



OPTIMASI PROSES *BIODEGUMMING* SERAT RAMI (*Boehmeria nivea*) MENGGUNAKAN BAKTERI PEKTINOLITIK

THE OPTIMIZATION OF BIODEGUMMING PROCESS OF RAMIE (*Boehmeria nivea*) FIBER USING PECTINOLYTIC BACTERIA

Muhammad Abdul Aziz, Fauziatul Fitriyah, Priyono, Siswanto*

Pusat Penelitian Kelapa Sawit Unit Bogor, Jl. Taman Kencana No. 1 Bogor, Indonesia 16128

*Corresponding author: siswanto99@yahoo.com

Naskah Diterima: 12 April 2021; Direvisi: 1 Mei 2021; Disetujui: 25 Januari 2023

Abstrak

Proses *degumming* serat rami umumnya dilakukan menggunakan senyawa alkali dalam jumlah besar, sehingga dihasilkan limbah berlebih dan berakibat pada pencemaran lingkungan. Oleh sebab itu, metode alternatif dengan memanfaatkan agensia hayati untuk mengatasi permasalahan tersebut penting untuk dikembangkan. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan seleksi kandidat *bacterial degumming* dari kulit batang rami serta optimasi metode *biodegumming* menggunakan isolat bakteri pektinolitik. Bakteri pektinolitik diisolasi dari kulit batang rami yang terkomposkan menggunakan media seleksi pektinase (PSAM). Isolat bakteri yang diperoleh kemudian digunakan sebagai agensia *biodegumming* menggunakan beberapa parameter optimasi meliputi pH (8,5 dan 9), suhu (25 °C dan 37,5 °C), jenis isolat (Pe-Ku 1, Pe-Ku 4, dan Pe-Ku 6) dan jumlah inokulum (1/50 mL, 2/50 mL, dan 3/50 mL). Setelah inkubasi selama 3 hari, serat rami dicuci kemudian ditimbang bobot kering untuk mengetahui penurunan bobotnya. Analisis statistik dilakukan menggunakan *two-way ANOVA* dengan uji lanjut Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa telah diperoleh 9 isolat bakteri pektinolitik sebagai agensia *bacterial degumming*. Berdasarkan optimasi metode *biodegumming* telah diperoleh kondisi optimum yaitu pada pH 8,5; suhu 37,5 °C; serta jumlah inokulum 3/50 mL dengan menggunakan isolat Pe-Ku 6. Hal tersebut ditandai dengan penurunan bobot rami yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kombinasi perlakuan lain, yaitu sebesar 12,7%.

Kata Kunci: Bakteri *degumming*; Bakteri pektinolitik; Kulit batang rami; Serat rami

Abstract

The *degumming* process of ramie fiber is generally carried out by using large amounts of alkaline compounds, causing excessive waste and environmental pollution. Therefore, it is essential to develop alternative methods by utilizing biological agents to overcome these problems. This study aimed to select candidates for *bacterial degumming* from ramie bark and to optimize the *biodegumming* method using pectinolytic bacterial isolates. Pectinolytic bacteria were isolated from composted ramie bark using pectinase screening agar medium (PSAM). The bacterial isolates were then used as *biodegumming* agents using several optimization parameters, including pH (8.5 and 9.0), temperature (25 °C and 37.5 °C), type of isolate (Pe-Ku 1; Pe-Ku 4; and Pe-Ku 6) and the amount of inoculum (1/50 mL, 2/50 mL, and 3/50 mL). After incubation for three days, the ramie fiber was washed, and then measured the dry weight to determine the weight reduction. The statistical analysis was performed using *two-way ANOVA* with Duncan as the post hoc test. The results showed that nine isolates of pectinolytic bacteria were obtained as *bacterial degumming* agents. In addition, based on the optimization of the *biodegumming* method, the optimum conditions were obtained at pH 8.5, temperature 37.5 °C, and the amount of inoculum 3/50 mL using the Pe-Ku 6 isolate. That was indicated by the percentage of ramie weight loss, which was significantly higher than the other combination treatments, 12,7%.

Keywords: *Bacterial degumming*; Pectinolytic bacteria; Ramie bark; Ramie fiber

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v16i1.20386>

PENDAHULUAN

Rami (*Boehmeria nivea*) merupakan tanaman tahunan berbentuk rumpun sebagai penghasil serat kain yang diperoleh dari kulit kayunya. Serat rami dikenal memiliki karakteristik yang kuat dan lembut, sehingga banyak digunakan dalam industri tekstil sebagai bahan baku kain dengan kualitas tinggi. Proses pengolahan serat rami melalui beberapa tahapan, yaitu dekortifikasi, *degumming*, pemutihan serat, pelurusan serat, pemotongan serat, dan penguraian *bundle* (Aniq et al., 2014; Zheng et al., 2001). *Degumming* merupakan tahapan yang paling penting karena setelah proses dekortifikasi, serat rami masih mengandung *gum* sekitar 20–35%. Kandungan *gum* yang tinggi menyebabkan serat kain bersifat kasar dan kaku. Untuk menghasilkan serat kain yang berkualitas, *gum* harus didegradasi secara maksimum hingga menjadi 1,5–2,5% (Zheng et al., 2001). Shu et al. (2020) menyatakan bahwa kadar *gum* setelah *degumming* menggunakan isolat *Pectobacterium carotovorum* strain HG-49 tersisa hanya 1,85%.

Gum dalam serat kasar rami didominasi oleh senyawa pektin dan xilan yang larut dalam alkali. Proses penghilangan *gum* disebut *degumming* yang umumnya dilakukan secara kimiawi dengan merendam serat kasar rami ke dalam larutan alkali selama beberapa jam dan disertai dengan pemanasan (Jose et al., 2016). Senyawa kimia yang biasa digunakan meliputi NaOH, surfaktan, Na₂CO₃, Ca(OH)₂, Na-sulfit, Na-tripolifosfat, dan teepol. Penggunaan berbagai senyawa tersebut tidak ramah lingkungan, karena proses *degumming* menggunakan bahan kimia dalam jumlah besar dan disertai dengan pemanasan yang tentunya dapat mencemari lingkungan. Selain itu, Pengolahan limbah yang dihasilkan memerlukan biaya berlebih, hingga akhirnya limbah dapat dialirkan ke saluran pembuangan (Aniq et al., 2014; Saikia et al., 2009). Permasalahan tersebut belum terselesaikan dan sekaligus menjadi tantangan untuk dikembangkan metode *biodegumming*, karena proses *degumming* yang ramah lingkungan belum dapat secara optimal menurunkan kadar *gum* dan menyaingi proses *degumming* secara kimiawi skala industri.

Berbagai upaya telah dilakukan dalam mencari metode alternatif untuk meminimalkan penggunaan senyawa kimia tersebut seperti pencarian kandidat mikroba sebagai agensia *bacterial degumming* serta penggunaan enzim ekstraseluler atau *enzymatic degumming* yang dihasilkan oleh mikroba tersebut. Hasil penelitian menyatakan bahwa berbagai *strain* bakteri alkalofilik telah dipelajari berdasarkan aktivitas enzim-enzim yang berperan dalam mendegradasi *gum* (Zheng et al., 2001). Selain itu, kombinasi isolat *Bacillus subtilis*, *Aspergillus* sp., dan *Curvularia* sp., diketahui memiliki kemampuan *biodegumming* yang tinggi, hal ini ditandai dengan penurunan kadar *gum* yang sejalan dengan lama waktu inkubasi, yaitu hingga 8 jam (Saikia et al., 2009). Hal ini diduga karena berbagai isolat tersebut menghasilkan enzim-enzim pendegradasi *gum* seperti pektinase maupun xilanase.

Proses *degumming* alternatif secara enzimatik yang diisolasi dari *Bacillus* sp. menunjukkan bahwa pektinase dan protease merupakan enzim utama yang berperan dalam menurunkan kadar *gum* serat rami. Selain itu, telah dilaporkan bahwa kombinasi pektinase dan protease dari isolat tersebut diketahui memiliki peran sinergis dalam menurunkan kadar *gum*, yang berarti bahwa protease menjadi salah satu faktor penentu efektivitas *enzymatic degumming* (Guo et al., 2013). Penurunan kadar *gum* hingga tersisa 5,36% dalam kurun waktu kurang dari 24 jam juga pernah dilaporkan oleh Biswas et al. (2016) dengan memanfaatkan kombinasi enzim pektinolitik dan hemiselulolitik. Fan et al. (2015) menyatakan bahwa aplikasi bakteri *Bacillus* sp. HG-28 sebagai agensia *biodegumming* dilaporkan telah efektif untuk menurunkan kadar *gum* hingga tersisa 1,81% selama 16 jam.

Enzim pektinase yang dihasilkan oleh bakteri pektinolitik memiliki peranan strategis di bidang industri (Oumer & Abate, 2018) yaitu merupakan salah satu kandidat utama dalam mendegradasi *gum*, sehingga eksplorasi agensia tersebut sangat penting untuk dilakukan. Seleksi dan karakterisasi bakteri pektinolitik telah dilakukan dari berbagai sampel seperti limbah kulit jeruk (Widowati et al., 2014), sistem pencernaan serangga penggerek kopi (Kusiyanto et al., 2019), lahan tanaman *mangrove* (Al Asna et al., 2017), lahan gaharu (Ed-har et al., 2017) dan lahan perkebunan rami (Cheng et al., 2021; Wang et al., 2017). Pektinase secara alami terdapat pada berbagai organisme dan telah banyak diisolasi dari fungi seperti *Aspergillus indicus*, *A. flavus*, dan *A. niveus*

(Angayarkanni et al., 2002), dan dari bakteri seperti *Bacillus sphaericus* (Jayani et al., 2010). Al Asna et al. (2017) menambahkan bahwa *Pseudomonas pseudomallei* yang diisolasi dari tanah mangrove memiliki indeks hidrolisis pektinolitik tertinggi yaitu 7,12. Oleh sebab itu, berbagai isolat bakteri maupun jamur memiliki potensi sebagai kandidat *biodegumming* untuk meminimalkan limbah, mengurangi konsumsi energi, serta memangkas biaya pengolahan serat rami.

Pertumbuhan bakteri beserta aktivitas enzim-enzim target yang dihasilkan dipengaruhi oleh berbagai kondisi lingkungan, sehingga isolat bakteri pendegradasi *gum* yang diisolasi dari berbagai sumber perlu dilakukan optimasi untuk mengetahui kondisi optimum sebagai agensia *biodegumming* serat rami. Degradasi *gum* sebesar 8,7% melalui proses *biodegumming* pernah dilakukan oleh Aniq et al. (2014). Degradasi *gum* tersebut belum cukup untuk menghasilkan serat rami dengan kualitas tinggi. Selain itu faktor waktu inkubasi, konsentrasi isolat, dan kondisi inkubasi menjadi faktor penentu efektifitas proses *biodegumming*. Oleh sebab itu, eksplorasi agensia hayati yang berpotensi sebagai kandidat *biodegumming* beserta kondisi optimumnya sangat penting untuk dilakukan. Pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri pektinolitik dari kulit batang rami yang terkomposkan, kemudian dilakukan optimasi sebagai kandidat *biodegumming* serat rami. Dengan demikian, tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan seleksi kandidat *bacterial degumming* dari kulit batang rami serta optimasi metode *biodegumming* menggunakan isolat bakteri pektinolitik.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia (PPBBI) pada bulan Juni sampai Agustus 2020. Sampel yang digunakan untuk seleksi kandidat bakteri pektinolitik sebagai agensia *bacterial degumming* adalah kulit batang rami yang mengalami pembusukan atau terkomposkan. Desain percobaan menggunakan rancangan acak lengkap faktorial (RALF) dengan 4 parameter optimasi yaitu jenis isolat, jumlah inokulum, pH, dan suhu inkubasi. Berdasarkan 4 parameter tersebut diperoleh 36 kombinasi perlakuan yang dilakukan dengan 3 ulangan. Optimasi *biodegumming* awal dilakukan pada 9 isolat bakteri pektinolitik hingga diperoleh 3 isolat potensial untuk selanjutnya digunakan pada optimasi lanjut. Kegiatan penelitian meliputi seleksi dan isolasi bakteri pektinolitik menggunakan *pectinase screening agar medium* (PSAM) serta optimasi metode *biodegumming* menggunakan beberapa isolat potensial terpilih.

Screening Kandidat Bakteri Pektinolitik

Sebanyak 10 g sampel dilarutkan ke dalam 90 mL aquades steril, dan dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-6} . Seleksi mikrobial dilakukan dengan menumbuhkan bakteri dari sampel yang diencerkan pada media seleksi PSAM (NaNO₃ 2 g, KCl 0,5 g, MgSO₄ 0,5 g, K₂HPO₄ 1 g, tripton 0,5 g, Agar 20 g, dan pektin 10 g, dalam 1 L media). Sampel pada seri pengenceran 10^{-5} dan 10^{-6} dikulturkan dengan metode *spreading* pada media seleksi. Zona bening yang terbentuk maupun pertumbuhan bakteri menunjukkan aktivitas pektinase (Ed-har et al., 2017). Selanjutnya, koloni tunggal yang terbentuk dilakukan identifikasi secara morfologi menurut Varghese dan Joy (2014), kemudian dilakukan subkultur menggunakan media NA *plate* hingga diperoleh kultur murni dan disimpan dalam media NA miring.

Optimasi Metode *Bacterial Degumming*

Optimasi metode *bacterial degumming* dilakukan menggunakan 9 isolat murni yang diperoleh dari media seleksi PSAM. 9 isolat tersebut meliputi Pe-Ku 1, Pe-Ku 2, Pe-Ku 3, Pe-Ku 4, Pe-Ku 5, Pe-Ku 6, Pe-Ku 7, Pe-Ku 8, dan Pe-Ku 9. Perbanyak inokulum dilakukan menggunakan media cair yang mengacu pada Guo et al. (2013) yang terdiri dari dextrose 10 g; pepton 5 g; pektin 5 g; NaCl 5 g; K₂HPO₄ 10 g; dan MgSO₄.7H₂O 0,5 g, dalam 1 L media. Proses *biodegumming* dilakukan pada larutan garam seperti yang dilaporkan oleh Zheng et al. (2001) yaitu K₂HPO₄ 1 g; NaNO₃ 3 g; Na₂CO₃ 10 g/L H₂O, pH 10 yang disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Optimasi awal dilakukan dengan cara merendam 3 g serat

rami dalam 50 mL larutan garam pada botol jam steril dengan menambahkan 1 mL inokulum, kemudian diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruang 25 °C.

Beberapa isolat potensial dengan persentase penurunan *gum* tertinggi digunakan untuk proses optimasi selanjutnya. Optimasi berikutnya dilakukan dengan menggunakan 3 isolat potensial yaitu Pe-Ku 1, Pe-Ku 4, dan Pe-Ku 6 pada media yang sama namun diperkaya dengan menambahkan 5 mL ekstrak daging sapi. Serat rami diinkubasi selama 3 hari dengan mengikuti beberapa parameter optimasi seperti jumlah inokulum (1, 2, dan 3 mL dalam 50 mL larutan garam), suhu (25 dan 37,5 °C), dan pH (8,5 dan 9), sehingga diperoleh 36 kombinasi perlakuan. Setiap hari selama inkubasi dilakukan pengamatan terhadap perubahan pH media. Setelah 3 hari inkubasi, serat rami dicuci kemudian ditimbang bobot keringnya dengan cara dikeringkan menggunakan oven pada suhu 65 °C selama 2 hari atau hingga mencapai bobot konstan.

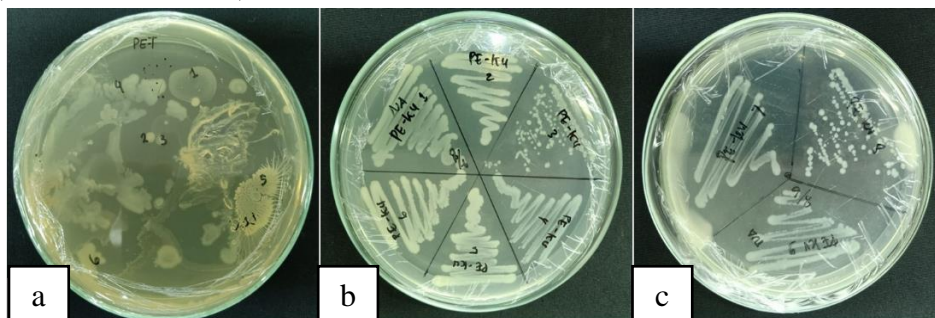
Analisis Data

Data yang diperoleh berupa persentase penurunan bobot rami kering pada 36 kombinasi perlakuan dilakukan analisis statistik menggunakan uji ANOVA dengan uji lanjut (*posthoc*) Duncan. Analisis tersebut dilakukan menggunakan aplikasi SPSS 16.0 untuk mengetahui interaksi antar parameter optimasi dan perbedaan nilai signifikansi antar kelompok perlakuan pada parameter penurunan bobot rami.

HASIL

Screening Isolat Bakteri Pektinolitik

Isolasi bakteri pektinolitik dari kulit batang rami yang terkomposkan dilakukan untuk memperoleh kandidat bakteri pektinolitik sebagai agensia *biodegumming*. Berdasarkan *screening* awal menggunakan media PSAM, diperoleh 9 isolat bakteri potensial sebagai agensia *biodegumming* (Gambar 1a). Beberapa koloni bakteri yang tumbuh dimurnikan dengan metode kuadran pada media NA *plate* hingga dihasilkan koloni tunggal. Koloni tunggal yang berhasil dimurnikan dilakukan subkultur pada media NA *plate* atau NA miring sebagai isolat stok. Berdasarkan hasil seleksi, diperoleh 9 isolat murni bakteri pektinolitik yang diperoleh dari kulit batang rami (Gambar 1b dan 1c).

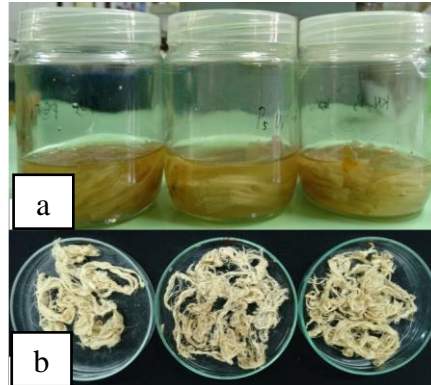


Gambar 1. Koloni bakteri yang tumbuh pada media seleksi pektinase (a) dan 9 isolat dari media seleksi pektinase yang disubkultur ke media NA *plate* (b & c)

Tabel 1. Karakteristik koloni bakteri pektinolitik dari kulit batang rami

Kode isolat	Karakteristik koloni				
	Ukuran	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna
Pe-Ku 1	<i>Moderate</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	Putih
Pe-Ku 2	<i>Small</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	Kuning gading
Pe-Ku 3	<i>Pinpoint</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	Putih
Pe-Ku 4	<i>Moderate</i>	<i>Irregular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	Putih
Pe-Ku 5	<i>Moderate</i>	<i>Filamentous</i>	<i>Lobate</i>	<i>Flat</i>	Kuning gading
Pe-Ku 6	<i>Moderate</i>	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Flat</i>	Kuning gading
Pe-Ku 7	<i>Moderate</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	Bening/transparan
Pe-Ku 8	<i>Small</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	Putih
Pe-Ku 9	<i>Small</i>	<i>Irregular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	Putih

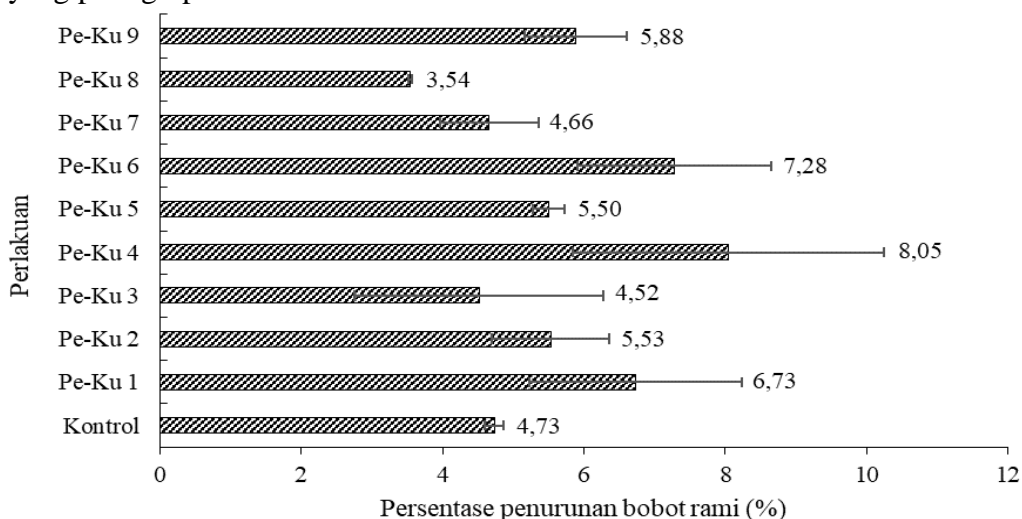
Sejumlah 9 isolat yang diperoleh diduga merupakan 9 spesies berbeda, sesuai dengan pengamatan karakteristik morfologi pada Tabel 1. Sejumlah 5 isolat diketahui memiliki ukuran sedang (*mosetare*) yaitu Pe-Ku 1, Pe-Ku 4, Pe-Ku 5, Pe-Ku 6, dan Pe-Ku 7. Sementara itu, Pe-Ku 2, Pe-Ku 8, dan Pe-Ku 9 memiliki ukuran kecil (*small*) serta Pe-Ku 3 membentuk titik-titik (*pinpoint*). Pada pengamatan bentuk koloni, 5 isolat teramati memiliki bentuk membulat (*circular*) yaitu Pe-Ku 1, Pe-Ku 2, Pe-Ku 3, Pe-Ku 7, Pe-Ku 8, sedangkan bentuk tidak beraturan (*irregular*) dan berserat (*filamentous*) teramati pada Pe-Ku 4, Pe-Ku 6, serta Pe-Ku 9 dan Pe-Ku 5 secara berturut-turut. Pada pengamatan tepian (mayoritas teramati memiliki tepian rata (*entire*), kecuali pada Pe-Ku 5 dan Pe-Ku 6 yang teramati bergelombang (*lobate*) dan berserat halus (*undulate*). Pada pengamatan elevasi, 6 isolat teramati rata (*flat*) dan 3 isolat timbul (*raised*), sedangkan warna 5 isolat teramati putih (Pe-Ku 1, Pe-Ku 3, Pe-Ku 4, Pe-Ku 8, dan Pe-Ku 9), 3 kuning gading (Pe-Ku 2, Pe-Ku 5 dan Pe-Ku 6) serta 1 bening/ transparan (Pe-Ku 7).



Gambar 2. Kondisi inkubasi proses *biodegumming* (a) dan serat rami setelah dilakukan pengeringan (b)

Optimasi Metode *Bacterial Degumming*

Kondisi inkubasi proses *biodegumming* serta kenampakan serat rami kering setelah perlakuan dan pencucian dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan optimasi awal diperoleh 3 isolat potensial dengan persentase penurunan bobot rami tertinggi yaitu Pe-Ku 1, Pe-Ku 4, dan Pe-Ku 6 yaitu sebesar 6,73%; 8,05%; dan 7,28% secara berturut-turut (Gambar 3). Persentase penurunan bobot rami tersebut hampir dua kali lipat lebih tinggi dibandingkan kontrol yang mana hanya berkisar 4,73%. Oleh sebab itu, 3 isolat tersebut kemudian digunakan untuk optimasi *bacterial degumming* tahap selanjutnya. Berdasarkan analisis interaksi (Tabel 2), ke empat parameter optimasi yang meliputi jenis isolat, jumlah inokulum, pH, dan suhu menunjukkan signifikansi interaksi ($P < 0,05$), sehingga dapat dilakukan uji lanjut (*posthoc*) untuk mengetahui nilai signifikansi kombinasi perlakuan yang paling optimum.



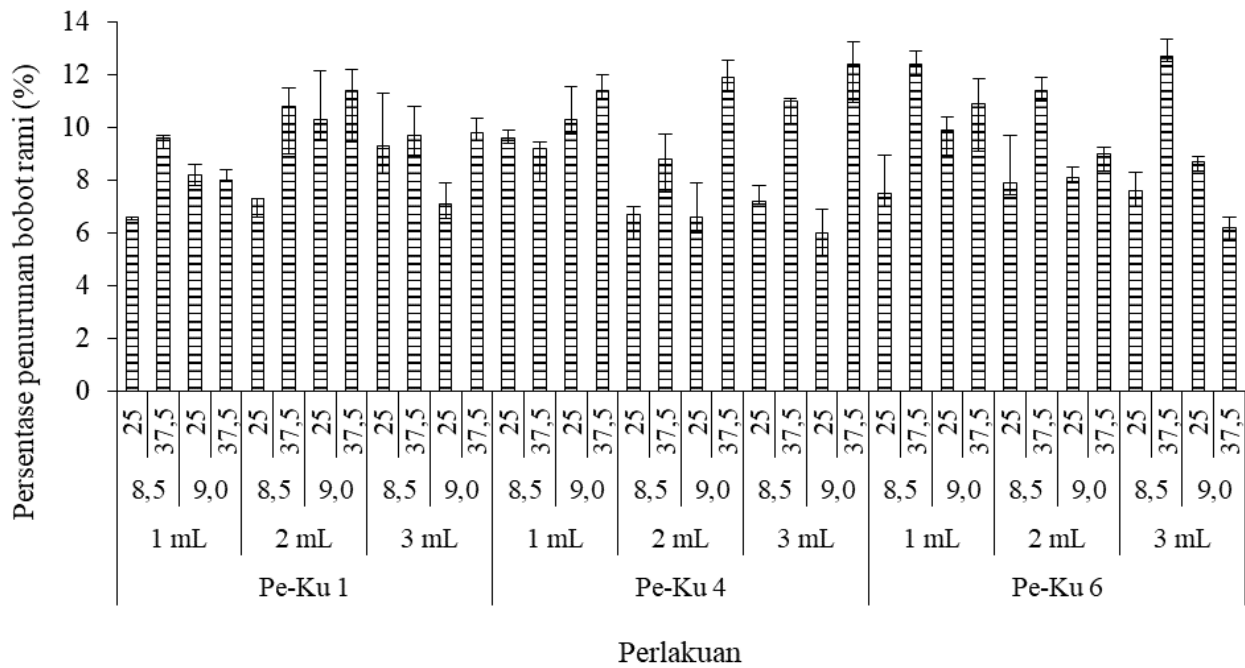
Gambar 3. Persentase penurunan bobot rami pada optimasi awal menggunakan 9 isolat bakteri pektinolitik

Tabel 2. Nilai signifikansi interaksi antar parameter optimasi *biodegumming*

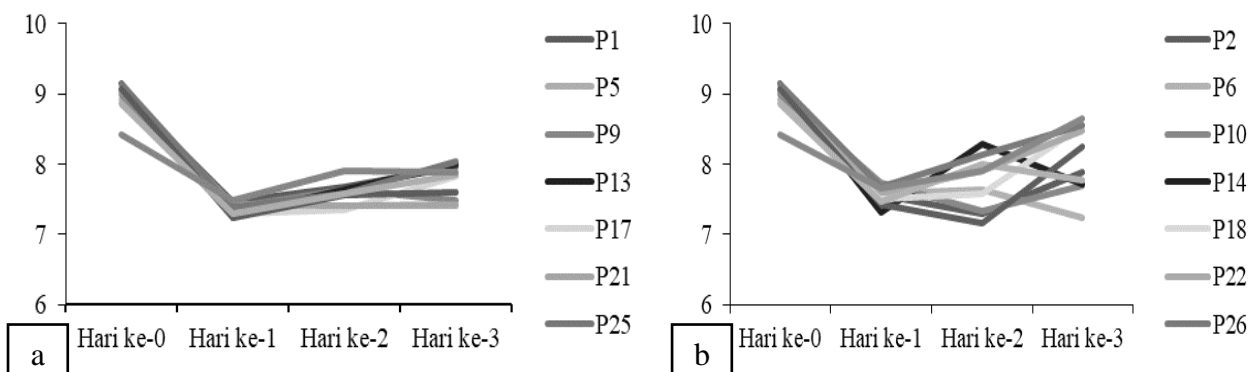
Interaksi	Notasi
Jenis isolat	ns
Jumlah inokulum	ns
pH	ns
Suhu	s
Jenis isolat*jumlah inokulum	s
Jenis isolat*pH	s
Jenis isolat*suhu	ns
Jumlah inokulum*pH	s
Jumlah inokulum*suhu	ns
pH*suhu	ns
Jenis isolat*jumlah inokulum*pH	ns
Jenis isolat*jumlah inokulum*suhu	s
Jenis isolat*pH*suhu	s
Jumlah inokulum*pH*suhu	ns
Jenis isolat*jumlah inokulum*pH*suhu	s

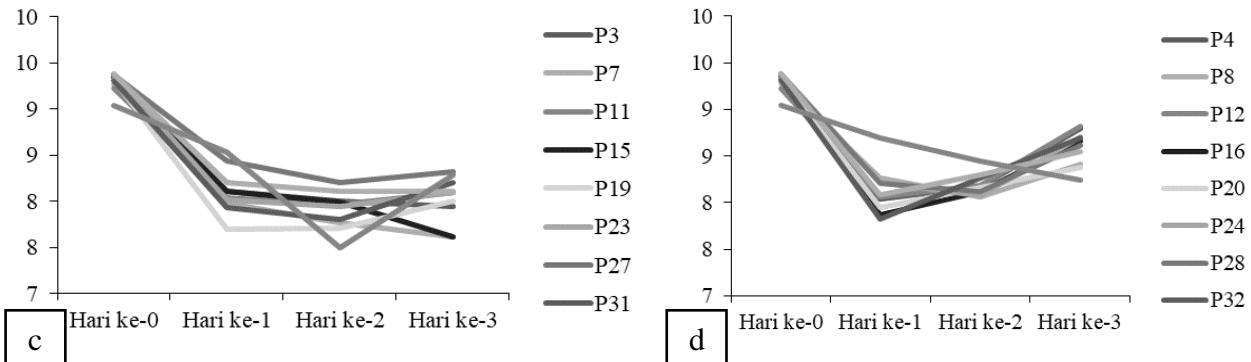
Keterangan: ns= tidak signifikan, s= signifikan (P <0,05)

*



Gambar 4. Persentase penurunan bobo rami pada 36 kombinasi parameter optimasi *bacterial degumming* (Keterangan: *= berbeda signifikan, P <0,05)





Gambar 5. Perubahan pH pada masing-masing kondisi biodegumming yaitu pH 8,5 suhu 25 °C (a); pH 8,5 suhu 37,5 °C (b), pH 9 suhu 25 °C (c), dan pH 9 suhu 37,5 °C (d)

Persentase penurunan bobot rami pada 36 kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4. Kombinasi perlakuan dengan penurunan bobot rami tertinggi yaitu pada kondisi inkubasi suhu 37,5 °C; pH 8,5; jumlah inokulum 3/50 mL media; dan jenis isolat Pe-Ku 6. Kondisi *biodegumming* tersebut menunjukkan perbedaan persentase penurunan bobot rami yang signifikan terhadap setiap kelompok perlakuan, yaitu sebesar 12,7%. Hasil tersebut merupakan persentase penurunan bobot rami tertinggi di antara perlakuan yang lain. Selama 3 hari inkubasi, dinamika perubahan pH media dapat dilihat pada Gambar 5. Pada hari ke-0, pH media pada setiap perlakuan teramati pada kisaran 9–9,5 kemudian turun menjadi 7,75–8,5 pada hari ke-3 inkubasi.

PEMBAHASAN

Setelah 3 hari inkubasi diperoleh beberapa koloni bakteri yang tumbuh pada media *screening* pektinase (Gambar 1a). Media seleksi PSAM memiliki sumber karbon tunggal berupa pektin, sehingga bakteri yang mampu tumbuh pada media tersebut diduga memiliki aktivitas pektinolitik. Hasil penelitian Ed-har et al. (2017) menyatakan bahwa isolat bakteri pendegradasi pektin menunjukkan pertumbuhan pada media seleksi pektinase yang disertai dengan pembentukan zona bening setelah dilakukan pewarnaan menggunakan *iodine* (*iodine gram*). Pada penelitian ini diperoleh 9 isolat bakteri pektinolitik yang kemudian berhasil dimurnikan dalam media NA. Dari 9 isolat tersebut diperoleh 3 isolat potensial dengan optimasi suhu dan konsentrasi optimal. Guo et al. (2013) melaporkan bahwa beberapa strain bakteri *Bacillus* sp. seperti Y1, Y4, Y5, Y6, dan Y8 berpotensi menghasilkan enzim potensial untuk mendegradasi *gum* serat rami. Shu et al. (2020) menambahkan bahwa *Pectobacterium carotovorum* strain HG-49 telah berhasil dikarakterisasi sebagai agensia *biodegumming* yang efisien dan ramah lingkungan. Selain itu, *Bacillus cereus* strain P05 dan *Pseudomonas* sp. strain X12 yang diisolasi dari kebun rami diketahui memiliki aktivitas pektinase dan xilanase tinggi (Wang et al., 2017).

Isolat bakteri yang diperoleh dari berbagai jenis sampel tentunya memiliki identitas dan karakter morfologi maupun fisiologi masing-masing. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan secara morfologi pada koloni bakteri yang diperoleh meliputi ukuran (*size*), bentuk (*form*), elevasi (*elevation*), tepi (*margin*), dan warna (*color*) (Aji & Lestari, 2020; Varghese & Joy, 2014). Beberapa parameter tersebut digunakan sebagai dasar untuk membedakan antar isolat sebelum dilakukan identifikasi secara lebih detail seperti menggunakan teknik biologi molekuler. Hasil pengamatan karakteristik morfologi dari 9 isolat bakteri terpilih dapat dilihat pada Tabel 1. Sejumlah 9 isolat yang diperoleh dari kulit batang rami mayoritas memiliki ukuran sedang (*moserate*), bentuk membulat (*circular*), tepian rata (*entire*), elevasi rata (*flat*), dan berwarna putih.

Berbagai isolat bakteri maupun jamur pendegradasi *gum* telah banyak diisolasi dari berbagai sumber. Widowati et al. (2014) menyatakan bahwa isolat bakteri pektinolitik dari limbah kulit jeruk termasuk ke dalam kelompok bakteri gram negatif dan tidak menghasilkan spora. Al Asna et al. (2017) menambahkan bahwa 5 isolat bakteri pektinolitik yang diperoleh dari sampel tanah *mangrove* meliputi *Vibrio parahemolyticus*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Listeria monocytogenes*, dan *Bacillus cereus*. Sementara itu, isolat dengan indeks pelarutan selulosa

dan pektin terbaik dari sampel tanah kebun gaharu diketahui merupakan *Bacillus brevis* (Ed-har et al., 2017). Kusiyanto et al. (2019) juga menyatakan bahwa berdasarkan hasil isolasi bakteri pada sampel sistem pencernaan serangga penggerek kopi diperoleh 15 isolat bakteri pektinolitik endosimbion, dengan beberapa isolat di antaranya termasuk golongan *Enterobacter* sp., *Actinobacillus* sp., *Micrococcus* sp., dan *Chromobacteria* sp. Cheng et al. (2021) menambahkan bahwa beberapa isolat potensial untuk *degumming* yang diisolasi dari tanah di sekitar kompos rami meliputi *Bacillus aryabhatai*, *Bacillus thuringiensis*, *Lysinibacillus fusiformis*, dan *Acidovorax temperans*, dengan *B. thuringiensis* merupakan kandidat terbaik dan potensial untuk diaplikasikan skala industri.

Optimasi proses *bacterial degumming* dilakukan pada beberapa parameter yaitu pH dan suhu inkubasi serta jenis dan jumlah inokulum dengan waktu inkubasi selama 3 hari. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, Saikia et al. (2009) mengungkapkan bahwa penurunan kadar *gum* secara ekstrem terjadi pada inkubasi 3 hari pertama, kemudian cenderung melandai hingga hari ke-8. Optimasi awal dilakukan pada 9 isolat yang diperoleh menggunakan pH 8,5 pada suhu ruang 25 °C dengan jumlah inokulum 1/50 mL media. Optimasi ini bertujuan untuk menyeleksi isolat-isolat potensial yang akan digunakan pada tahap optimasi selanjutnya. Setelah proses *degumming*, rami dipisahkan dari larutan media kemudian dicuci dengan air mengalir. Menurut Zheng et al. (2001), larutan media sisa *biodegumming* dapat digunakan kembali sebagai inokulum bakteri, sehingga hal ini dapat meningkatkan efisiensi penggunaan agensia hayati itu sendiri. Sementara itu, rami dikeringkan hingga mencapai bobot konstan. Semakin tinggi penurunan bobot rami, maka mengindikasikan semakin banyak *gum* yang terdegradasi, sehingga isolat yang digunakan memiliki potensi yang semakin besar sebagai agensia *biodegumming*.

Pektin merupakan salah satu komponen utama penyusun *gum* yang akan terdegradasi oleh enzim-enzim pektinolitik (Zheng et al., 2001). Enzim merupakan katalis alami yang diproduksi oleh makhluk hidup untuk mendegradasi maupun merubah senyawa kimia kompleks dan beragam yang digunakan untuk proses metabolisme (Oumer & Abate, 2018). Isolat bakteri pektinolitik yang ditambahkan pada proses *biodegumming* diharapkan akan menghasilkan enzim pektinase, sehingga dapat bekerja untuk mendegradasi *gum*. Cheng et al. (2021) melaporkan bahwa isolat *A. temperans* dan *B. thuringiensis* yang diisolasi dari tanah di sekitar kompos rami memiliki aktivitas pektinase hingga 98 U/mg dengan menyisakan *gum* kurang dari 10%. Yang et al. (2021) menambahkan bahwa beberapa strain *bacterial degumming* yang dikulturkan selama 16 jam menunjukkan aktivitas beberapa enzim penting seperti pektinase, protease, xilanase, mannanase, lakase, lignin peroksidase.

Bakteri *Bacillus* sp. strain HG-28 mampu memproduksi pektinase dan xilanase dengan aktivitas tinggi, sehingga dapat digunakan untuk proses *biodegumming* skala industri (Fan et al., 2015). Shu et al. (2020) menambahkan bahwa bakteri *Pectobacterium carotovorum* strain HG-49 telah berhasil dimurnikan dan diaplikasikan sebagai agensia *biodegumming* skala industri. Strain bakteri tersebut berhasil menurunkan kadar *gum* hingga 82,16% selama 16 jam inkubasi dengan aktivitas pektinase, mannanase, dan xilanase secara berturut-turut teramati pada konsentrasi 110,89; 39,89; dan 32,17 U/mL pada jam ke-10–12. *Gum* yang terdegradasi akan larut dalam air saat dilakukan pencucian, sehingga hal ini menyebabkan penurunan bobot rami. Saikia et al. (2009) menyatakan bahwa serat rami yang diberikan perlakuan *biodegumming* menunjukkan penurunan bobot mulai dari hari pertama inkubasi hingga hari ke-8. Oleh sebab itu, dapat diketahui bahwa penurunan bobot rami berkorelasi positif terhadap penurunan kadar *gum*.

Berdasarkan persentase penurunan bobot rami pada masing-masing kombinasi parameter optimasi proses *biodegumming*, analisis statistik penting untuk dilakukan dalam mengetahui baik interaksi masing-masing parameter optimasi maupun signifikansi kombinasi perlakuan yang paling optimum terhadap penurunan bobot rami. Berdasarkan analisis statistik, terdapat interaksi antar 3 parameter yang digunakan ($P < 0,05$). Disamping itu, secara individu suhu merupakan satu-satunya parameter yang secara signifikan memengaruhi proses *biodegumming*. Hal ini didukung dengan nilai *estimated marginal means* yang menunjukkan bahwa suhu 37,5 °C secara konsisten menunjukkan nilai yang lebih baik dibandingkan 25 °C pada ketiga isolat (data tidak ditampilkan), sementara nilai

yang konsisten tidak diperoleh pada parameter pH dan jumlah inokulum. Sementara itu, secara parsial terdapat beberapa kombinasi yang menunjukkan interaksi seperti yang tersaji pada Tabel 2.

Persentase penurunan bobot rami pada 36 kelompok perlakuan menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan dengan penurunan bobot rami tertinggi yaitu pada kondisi inkubasi suhu 37,5 °C; pH 8,5; jumlah inokulum 3/50 mL media; dan jenis isolat Pe-Ku 6. Kondisi tersebut teramati berbeda signifikan terhadap setiap kelompok perlakuan yaitu dengan penurunan bobot rami sebesar 12,7%. Kondisi optimum *biodegumming* teramati pada suhu 37,5 °C, hal ini diduga karena sesuai dengan kondisi optimum untuk pertumbuhan isolat bakteri yang digunakan, sehingga berkorelasi terhadap enzim pektinase yang dihasilkan. Hal tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Zheng et al. (2001) bahwa *biodegumming* menggunakan berbagai isolat bakteri alkalofilik dilakukan pada suhu inkubasi 37 °C. Saikia et al. (2009) melaporkan bahwa penurunan *gum* hingga 53% terjadi pada suhu 30–35°C. Ding et al. (2014) menambahkan bahwa suhu optimum untuk produksi enzim pendegradasi *gum* adalah 40 °C selama 24 jam. Selain itu, hal tersebut didukung oleh hasil analisis interaksi bahwa suhu 37,5°C merupakan parameter yang secara signifikan berpengaruh terhadap penurunan bobot rami.

Suhu inkubasi 37,5 °C diduga merupakan suhu optimum bagi isolat bakteri yang digunakan dalam mendegradasi *gum* menggunakan enzim-enzim yang dimiliki seperti pektinase dan protease. Aniq et al. (2014) menyatakan bahwa kondisi optimum proses *biodegumming* secara enzimatik terjadi pada suhu 70 °C, dengan waktu inkubasi 8 jam, dan rasio enzim dan substrat adalah 1 : 10. Namun, kondisi tersebut baru menghasilkan persentase penurunan *gum* sebesar 8,7%. Hasil studi Biswas et al. (2016) mengungkapkan bahwa penurunan kadar *gum* hingga tersisa 5,36% diperoleh setelah perlakuan 2% kombinasi enzim pektinolitik dan hemiselulolitik pada suhu 28–35 °C dan waktu inkubasi kurang dari 24 jam.

Bakteri maupun jamur pendegradasi *gum* yang diisolasi dari berbagai sumber memiliki karakter masing-masing. Beberapa karakter utama yang perlu diperhatikan adalah aktivitas enzim yang dihasilkan dan kemampuan untuk tumbuh di medium alkali. Guo et al. (2013) menyatakan bahwa enzim pektinase yang diperoleh dari *Bacillus* sp. memiliki kemampuan *degumming* yang cepat dengan toleransi yang tinggi terhadap hidrogen peroksida (H₂O₂), hal tersebut ditunjukkan dengan kualitas dan kemampuan degradasi *gum* yang meningkat secara signifikan sejalan dengan penambahan H₂O₂. Hidrogen peroksida sendiri merupakan senyawa yang sering ditambahkan dalam proses *degumming* secara kimiawi untuk *bleaching* atau mencerahkan warna serat. Li et al. (2017) menyatakan bahwa *degumming* secara oksidatif dengan hidrogen peroksida merupakan cara yang efisien dan merupakan alternatif metode *processing* serat rami. Selain itu, isolat yang diperoleh harus memiliki aktivitas selulase yang rendah, karena selulosa sebagai substrat untuk enzim tersebut perlu dipertahankan untuk memperoleh serat kain dengan kualitas yang baik (Fan et al., 2015). Meskipun diketahui potensial sebagai agensia *bacterial degumming* serat rami, *B. subtilis* masih memproduksi selulase selama proses *degumming*. Oleh sebab itu, studi pencarian alternatif hospes untuk mengekspresikan *pectate lyase PEL168* dari *B. subtilis* telah dilakukan (Zhang et al., 2013).

Karakterisasi serat rami secara mikroskopis maupun makroskopis telah banyak dilakukan untuk memvalidasi kualitas serat setelah proses *degumming* (Guo et al., 2013; Li et al., 2017; Shu et al., 2020; Singh et al., 2020). Secara mikroskopis, serat rami yang diberikan perlakuan *biodegumming* menunjukkan karakter permukaan yang mirip dengan hasil *degumming* konvensional (Guo et al., 2013). Hasil penelitian Mao et al. (2019) mengungkapkan bahwa penggunaan konsorsium mikroba RAMCD407 dapat menurunkan kadar *gum* hingga tersisa 2,84% dengan degradasi *gum* teramati pada lamella tengah dan permukaan serat, yang diikuti dengan pembentukan *cluster crystals of calcium oxalate* (CCCO) dan degradasi korteks serat rami. Singh et al. (2020) menyatakan bahwa aplikasi enzim xilano-pektinolitik menghasilkan serat rami dengan penurunan warna kuning 14,45%, peningkatan kecerahan hingga 6,97%, dan peningkatan tingkat warna putih 10,64%.

Selama 3 hari inkubasi, diamati perubahan pH pada masing-masing perlakuan dari hari ke-0 hingga hari ke-3. Berdasarkan data perubahan pH, pada kondisi media dengan pH awal 8,5 suhu 25

°C (Gambar 5a), pH cenderung mengalami penurunan dari hari ke-1, kemudian sedikit meningkat hingga hari ke-3 yaitu mulai dari pH 7,35; 7,58; dan 7,75 secara berturut-turut. Sementara itu, pada suhu yang lebih tinggi yaitu 37,5 °C (Gambar 5b), peningkatan pH sedikit lebih tinggi yaitu mulai dari 7,56; 7,72; dan 8,08 pada hari ke-1 sampai hari ke-3 secara berturut-turut. Selain itu, pada kondisi media dengan pH awal 9 (Gambar 5c & d), semua perlakuan pada kondisi suhu 25 °C secara relatif tidak menunjukkan perubahan pH yang linier yaitu berkisar pada pH 8, sementara pada suhu 37,5 °C peningkatan pH terjadi mulai dari 8,12 di hari ke-1; 8,19 di hari ke-2; dan 8,59 di hari ke-3. Secara umum, hingga hari ke-3 inkubasi rata-rata semua kelompok perlakuan menunjukkan pH 7,75–8,5. Oleh sebab itu, diduga kondisi *biodegumming* akan efektif dilakukan pada kondisi pH tersebut. Nilai pH tersebut sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Saikia et al. (2009) bahwa pH optimum untuk berbagai isolat bakteri, jamur, maupun kombinasinya dalam peranannya sebagai agensia *biodegumming* secara efektif terjadi pada pH 7,5. Sementara itu, Ding et al. (2014) melaporkan bahwa pH optimum untuk produksi enzim pendeградasi *gum* adalah 8,45. Wang et al. (2021) menambahkan bahwa isolat *Bacillus pumilus* mampu memproduksi *acetyl xylan esterase* (AXE) pada suhu optimum 35 °C dengan pH 8,0.

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui kondisi optimum pertumbuhan isolat bakteri pektinolitik dari kulit batang rami yang terkomposkan sebagai agensia *bacterial degumming* serat rami. Kondisi optimal tersebut dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya dalam mempelajari karakter isolat yang diperoleh maupun proses *biodegumming* menggunakan bakteri pektinolitik hingga diperoleh isolat yang benar-benar optimal untuk dilakukan *scale up* skala industri. Pada penelitian ini masih terdapat kelemahan dimana pengamatan *optical density* (OD) bakteri pada 3 hari inkubasi tidak teramati dengan baik. Selain itu, untuk mengetahui detail hasil *biodegumming*, pengamatan serat rami secara mikroskopis antara sebelum dan sesudah *biodegumming* penting untuk dilakukan.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa telah diperoleh 9 isolat bakteri pektinolitik potensial sebagai agensia *bacterial degumming* yang diperoleh dari kulit batang rami. Selain itu, berdasarkan optimasi metode *bacterial degumming* menggunakan parameter jenis isolat, jumlah inokulum, pH, dan suhu inkubasi telah diperoleh kondisi optimum untuk melakukan proses *biodegumming* yaitu pada pH 8,5 dan suhu 37,5 °C dengan jumlah inokulum 3/50 mL menggunakan isolat Pe-Ku 6. Hal tersebut ditandai dengan penurunan bobot rami yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan semua kombinasi perlakuan lain, yaitu sebesar 12,7%. Pada studi selanjutnya, optimasi lebih lanjut dapat dilakukan dengan menggunakan enzim pektinolitik yang diekstrak dari masing-masing isolat potensial untuk mengetahui komposisi medium, pH, dan suhu optimalnya.

REFERENSI

- Aji, O. R., & Lestari, I. D. (2020). Bakteri endofit tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) penghasil asam indol asetat (AIA). *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 13(2), 179–191. doi: 10.15408/kauniyah.v13i2.13044.
- Al Asna, P. M., Nugraheni, F. S. A., & Hastuti, U. S. (2017, April 29). *Biologi, Pembelajaran, dan Lingkungan Hidup Perspektif Interdisipliner: Isolasi dan identifikasi bakteri pektinolitik dari tanah mangrove di Margomulyo Balikpapan, Kalimantan Timur*. Paper presented at the Seminar Nasional III Tahun 2017, FKIP & PSLK (Pusat Studi Lingkungan dan Kependudukan), Universitas Muhammadiyah Malang, Malang. Retrieved from <http://research-report.umm.ac.id/index.php/research-report/article/viewFile/997/1377>
- Angayarkanni, J., Palaniswamy, M., Murugesan, S., & Swaminathan, K. (2002). Improvement of tea leaves fermentation with *Aspergillus* spp. pectinase. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 94(4), 299-303. doi: 10.1016/S1389-1723(02)80167-0.

- Aniq, N., Aqil, H., Yatun, I., & Hartati, I. (2014). Biodegumming rami menggunakan enzim amobil dari cairan rumen sapi. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Ke-5*, 1(1). doi: 10.36499/psnst.v1i1.981.
- Biswas, D., Chakrabarti, S. K., De, S., & Paral, R. (2016). Eco-friendly degumming technology for ramie fiber. *Journal of Natural Fibers*, 13(2), 227-237. doi: 10.1080/15440478.2015.1005327.
- Cheng, L., Duan, S., Feng, X., Zheng, K., Yang, Q., Xu, H., ... Peng, Y. (2021). Screening and identification of pectinolytic bacteria for ramie degumming. *Textile Research Journal*, 91(9-10), 1056-1064. doi: 10.1177/0040517520968280.
- Ding, R. Y., Zhang, X. Q., & Yu, C. W. (2014). Optimization of enzyme mixture degumming of ramie fiber. *Journal of Natural Fibers*, 11(1), 13-24. doi: 10.1080/15440478.2013.824851.
- Ed-har, A. A., Widyastuti R., & Djajakirana G. (2017). Isolasi dan identifikasi mikroba tanah pendegradasi selulosa dan pektin dari rhizosfer *Aquilaria malaccensis*. *Buletin Tanah dan Lahan*, 1(1), 58-64.
- Fan, P., He, F., Yang, Y., Ao, M., Ouyang, J., Liu, Y., & Yu, L. (2015). In-situ microbial degumming technology with *Bacillus* sp. HG-28 for industrial production of ramie fibers. *Biochemical Engineering Journal*, 97(2015), 50-58. doi: 10.1016/j.bej.2014.12.010.
- Guo, F., Zou, M., Li, X., Zhao, J., & Qu, Y. (2013). An effective degumming enzyme from *Bacillus* sp. Y1 and synergistic action of hydrogen peroxide and protease on enzymatic degumming of ramie fibers. *BioMed Research International*, (2013), 1-9. doi: 10.1155/2013/212315.
- Jayani, R. S., Shukla, S. K., & Gupta, R. (2010). Screening of bacterial strains for polygalacturonase activity: Its production by *Bacillus sphaericus* (MTCC 7542). *Enzyme Research*, (2010), 1-5. doi: 10.4061/2010/306785.
- Jose, S., Rajna, S., & Ghosh, P. (2016). Ramie fibre processing and value addition. *Asian Journal of Textile*, 7(1), 1-9. doi: 10.3923/ajt.2017.1.9.
- Kusiyanto, G., Purwatiningsih., & Muzakhar, K. (2019). Skrining dan identifikasi bakteri pektinolitik endosimbion dalam sistem pencernaan serangga penggerek kopi (*Hypothenemus hampei* Ferr.). *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 7(2), 44-50.
- Li, Z., Meng, C., Zhou, J., Li, Z., Ding, J., Liu, F., & Yu, C. (2017). Characterization and control of oxidized cellulose in ramie fibers during oxidative degumming. *Textile Research Journal*, 87(15), 1828-1840. doi: 10.1177/0040517516659380.
- Mao, K., Chen, H., Qi, H., Qiu, Z., Zhang, L., & Zhou, J. (2019). Visual degumming process of ramie fiber using a microbial consortium RAMCD407. *Cellulose*, 26(5), 3513-3528. doi: 10.1007/s10570-019-02288-1.
- Oumer, O. J., & Abate, D. (2018). Screening and molecular identification of pectinase producing microbes from coffee pulp. *BioMed Research International*, (2018), 1-7. doi: 10.1155/2018/2961767.
- Saikia, R., Boruah, P., & Samanta R. (2009). Microbial degumming of decorticated ramie and its fibre characteristics. *Indian Journal of Fibre & Textile Research*, (34), 187-190.
- Shu, T., Bai, Y., Wang, Y., Wang, H., Li, P., Xiang, M., ... Yu, L. (2020). A high-efficiency and eco-friendly degumming process for ramie fibers. *Journal of Cleaner Production*, (276). doi: 10.1016/J.JCLEPRO.2020.124217.
- Singh, A., Varghese, L. M., Battan, B., Patra, A. K., Mandhan, R. P., & Mahajan, R. (2020). Eco-friendly scouring of ramie fibers using crude xylano-pectinolytic enzymes for textile purpose. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(6), 6701-6710. doi: 10.1007/s11356-019-07424-9.
- Varghese, N., & Joy P.P. (2014). Microbiology laboratory manual. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/306018042_Microbiology_Laboratory_Manual.
- Wang, Q., Chen, H. G., Fang, G., Chen, A., Yuan, P., & Liu, J. (2017). Isolation of *Bacillus cereus* P05 and *Pseudomonas* sp. X12 and their application in the ramie retting. *Industrial Crops and Products*, 97(2017), 518-524. doi: 10.1016/j.indcrop.2016.12.047.

- Wang, H., Shu, T., Li, P., Bai, Y., Xiang, M., Yu, T., ... Yu, L. (2021). A new strategy to improve ramie degumming based on removal of the xylan branched structure. *Textile Research Journal*, 92(7-8), 1-12. doi: 10.1177/004051752111044913.
- Widowati, E., Utami, R., Nurhartadi, E., Andriani, M. A. M., & Hanifah, R. (2014). Produksi dan karakterisasi enzim pektinase bakteri pektinolitik dari limbah kulit jeruk untuk klarifikasi jus lemon (*Citrus limon*). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 7(1), 20-25.
- Yang, Q., Cheng, L., Feng, X., Zheng, K., Liu, Z., Duan, S., & Peng, Y. (2021). Analysis of the relationship between enzymatic activity and microbial degumming effect of kenaf bast. *Journal of Natural Fibers*, 18(9), 1217–1228. doi: 10.1080/15440478.2019.1688750.
- Zhang, C., Yao, J., Zhou, C., Mao, L., Zhang, G., & Ma, Y. (2013). The alkaline pectate lyase PEL168 of *Bacillus subtilis* heterologously expressed in *Pichia pastoris* is more stable and efficient for degumming ramie fiber. *BMC Biotechnology*, 13(26), 1-9. doi: 1472-6750/13/26.
- Zheng, L., Du, Y., & Zhang, J. (2001). Degumming of ramie fibers by alkalophilic bacteria and their polysaccharide-degrading enzymes. *Bioresource Technology*, 78(2001), 89-94.