

Isolasi Jamur Pengurai Pati Dari Tanah Limbah Sagu

Dian Ayu Juwita ¹, Netty Suharti ¹, Roslinda Rasyid ¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Limau Manis, Padang

ABSTRACT

A Screening of glucoamylase enzyme producing fungi obtained from sago dregs soil at Tapakis district of Padang Pariaman has been done. The screening was conducted by incubation of sample in Potato Dextrose Agar media which was previously added with starch 1% as inducer. Incubation was performed for 120 hours at temperature 20-25°C. The existence of glucoamylase enzyme producing fungi were indicated by the disappearance of lugol indicator solution colour around the colonies. It was found that there were 2 isolates of fungi which produced glucoamylase. Respectively, It could be concluded that the isolates were *Aspergillus sp.* and *Penicillium sp.*

Keywords : Glukoamilase, sagu, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*

Diterima : Maret 2012, disetujui untuk diterbitkan : April 2013

Pendahuluan

Secara umum enzim dapat dihasilkan oleh beberapa jenis bakteri, jamur, sel tanaman dan sel hewan. Glukoamilase merupakan salah satu enzim ekstraseluler jamur yang mengkatalisa penguraian pati menjadi glukosa (Kombong, 2004). Glukosa yang dihasilkan mempunyai peranan penting dalam industri pangan, misalnya dalam pembuatan dekstrosa, sirup glukosa, sirup fruktosa, dan lain-lain (Sardjoko, 1988). Banyak mikroba-mikroba yang telah diketahui merupakan penghasil enzim glukoamilase, diantaranya *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Endomyces* dan beberapa bakteri seperti *Aerobacter* dan *Clostridium* (Winarno, 1995). Mikroba-mikroba ini banyak ditemukan pada tanah dimana banyak terdapat tumbuh-tumbuhan yang telah mati (Sutedjo *et al.*, 1991).

Penggunaan mikroba sebagai penghasil enzim memiliki beberapa keuntungan, diantaranya mikroba mudah dibiakkan, mempunyai kecepatan tumbuh yang tinggi, mudah dikontrol pertumbuhannya, biaya produksi relatif murah, dan dapat diproduksi dalam waktu singkat sesuai dengan permintaan (Sudaryati *et al.*, 1993; Winarno *et al.*, 1980).

Indonesia sebenarnya mempunyai potensi yang sangat besar untuk dapat mengembangkan dan memproduksi enzim sendiri karena ketersediaan sumber daya genetik penghasil enzim serta

melimpahnya limbah pertanian yang banyak mengandung selulosa, pati, lignin dan lain-lain yang bisa dimanfaatkan sebagai substrat (Sudaryati *et al.*, 1993; Melliawati *et al.*, 1995).

Pada proses pengolahan sagu menjadi tepung sagu akan dihasilkan limbah dengan jumlah yang cukup banyak, dapat berupa limbah padat dan cair (Harsanto, 1986). Limbah padat berupa ampas sagu yang jumlahnya sekitar 18% dari jumlah bahan baku tersebut masih mengandung bahan-bahan organik diantaranya pati dalam jumlah yang cukup besar (64,5%), dan selama ini hanya dibiarkan tertimbun disekitar tempat pengolahan (Harsanto, 1986). Padahal ampas ini cukup potensial digunakan sebagai medium untuk pertumbuhan mikroorganisme termasuk dalam menghasilkan glukosa (Wahid, 1988).

Hidrolisis pati menjadi glukosa akan lebih baik hasilnya bila dilakukan dengan menggunakan enzim dibandingkan penggunaan asam (Crueger *et al.*, 1984). Berdasarkan hal diatas, maka dilakukan penelitian mengenai penapisan jamur penghasil enzim glukoamilase dari tanah tumpukan ampas sagu dimana limbahnya mengandung pati. Dilanjutkan dengan uji kualitatif hidrolisat enzim glukoamilase yang dihasilkan oleh jamur tersebut.

Metodologi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga September 2007 di laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang dan Laboratorium Kesehatan Kota Padang.

Alat yang digunakan yaitu tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer berbagai ukuran, gelas ukur berbagai ukuran, pinset, pipet mikro, pipet tetes, jarum ose, lampu spiritus, timbangan analitik, spatel, kaca objek dan kaca penutup, mikroskop (ZEISS[®]), kapas, kain kasa, inkubator (Galenkamp plus[®]), autoklaf (All American[®]), hotplate (IEC[®]), lemari aseptis. Laminar Air Flow Cabinet (ESCO[®]), lemari pendingin, vortex, sentrifugator, plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Bahan-bahan yang digunakan yaitu sampel tanah media Potato Dekstrosa Agar (Merck), media Potato Broth, alkohol 70%, larutan NaCl fisiologis, air suling, larutan lugol, pati sagu, reagen Fehling A, reagen Fehling B, larutan glukosa, larutan α -naftol, larutan lactophenol cotton blue.

Tanah sampel tumpukan ampas sagu diambil di desa Tapakis, Kabupaten Padang Pariaman pada kedalaman 10 cm - 15 cm dari permukaan tanah. Lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik, ditutup rapat dan dibawa ke laboratorium untuk pengerjaan selanjutnya.

Alat - alat yang akan disterilkan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Cawan petri dibungkus dengan kertas perkamen, untuk alat-alat gelas (tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer) ditutup mulutnya dengan kapas yang telah dibalut dengan kain kasa steril lalu dibungkus dengan kertas perkamen, kemudian disterilkan semuanya dengan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 15 menit. Pinset, jarum ose, dan kaca objek disterilkan dengan cara flambier. *Laminar Air Flow* disterilkan dengan menyalakan lampu UV selama 5 menit. Ruangan dan lemari aseptis dibersihkan dengan cara menyemprotkan alkohol 70%.

Pembuatan Media Perbenihan Potato Dekstrose Agar – Pati 1% : sebanyak 39 gram serbuk Potato Dekstrosa Agar (PDA) dan 10 gram pati sagu dilarutkan dalam 1 liter air suling dan dipanaskan di atas *hot plate* sampai mendidih sambil diaduk hingga terlarut sempurna yang ditandai dengan larutan berwarna bening, kemudian disterilkan dalam autoklaf suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 15 menit.

Pembuatan Media Perbenihan Potato Broth – Pati 1% : di dalam erlenmeyer dididihkan 200 gram kentang yang telah dikupas dan diiris kecil dengan 500 ml air suling, lalu disaring. Filtratnya disatukan dengan suspensi 10 gram pati sagu dalam 500 ml air suling. Setelah volumenya dicukupkan 1 liter, media

dipanaskan sambil diaduk sampai bening. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 lbs selama 15 menit.

Sebanyak 10 gram sampel tanah dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan NaCl fisiologis ad 100 ml, lalu diaduk dan didapatkan pengenceran 10⁻¹. Dari pengenceran ini dipipet 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi 9 ml NaCl fisiologis dan didapatkan pengenceran 10⁻², dilakukan sampai pengenceran 10⁻⁸. Pengenceran 10⁻⁶, 10⁻⁷ dan 10⁻⁸ digunakan untuk pembiakan jamur pada media perbenihan.

Suspensi tanah hasil pengenceran dimasukkan ke dalam cawan petri, lalu ditambahkan 12 ml medium PDA-Pati 1%. Biarkan lempengan agar memadat, setelah itu dibalikkan cawan petri, diinkubasi pada suhu 20°C - 25°C selama 5 x 24 jam. Setelah masa inkubasi, koloni yang tumbuh dihitung jumlahnya dengan colony counter. Lalu pada masing-masing biakan ditetesi larutan lugol sampai merata pada permukaan media dan dibiarkan 1 menit. Untuk jamur yang menghasilkan enzim glukamilase akan terlihat daerah bening di sekitar koloni.

Koloni jamur yang menghasilkan enzim glukamilase diisolasi dan ditanamkan ke dalam media agar miring dengan bantuan jarum ose, kemudian diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 5x24 jam. Koloni jamur yang tumbuh kemudian digoreskan pada media dalam cawan petri dengan cara inokulasi setempat menggunakan jarum ose lalu diinkubasi. Masing-masing koloni jamur yang tumbuh pada cawan petri ditetesi larutan lugol sampai merata pada permukaan media lalu diukur diameter daerah bening yang terbentuk. Diameter zona bening tersebut diukur pada hari kelima inkubasi. Selanjutnya koloni tunggal tersebut ditanamkan kembali ke dalam media agar miring lalu diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 5x24 jam. Setiap biakan murni pada agar miring yang diperoleh diremajakan setiap 15 hari.

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan melihat bentuk permukaan dan warna koloni dari masing-masing kelompok isolat mumi yang didapat. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan metode Mikrokultur (Slide Culture) sebagai berikut: Media PDA-Pati 1% disiapkan dalam cawan petri, kemudian dipotong dengan ukuran 0,5 x 0,5 cm (potongan blok agar). Dengan cara aseptis diambil satu bagian blok agar tersebut dan diletakkan pada gelas objek dalam cawan petri yang dilapisi tisu yang telah ditetesi air suling steril. Keempat sisi blok agar tersebut diinokulasi dengan koloni sampel uji, kemudian ditutup dengan kaca penutup. Semua pekerjaan dilakukan secara aseptis. Mikrokultur tersebut diinkubasi pada suhu 20°C - 25°C selama 5-7 hari. Setelah koloni jamur tersebut bersporulasi, baik

konidia maupun konidioforanya akan menempel pada kaca objek dan kaca penutup. Kaca penutup ini kemudian diangkat dengan hati-hati dan diletakkan pada kaca objek lain yang telah diberi satu tetes larutan lactophenol cotton blue, kemudian diamati di bawah mikroskop (Lay, 1994).

Setiap isolat jamur diinokulasikan ke dalam media cair PB-Pati 1% lalu diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 5 x 24 jam dalam tabung reaksi, divortex kemudian disentrifuge dan dipisahkan filtratnya. Filtrat hasil sentifus diuji keberadaan glukosanya dengan cara :

1. Uji Fehling

Sebanyak 10 tetes reagen fehling A dan 10 tetes reagen fehling B dicampurkan, kemudian ditambahkan ke dalam 3 ml larutan uji. Dipanaskan di dalam penangas air, terbentuknya endapan merah bata, menunjukkan adanya glukosa.

2. Kromatografi Lapis Tipis

Tiap-tiap larutan uji (filtrat) ditotolkan pada plat KLT, begitu pula larutan pembanding (larutan glukosa), lalu dikeringkan. Selanjutnya dimasukkan ke dalam chamber yang berisi pengembang Butanol:Etanol:Air (4:1:2,2). Kemudian dikeringkan dan disemprot dengan penampak noda α -naftol. Adanya glukosa dalam larutan uji diidentifikasi dengan cara membandingkan tinggi noda antara larutan uji dengan larutan pembanding.

Hasil dan Pembahasan

Sampel tanah tumpukan ampas sagu diambil di desa Tapakis Kabupaten Padang Pariaman. Sampel tanah diambil pada kedalaman 10-15 cm dari permukaan tanah. Hal ini dilakukan karena pada kedalaman tersebut material-material sisa tanaman dan hewan yang telah mati sudah tersebar merata di dalam tanah yang digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber nutrisinya sehingga mikroorganisme banyak terdapat pada permukaan tanah (Buckman, 1980).

Pengolahan sampel mula-mula dilakukan dengan pengenceran bertingkat menggunakan NaCl fisiologis, sampai diperoleh pengenceran 10^{-8} . Pengenceran ini bertujuan untuk menghindari kesulitan pada tahap awal isolasi akibat terlalu banyaknya mikroorganisme pada sampel (Lay, 1994). Sedangkan larutan NaCl dipakai untuk menghindari terjadinya lisis pada saat pengenceran. Hasil pengenceran sampel tanah kemudian diinokulasikan pada media perbenihan Potato Dextrose Agar – Pati 1%. Media ini merupakan media umum yang

digunakan untuk pertumbuhan jamur. Karena jamur yang diisolasi belum diketahui jenisnya maka digunakan media yang umum untuk pembiakannya, bila digunakan media yang lebih spesifik dan selektif, maka dikhawatirkan jamur tertentu saja yang akan tumbuh (Suriawiria, 1986; Lay, 1994).

Glukoamilase merupakan enzim ekstraseluler yang bekerja menghidrolisa pati (Sardjoko, 1988). Oleh sebab itu penapisan mikroba penghasil dapat dilakukan dengan menggunakan media agar yang mengandung pati karena jamur mengeluarkan enzim glukoamilase sebagai respon akibat adanya pati dalam media. Jamur yang dapat menguraikan pati akan memberikan daerah bening disekitar koloninya (Buckman *et al.*, 1982; Mayes *et al.*, 1987). Penambahan pati 1% pada bertujuan sebagai induser sekaligus indikator untuk jamur penghasil enzim glukoamilase. Jenis pati yang digunakan pada penelitian ini adalah pati sagu, hal ini sesuai dengan jenis pati yang ada pada sampel.

Tabel 1. Hasil inokulasi jamur tanah penghasil enzim glukoamilase

No	Pengenceran	Koloni yang tumbuh	Koloni yang positif dengan lugol
1	10^{-6}	19	1
2	10^{-7}	5	1
3	10^{-8}	2	-

Dari hasil pembiakan sampel tanah pada media Potato Dextrose agar – Pati 1% terlihat adanya pertumbuhan koloni jamur. Inokulasi jamur tanah pada media perbenihan pada pengenceran 10^{-6} diperoleh 19 koloni jamur, pada pengenceran 10^{-7} diperoleh 5 koloni jamur sedangkan pada pengenceran 10^{-8} diperoleh 2 koloni jamur (Tabel 1).

Dari sejumlah koloni jamur yang tumbuh pada media perbenihan tersebut dilakukan seleksi terhadap jamur penghasil enzim glukoamilase. Pemilihan terhadap koloni jamur didasarkan kepada terbentuknya daerah bening disekitar koloni setelah ditetesi larutan lugol. Hal ini menunjukkan telah terjadinya hidrolisis pati oleh enzim yang dihasilkan oleh jamur tersebut. Pati yang tidak terhidrolisa akan

berwarna biru kehitaman dengan pemberian larutan lugol. Warna biru kehitaman ini terjadi karena adsorpsi iodium kedalam molekul zat pati (amilosa) yang berbentuk spiral. Bila zat pati telah diuraikan, warna biru kehitaman ini tidak terjadi karena tidak adanya bentuk spiral (Mayes *et al.*, 1987; Lay, 1994).

Setelah dilakukan seleksi terhadap jamur penghasil enzim glukoamilase, pada pengenceran 10^{-6} dan 10^{-7} masing-masingnya didapatkan 1 isolat yang memberikan daerah bening disekitar koloninya, sedangkan pada pengenceran 10^{-8} tidak didapatkan jamur penghasil enzim glukoamilase (Tabel 1).

Tabel 2. Penentuan diameter daerah bening jamur penghasil enzim glukoamilase terhadap larutan lugol

No	Kode Biakan Jamur	Diameter Zona Being (cm)
1	A	6,9
2	B	6,25

Kedua isolat jamur tersebut diinokulasi dibagian tengah media PDA-Pati 1% lalu diinkubasi selama 5 hari pada suhu 20°C - 25°C. Setelah itu ditetesi dengan larutan lugol kemudian diukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar isolat jamur pada hari kelima masa inkubasi (Gambar 1). Zona bening yang terbentuk pada media PDA-Pati 1% merupakan parameter untuk jamur penghasil enzim glukoamilase (Melliawati, 1995).



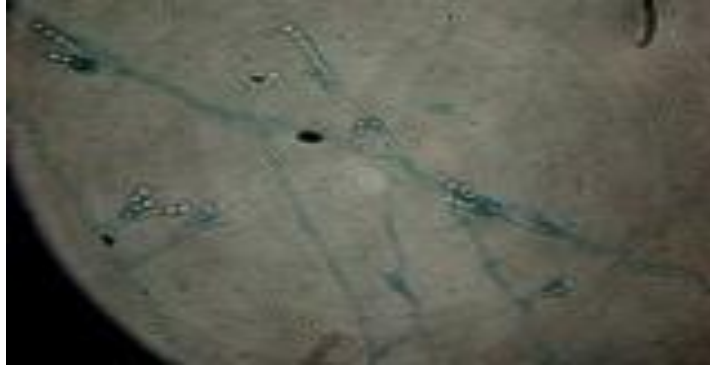
Gambar 1. Biakan murni jamur yang telah diberi lugol pada media PDA-Pati 1%

Kedua isolat jamur yang didapat positif menghasilkan enzim glukoamilase memiliki diameter daerah bening yang berbeda-beda. Jamur A memiliki diameter zona bening paling besar (6,9 cm), diikuti oleh jamur B (6,25 cm). Luas daerah bening ini merupakan petunjuk besarnya aktivitas dari enzim glukoamilase yang terbentuk. Semakin besar diameter daerah bening yang terbentuk maka semakin besar aktivitas jamur tersebut dalam menghidrolisis pati (Melliawati, 1995; Kombong, 2004).

Identifikasi jamur diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Dari pengamatan secara makroskopis jamur A pada media PDA-Pati 1 % terlihat mempunyai warna koloni putih dan tepi koloni berombak, sedangkan jamur B mempunyai warna koloni hijau dan koloninya seperti serbuk halus (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil pengamatan makroskopis jamur penghasil enzim glukoamilase

Kode biakan	Hasil pengamatan makroskopis	
	Bentuk koloni	Warna koloni
A	Seperti benang, tepi koloni berombak	Putih
B	Koloni seperti serbuk halus	Hijau



Gambar 2. Gambar mikroskopis jamur A (pembesaran 400x) *Penicillium* sp



Gambar 3. Gambar mikroskopis jamur B (pembesaran 400x) *Aspergillus* sp.

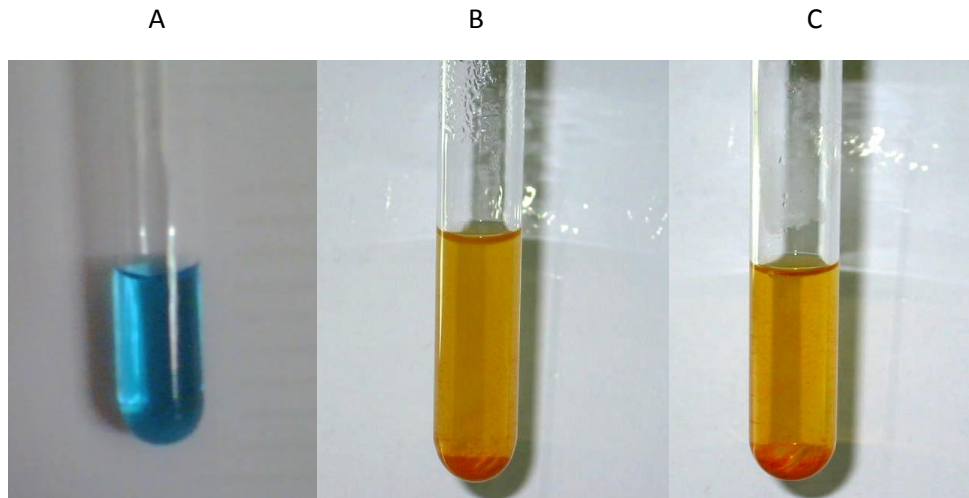
Identifikasi jamur secara mikroskopis dilakukan dengan metode mikrokultur. Masing-masing isolat mumi jamur ditumbuhkan pada media PDA-Pati 1% untuk mengetahui karakter mikroskopisnya. Pengamatan dilakukan dengan cara membandingkan mikroskopis jamur yang didapat dengan gambar mikroskopis jamur yang ada pada literatur. Setelah dilakukan pengamatan dengan melihat karakter mikroskopis jamur, meliputi struktur hifa, bentuk dan susunan konidia, konidiofor, diketahui bahwa jamur A adalah genus *Penicillium* sp., pengamatan mikroskopisnya menunjukkan konidianya bulat dan tersusun membentuk cabang (Gambar 2). Sedangkan jamur B mempunyai konidia bulat, konidiofor tidak bercabang, termasuk ke dalam genus *Aspergillus* sp (Gambar 3). Kedua jenis jamur

ini diketahui merupakan penghasil enzim glucoamilase (Winarno, 1995; Larone, 1998). Hasil pengujian kualitatif terhadap kedua isolat jamur dengan menggunakan larutan Fehling menunjukkan hasil yang positif yaitu memberikan endapan merah bata. Uji Fehling terhadap hidrolisat enzim jamur dilakukan setelah masa inkubasi 5x24 jam pada suhu 20-25⁰C. Tes ini berguna untuk identifikasi monosakarida (glukosa).

Tabel 4. Analisa kualitatif glukosa dengan menggunakan reaksi fehling

No	Kode Biakan	Uji reaksi fehling
1	A	Endapan merah bata
2	B	Endapan merah bata

Sebelum dipergunakan, pereaksi Fehling A dan pereaksi Fehling B dicampur sama banyak, kemudian ditambahkan ke dalam larutan uji hasil hidrolisa enzim dan dipanaskan diatas penangas air, terbentuknya endapan merah bata menandakan adanya glukosa (Tabel 4 dan gambar 4). Terbentuknya endapan ini karena glukosa bersifat



Gambar 4. Hasil uji kualitatif glukosa dengan larutan fehling

Keterangan : P : Larutan kontrol negatif
A : Hidrolisat isolat A
B : Hidrolisat isolat B

mereduksi ion Cu^{2+} yang terdapat dalam larutan Fehling membentuk endapan Cu_2O yang berwarna merah bata (Wilbraham *et al.*, 1992). Reaksi ini hanya akan positif setelah dilakukan pemanasan (Depkes RI, 1995).

Analisa kualitatif kemudian dilanjutkan dengan metoda kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan plat silika gel dengan larutan pengembang butanol : etanol : air (4:1:2,2) dan penampak noda α -naphthol. Larutan perbandingan yang digunakan adalah larutan D-glukosa. Kromatografi lapis tipis umumnya lebih bermanfaat untuk tujuan identifikasi, karena mudah dan sederhana dalam pengerjaannya, memerlukan jumlah sampel yang sedikit dan membutuhkan waktu pengerjaan yang relatif lebih singkat (Djamal, 1990; Roth *et al.*, 1998). Metoda KLT ini digunakan untuk lebih memastikan adanya glukosa sebagai hidrolisat enzim yaitu dengan membandingkan nilai Rf sampel dengan nilai Rf larutan perbandingan (D-glukosa) (Roth *et al.*, 1998).

Tabel 5. Analisa kualitatif glukosa secara kromatografi lapis tipis

	Larutan perbandingan	Isolat A	Isolat B
Nilai Rf	0.42	0.42	0.42

Parameter yang diamati pada metode KLT adalah pengamatan bercak noda dengan harga Rf yang sama antara larutan uji hasil hidrolisa enzim dengan larutan perbandingan glukosa (Djamal, 1990). Harga Rf diartikan sebagai perbandingan antara jarak senyawa dari titik awal dan jarak tepi muka pelarut dari titik awal. Dari hasil penelitian yang dilakukan, didapatkan harga Rf yang sama antara larutan perbandingan dengan larutan uji yaitu 0,42. Hal ini menunjukkan bahwa hasil hidrolisa enzim glokoamilase yang didapat positif glukosa (Tabel 5).

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa pada tanah tumpukan ampas sagu yang diambil di Tapakis, Kabupaten Padang Pariaman terdapat 2 jenis jamur penghasil enzim glukoamilase yaitu genus *Aspergillus sp.* dan *Penicillium sp.* Hasil hidrolisa kedua isolat ini adalah glukosa yang ditandai dengan terbentuknya endapan merah bata dengan pereaksi Fehling dan memberikan nilai Rf yang sama pada KLT dengan larutan pembanding glukosa.

Daftar Pustaka

- Buckman, H.O. and N.C. Brady., 1982, *Ilmu Tanah*. Bhratara Karya Aksara. Jakarta.
- Crueger, W. and A. Crueger, 1984, *Biotechnology : A Textbook of Industries Microbiology*, translated by C. Haessly and T. D. Brock, Science Tech, Madison.
- Departemen Kesehatan R. I., 1995, *Farmakope Indonesia*, Ed IV, Jakarta.
- Djamal, R., 1990, Prinsip-Prinsip Dasar Bekerja dalam Bidang Kimia Bahan Alam, Universitas Andalas, Padang.
- Harsanto, P.B., 1986, *Budidaya dan Pengolahan Sagu*, Kanius, Jakarta.
- Kombong, H., 2004, Evaluasi Daya Hidrolitik Enzim Glukoamilase dari Filtrat kultur *Aspergillus niger*, *Jurnal Ilmu Dasar*, Vol 5 no 1, hal 16-20.
- Larone, D.H., 1998, *Medically Important Fungi (A Guide to Identification)*, second edition, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Lay, B.W., 1994, *Analisis Mikroba di laboratorium*, PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Mayes, P.A., D.K. Granner, V.W. Rodwell dan D.W. Martin, 1987, *Biokimia Harper (Harper's Review of Biochemistry)*, edisi 20, diterjemahkan oleh I. Darmawan, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Melliawati, R., N. Rosalinda dan E. Sukarta., 1995, "Pengaruh Panambahan Magnesium Sulfat dan Kalium Dihidrogen Fosfat terhadap Produksi Enzim Amiloglukosidase dari *Aspergillus sp.* KT-11 pada Media Pati Singkong", *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, Vol 3 no 1, hal 20-26.
- Roth, H.J. and G.F. Blaschke, 1998, *Analisis Farmasi*, diterjemahkan oleh Sarjono Kisman dan Slamet Ibrahim, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sardjoko, 1988, *Bioteknologi Latar Belakang dan Beberapa Penerapannya*, PT Gramedia, Jakarta.
- Sutedjo, M. M., A.G. Kartasapoetra, dan R.S. Sastroatmojo, 1991, *Mikrobiologi Tanah*, PT Rineka Cipta, Jakarta.
- Suriawiria, U., 1986, *Pengantar Mikrobiologi Umum*, Angkasa, Bandung.
- Sudaryati, Y., D.D. Sastraatmadja, 1993, Seleksi Strain *Aspergillus spp.* Untuk Menghasilkan Enzim Selulase Dalam Media Dedak, *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, Vol. 2 no. 2, hal 30-32.
- Wahid, A.S., 1988, *Prospek Pengembangan Sagu di Indonesia*, Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Volume VII No. 4, Oktober.
- Wilbraham, A. C., M. S. Matta, 1992, *Pengantar Kimia Organik dan Hayati*, ITB, Bandung.
- Winarno, F. G., Fardiaz, S., Fardiaz, D., 1980, *Pengantar Teknologi Pangan*, Gramedia, Jakarta.
- Winarno, F.G., 1995, *Enzim Pangan*, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.