurnian. Isolat jamur yang sudah

murni kemudian dipindahkan ke dalam *test tube* berisi media Taoge agar.

### Pertumbuhan jamur pada media CMC padat

Isolat jamur yang sudah murni ditumbuhkan pada media padat mengandung CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) pada cawan petri. Biakan diinkubasi pada suhu kamar selama satu minggu. Setelah itu dilakukan pengamatan, isolat jamur yang membentuk zona bening (*clear zone*) di sekitar koloni berarti menghasilkan enzim selulase. Isolat yang membentuk zona bening kemudian diseleksi lebih lanjut.

### Pertumbuhan jamur pada media CMC cair

Isolat jamur yang membentuk zona bening kemungkinan menghasilkan selulase. Isolat-isolat ini kemudian ditumbuhkan pada media cair mengandung CMC. Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu kamar, di atas shaker dengan kecepatan 115 rpm. Setelah 6 hari inkubasi, miselium jamur yang tumbuh pada media cair disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 kemudian dikeringkan di dalam oven selama 24 jam pada suhu 80°C (Garraway dan Evans 1991). Setelah itu berat miselium ditimbang, yaitu selisih berat antara kertas saring kosong dan kertas saring ditambah miselium.

### Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim selulase

Sebanyak 1 mL suspensi miselium jamur terpilih dimasukkan 9 mL bufer sitrat mengandung CMC 1%, kemudian diinkubasi di atas *shaker water bath* pada suhu 30°C, 40°C, 50°C, 60°C selama 30 menit. 0,5 mL filtrat + 1,5 mL DNS dipanaskan dalam *water bath* selama 5 menit, kemudian didinginkan, ditambah 10 mL aquadest. Kemudian dibaca absorbansi pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Jumlah gula reduksi yang terbentuk dihitung menggunakan kurva standard.

### Pengaruh pH media terhadap aktivitas enzim selulase

Sebanyak 1 mL suspensi miselium jamur terpilih dimasukkan 9 mL bufer sitrat mengandung CMC 1% dengan pH 3, 5, 7, 9, 11, kemudian diinkubasi di atas shaker selama 30 menit. 0,5 mL filtrat + 1,5 mL DNS dipanaskan dalam *water bath* selama 5 menit, kemudian didinginkan, ditambah 10 mL aquadest. Kemudian dibaca absorbansi pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Jumlah gula reduksi dihitung menggunakan kurva standard.

### Pengujian aktivitas enzim selulase jamur pada kondisi optimal

Sebanyak 1 mL suspensi miselium jamur terpilih dimasukkan 9 mL bufer sitrat mengandung CMC 1%, pH media terlebih dahulu diatur pada pH optimum. Kemudian kultur diinkubasi di atas *shaker water bath* pada suhu optimum selama 30 menit. 0,5 mL filtrat + 1,5 mL DNS dipanaskan dalam *water bath* selama 5 menit, kemudian didinginkan, ditambah 10 mL aquadest. Absorbansi dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Aktivitas enzim selulase dihitung menggunakan kurva standard.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Pengambilan sampel tanah sebagai sumber mikroba dilakukan pada beberapa lingkungan berbeda yang terdapat di Kalimantan Barat, Bali dan Jawa Timur. Lingkungan tersebut meliputi: lingkungan gambut, lingkungan pantai, lingkungan mangrove, lingkungan tanah kering dan lingkungan perkebunan. Setelah dilakukan isolasi, diperoleh 84 nomor isolat jamur (Tabel 1).

Lima belas isolat yang membentuk zona bening tebal (besar) kemudian ditumbuhkan pada media CMC cair, untuk mengetahui bobot miselium (biomassa) yang dihasilkan. Isolat PA2 menghasilkan bobot miselium paling besar, kemudian isolat TRY, isolat PA kemudian isolat yang lain dan terkecil isolat R 7.5 (Gambar 1).

Isolat jamur PA2 menghasilkan bobot miselium paling tinggi, berarti jamur ini mempunyai aktivitas enzim selulase paling tinggi dibandingkan isolat yang lain. Setelah dilakukan identifikasi isolat PA2 adalah *A. niger*.

Selanjutnya suspensi miselium *A. niger* PA2 direaksikan dengan bufer sitrat mengandung CMC 1%, kultur diinkubasi pada suhu 30-60°C, hal ini untuk mengetahui pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim selulase. Aktivitas enzim selulase mengalami kenaikan dari suhu inkubasi 30-50°C, setelah itu mengalami penurunan. Suhu 50°C merupakan suhu optimum untuk aktivitas enzim selulase *A. niger* PA2, hal ini terbukti pada suhu ini jumlah gula reduksi yang terbentuk paling tinggi (47 ppm) (Gambar 3).

Untuk mengetahui pengaruh pH media terhadap aktivitas enzim selulase, suspensi jamur direaksikan dengan bufer sitrat mengandung CMC 1%, pH media diatur dari 3 sampai 11. Aktivitas enzim selulase mengalami kenaikan dari pH media 3 sampai 7 kemudian mengalami penurunan sampai pH 11. Pada pH 7 aktivitas enzim adalah paling optimum, karena pada pH media ini jumlah gula reduksi yang dihasilkan adalah yang paling tinggi, yaitu 16 ppm (Gambar 4).

Untuk menghitung aktivitas enzim selulase, suspensi miselium jamur *A. niger* PA2 direaksikan dengan bufer sitrat mengandung CMC 1%, pH diatur 7 dan inkubasi pada suhu 50°C. Setelah 30 menit jumlah gula reduksi yang terbentuk sebanyak 0,170 mg. Jamur *A. niger* PA2 yang diperoleh dari tanah pantai di Pantai Rambutsiwi, Bali memiliki aktivitas enzim selulase 0,031 unit/mL.

### Pembahasan

Isolat jamur hasil isolasi dari beberapa lokasi di Kalimantan Barat, Bali dan Jawa Timur sebanyak 84 isolat, hal ini dapat dikatakan cukup banyak. Semua isolat termasuk kelompok Ascomycetes. Sampel tanah diambil dari daerah rhizozfer tanaman yang tumbuh di lokasi, di tempat ini memang banyak eksudat yang dihasilkan oleh tumbuhan, sehingga banyak mikroba yang dapat tumbuh di sini. Di lingkungan gambut diperoleh jamur yang paling banyak, gambut di sini sudah ditanami tanaman pangan sehingga kemungkinan sudah banyak mengandung nutrisi, pH gambut sudah mendekati netral yaitu 6,5 sehingga sudah banyak mikroba yang mampu tumbuh. Menurut

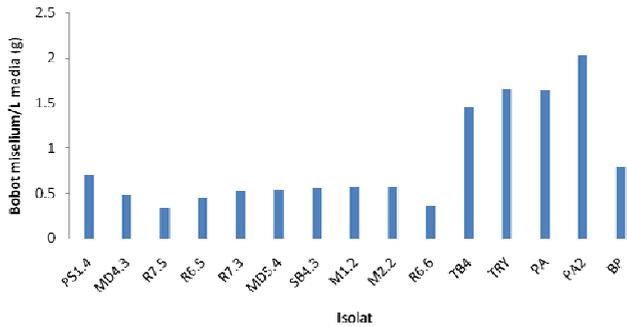
Blanchette (2000) jamur mikroskopis yang umumnya anggota Ascomycetes telah teradaptasi dengan baik terhadap lingkungan yang ekstrem. Jamur-jamur ini mempunyai toleransi yang lebih luas terhadap temperatur, pH, kekeringan, konsentrasi oksigen dan radiasi ultraviolet dibandingkan anggota kelompok Basidiomycetes.

Selanjutnya dilakukan seleksi dengan menumbuhkan jamur pada media mengandung Carboxy Methyl Cellulose (CMC) padat. Isolat yang menghasilkan zona bening (*clear zone*) berarti menghasilkan enzim selulase. Dari 84 nomor isolat yang diuji, ternyata sebagian besar membentuk zona bening; 62 isolat membentuk zona bening tipis (kecil), 15 isolat membentuk zona bening yang tebal (besar) dan 7

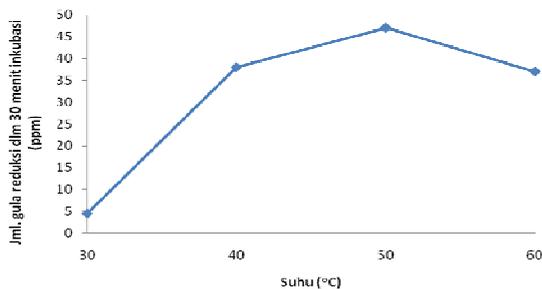
**Tabel 1.** Hasil isolasi jamur dan pertumbuhannya pada media mengandung CMC

Kode isolat	Pembentukan zona bening	Kode isolat	Pembentukan zona bening
R1.1	+	MD4.1	+
R1.2	+	MD4.2	+
R1.3	+	MD4.3	++
R2.1	+	MD5.1	+
R2.2	-	MD5.2	+
R2.3	+	MD5.3	+
R2.4	+	MD5.4	++
R3.1	-	PS1.1	+
R3.2	+	PS1.2	+
R3.3	+	PS1.3	+
R3.4	+	PS1.4	++
R3.5	-	PS1.5	+
R4.1	+	PS1.6	+
R4.2	+	PS1.7	+
R4.3	+	PS1.8	+
R4.4	+	PS2.1	+
R4.5	-	PS2.2	+
R4.6	+	Sing1.1	+
R4.7	+	Sing1.2	+
R4.8	+	Sing2.1	+
R6.1	+	Sing2.2	+
R6.2	+	M1.1	+
R6.3	-	M1.2	++
R6.4	+	M2.1	+
R6.5	++	M2.2	++
R6.6	++	K1.1	+
R7.1	+	K1.2	+
R7.2	+	K2.1	+
R7.3	++	K2.2	+
R7.4	+	SB1.1	+
R7.5	++	SB1.2	+
R8.1	+	SB3.1	+
R8.2	+	SB3.2	-
R8.3	+	SB3.3	+
R8.4	-	SB4.1	+
R8.5	+	SB4.2	+
MD1.1	+	SB4.3	++
MD1.2	+	TB4	++
MD1.3	+	TRY	++
MD2.1	+	PA	++
MD2.2	+	PA2	++
MD2.3	+	BP	++

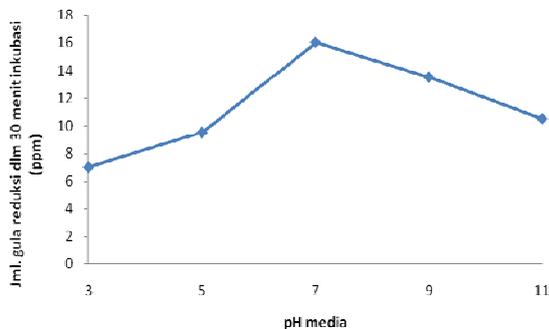
Keterangan: - : Tidak terbentuk zona bening, + : Terbentuk zona bening tipis (< 0,5 cm), ++ : Terbentuk zona bening tebal (> 0,5 cm)



**Gambar 1.** Bobot miselium isolat jamur pada media CMC



**Gambar 3.** Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim selulase *Aspergillus niger* PA2



**Gambar 4.** Pengaruh pH media terhadap aktivitas enzim selulase *Aspergillus niger* PA2

isolat tidak membentuk zona bening (Tabel 1). Daerah bening atau *clear zone* yang terbentuk di sekitar koloni jamur merupakan hasil degradasi CMC oleh enzim selulase. Koloni jamur yang membentuk zona bening menunjukkan bahwa jamur tersebut menghasilkan selulase. Besar kecilnya zona bening juga merupakan indikasi awal banyak sedikitnya enzim selulase yang dihasilkan, semakin besar zona bening yang dihasilkan kemungkinan enzim selulase yang dihasilkan semakin besar pula. Dari penelitian ini diperoleh 15 isolat jamur yang menghasilkan zona bening besar, maka lima belas isolat ini akan diseleksi lebih lanjut. Menurut Hankin dan Anagnostakis (1977) *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) adalah derivat selulosa yang larut dalam air. Senyawa ini merupakan substrat yang

berguna untuk mendeteksi produksi selulase karena cepat didegradasi oleh mikroorganisme.

Bobot miselium jamur yang dihasilkan pada media CMC cair digunakan untuk menseleksi jamur karena CMC di sini merupakan satu-satunya sumber karbon. Jamur yang dapat tumbuh baik di media ini dengan menghasilkan miselium (biomassa) paling tinggi berarti jamur tersebut dapat menggunakan CMC secara maksimal atau dengan kata lain jamur tersebut mempunyai aktivitas enzim selulase paling tinggi. Isolat jamur PA2 menghasilkan bobot miselium paling tinggi, berarti jamur ini mempunyai aktivitas enzim selulase paling tinggi dibandingkan isolat yang lain. Setelah dilakukan identifikasi isolat PA2 adalah *A. niger*. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Mahmood et al. (2006) yang melaporkan bahwa jamur tanah yang mampu mendegradasi selulosa didominasi oleh *Aspergillus* dan *Penicillium*. *A. niger* dan *Mucor hiemalis* keberadaannya paling tinggi yaitu, 45% dan 35% dari sekitar 80% sampel tanah.

Suhu berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase. Jamur *A. niger* PA2 mempunyai suhu optimum 50°C, artinya pada suhu ini aktivitas selulase yang paling tinggi. Untuk memperoleh hasil degradasi yang maksimum pada pengolahan limbah maka suhu inkubasi harus diatur pada suhu 50°C. Hasil ini sesuai dengan penelitian Mrudula dan Anitharaj (2011) yang menggunakan *A. niger* untuk fermentasi kulit jeruk menghasilkan pektinase. Produksi pektinase paling banyak diperoleh pada suhu 50°C. Demikian pula hasil penelitian Oyeleke et al. (2012) yang menggunakan *A. niger* untuk memfermentasi tongkol jagung menghasilkan selulase dan pektinase. Pada suhu 50°C diperoleh aktivitas selulase yang paling tinggi, yaitu  $1,3 \times 10^{-4}$  µg/mL/detik dan 60°C aktivitas pektinase paling tinggi, yaitu:  $1,6 \times 10^{-4}$  µg/mL/detik.

pH media berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase *A. niger* PA2, pada pH asam aktivitas semakin rendah dan pada pH basa aktivitas selulase juga semakin rendah. Pada pH 7 aktivitas enzim selulase adalah yang paling tinggi, karena pada pH ini jumlah gula reduksi yang dihasilkan adalah yang paling banyak. Gula reduksi merupakan hasil degradasi selulosa oleh enzim selulase, sehingga pH 7 merupakan pH optimum untuk *A. niger* PA2. Hasil ini sejalan dengan penelitian Gautam et al. (2010) yang menggunakan *A. niger* untuk memfermentasi limbah padat kota menghasilkan enzim selulase. Pada pH media 6-7 diperoleh enzim selulase yang paling tinggi. Sedangkan penelitian yang lain pH optimum lebih rendah. Sohail et al. (2009) menggunakan *A. niger* MS82 untuk fermentasi padat menghasilkan enzim selulase. Produksi enzim yang paling tinggi diperoleh pada pH media 4,0.

Jamur *A. niger* PA2 yang diperoleh dari tanah pantai di Pantai Rambutsiwi Bali memiliki aktivitas enzim selulase 0,031 unit/mL. Hasil ini masih lebih kecil dibandingkan penelitian Guruchandran dan Sasikumar (2010) yang menggunakan *A. niger* untuk fermentasi serbuk gergaji dan serasah. Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan adalah 0,0846 IU/mL dan 0,0682 IU/mL. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa jamur *A. niger* PA2 mampu mendegradasi selulosa dan memiliki aktivitas enzim selulase 0,031 unit/mL, suhu optimum 50°C dan pH

optimum 7. Jamur ini dapat digunakan untuk mendegradasi limbah selulosa baik dari sektor pertanian maupun dari industri kertas.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kepala Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong, Bogor atas kesempatan yang diberikan untuk melakukan penelitian ini dan sejumlah pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Akinyele JB, Olaniyi OO. 2013. Investigation of the cellulases production by *Aspergillus niger* NSPR002 in different cultivation condition. *Innov Romanian Food Biotechnol* 13: 71-79.
- Blanchette RA. 2000. A review of microbial deterioration found in archaeological wood from different environments. *Intl Biodeter Biodegrad* 46:189-204.
- Garraway MO, Evans RC. 1991. *Fungal Nutrition and Physiology*. Krieger Publishing Company, Malabar, FL.
- Gautam SP, Bundela PS, Pandey AK, Khan J, Awasthi MK. 2010. Optimization for the production of cellulase enzyme from municipal solid wastes residue by two novel cellulolytic fungi. *SAGE-Hindawi* DOI: 10.4061/2011/810425.
- Guruchandran V, Sasikumar C. 2010. Cellulase production by *Aspergillus niger* fermented in sawdust and bagasse. *J Cell Tiss Res* 10 (1): 2115-2117.
- Hankin L, Anagnostakis SL. 1977. Solid media containing Carboxymethylcellulose to detect Cx Cellulase activity of microorganisms. *J Gen Microbiol* 98: 109-115.
- Kadarmoidheen M, Saranraj P, Stella D. 2012. Effect of cellulolytic fungi on the degradation of cellulosic agricultural wastes. *Intl J Appl Microbil Sci* 1 (2): 13-23.
- Mahmood K, Wei-jun Y, Nazir K, Iqbal RZ, Abdullah AG. 2006. Study of cellulolytic soil fungi and two nova species and new medium. *J Zhejiang Univ* 7 (6): 459-466.
- Mrudula S, Anitharaj R. 2011. Pectinase production in solid fermentation by *Aspergillus niger* using orange peel as substrate. *Global J Biotechnol Biochem* 6 (2): 64-71.
- Oyeleke SB, Oyewole OA, Egwim EC, Dauda BEN, Ibeh EN. 2012. Cellulase and pectinase production potentials of *Aspergillus niger* isolated from corn cob. *Bajopas* 5 (1): 78-83.
- Risdianto H, Sofianti E, Suhardi SH, Setiadi T. 2009. Produksi lakase menggunakan fermentasi padat (*solid state fermentation*) dari limbah hasil pertanian. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia*, Bandung 19-20 Oktober 2009.
- Sivaramanan S. 2014. Isolation of cellulolytic fungi and their degradation on cellulosic agricultural wastes. *J Acad Industr Res* 2 (8): 458-463.
- Sohail M, Siddiqi R, Ahmad A, Khan AS. 2009. Cellulase production from *Aspergillus niger* MS82: effect of temperature and pH. *New Biotechnol* 25 (6): 437-441.