

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR SELULOLITIK PADA LIMBAH PRODUKSI BIOETANOL DARI SINGKONG YANG BERPOTENSI DALAM PENGOLAHAN LIMBAH MENJADI PAKAN DOMBA

Yani Suryani¹, Poniah Andayaningsih², Iman Hernaman³

¹Jurusan Biologi, FST UIN Sunan Gunung Djati
Jl. A.H. Nasution No. 105 Bandung 40614

²Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung-Sumedang Km. 21 Jatinangor

³Program Studi Ilmu Peternakan, Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung-Sumedang Km. 21 Jatinangor

ABSTRACT

In the bioethanol production process of waste generated that is equal to 90% of the fermentation solution. With the vast amount of waste is the waste treatment process becomes very important, one of which is to process into livestock wool. The solid bioethanol waste containing cyanide (HCN) 5.8177 mg/kg, water 95.21%, ash 0.39%, protein 8.16%, crude fiber 5.45%, crude fat 2.06%, and carbohydrates 83.94%. The processing solid bioethanol waste into livestock wool can be done by utilizing the existing fungi on solid bioethanol waste. Crude fiber (cellulose) and carbohydrates are a source of cellulolytic fungal. Cellulolytic fungi can degrade the role of organic materials contained in solid into bioethanol waste so that the source of highly nutritious livestock wool. This study aims to determine the types of mold and fungi cellulolytic isolates contained in solid bioethanol waste the potentially in processing bioethanol waste into livestock wool. The research was conducted using the descriptive analysis method. The medium used for culturing the fungus and isolate the medium *Potato Dextrose Agar* (PDA). Fungal isolation conducted by using *dilution series* and *pour plate* method and identification with the *Moist Chamber* method. To find out cellulolytic fungi using selective medium *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) and identification of fungi made to genus level based on macroscopic and microscopic characterization. In this study obtained 10 isolates of the fungus from the genus *Aspergillus* sp 1, *Aspergillus* sp 2, *Aspergillus* sp 3, *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp, *Mucor* sp, *Penicillium* sp 1, *Penicillium* sp 2, *Rhizopus* sp and *Trichoderma viride*. The results of cellulase enzyme activity assay showed that 9 from 10 isolates of the fungus has the capability of cellulose degradation. Isolates that largest produce the enzyme cellulase is *Trichoderma viride*, *Penicillium* sp 1, *Cladosporium* sp and *Aspergillus niger*.

Key words: *dilution series*, cellulolytic fungi, *Moist Chamber*, solid bioethanol waste, *pour plate*.

A. PENDAHULUAN

Pakan merupakan salah satu faktor terpenting dalam usaha pemeliharaan ternak. Keberhasilan maupun kegagalan usaha ternak banyak ditentukan oleh pakan yang diberikan. Pemanfaatan limbah dapat memperbaiki ketersediaan pakan (Agustini, 2010). Pada umumnya

kualitas limbah sebagai pakan sangat rendah sehingga perlu adanya upaya perbaikan pengelolannya untuk menjadi pakan ternak yang memiliki nilai gizi yang tinggi dan dapat meningkatkan produktivitas ternak.

Salah satu contoh limbah yang digunakan untuk pakan ternak adalah

produk limbah bioetanol yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pakan berserat (mengandung selulosa). Bioetanol adalah salah satu energi alternatif yang bahan utamanya dari tumbuhan dan umumnya menggunakan proses fermentasi. Bioetanol dapat dibuat dari singkong. Singkong memiliki arti ekonomi terpenting dibandingkan dengan jenis umbi-umbian yang lain. Selain itu kandungan pati dalam singkong yang tinggi sekitar 25-30% sangat cocok untuk pembuatan energi alternatif (Rikana *dkk.*, 2009).

Bioetanol dibuat dengan proses fermentasi yang kemudian dilanjutkan dengan proses destilasi atau penyulingan. Pada proses produksi bioetanol dihasilkan limbah yaitu sebesar 90%. Banyaknya jumlah limbah ini maka proses pengolahan limbah menjadi sangat penting, karena limbah tersebut dapat merusak lingkungan jika tidak ditangani dengan baik (Wira, 2011). Limbah padat bioetanol dapat dimanfaatkan sebagai pakan domba namun harus melalui proses fermentasi terlebih dahulu. Proses fermentasi dilakukan agar dapat memperbaiki kualitas gizi bahan makanan berkualitas rendah dan menurunkan atau menghilangkan zat anti nutrisi berupa asam sianida (Hidayat, 2010).

Enzim adalah protein yang diproduksi oleh semua organisme hidup. Pada industri fermentasi, enzim dihasilkan oleh jamur atau bakteri (Uusima, 2006). Salah satu contoh enzim adalah enzim selulosa yang mampu memecah selulosa secara enzimatik. Telah diketahui bahwa enzim selulase adalah salah satu jenis enzim yang sangat penting peranannya dalam proses biokonversi limbah-limbah organik berselulosa menjadi glukosa, protein sel tunggal, makanan ternak, etanol dan lain-lainnya. Kebutuhan enzim selulase dari hari ke hari semakin meningkat sesuai dengan kemajuan industri. Di Indonesia, industri yang

memanfaatkan enzim makin banyak, namun untuk memenuhi kebutuhan enzim tersebut sampai saat ini Indonesia masih saja mengimpor (Soeka, 1992). Salah satu cara mengatasinya yaitu memanfaatkan mikroorganisme selulolitik penghasil enzim selulase yang mampu mendegradasi selulosa yang berasal dari limbah bioetanol. Mikroorganisme yang mempunyai kemampuan mendegradasi selulosa yaitu jamur. Di dalam limbah padat bioetanol dari singkong banyak mengandung jamur selulolitik yang mampu mendegradasi selulosa. Genus jamur yang menghasilkan enzim selulase diantaranya *Aspergillus* sp., *Bulgaria* sp., *Chaetomium* sp., *Helotium* sp., *Myrothecium* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Phanerochaeta* sp., *Poria* sp., *Rhizophus* sp (Irawan, 2008), *Schizophyllum* sp., *Serpula* sp., dan *Trichoderma* sp. (Gandjar dan Syamsuridzal, 2006).

Mengingat pentingnya keberadaan jamur pendegradasi selulosa, maka dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi jamur selulolitik limbah bioetanol dari singkong. Penelitian ini diharapkan dapat menemukan isolat jamur selulolitik yang dapat berperan dalam pengolahan limbah bioetanol dari singkong menjadi pakan domba.

B. BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah padat bioetanol, PDA (medium *Potatoes Dextrose Agar*), CMC (*Carboxil Methyl Cellulase*), air steril, aquades, NaCl fisiologis, vaselin, Kongo red, alkohol 95%, alkohol 70% dan *cloramfenicol*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, oven, neraca analisis/timbangan, hot plate dan stirrer, labu Erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, tabung reaksi, spatula, pH indicator universal, termometer raksa, pipet ukur,

pipet Filler (Rubber Bulb), jarum ose, pipet tetes, Kertas saring, objek glass dan cover glass, pinset, kapas dan kain kasa, mikroskop, jangka sorong, api bunsen, rak tabung reaksi, karet, tissue, alumunium foil, plastik sil, spidol, label nama, dan gunting.

Cara Kerja

1. Penyiapan Limbah Padat Bioetanol

Limbah padat bioetanol yang akan dijadikan sumber isolat mikroorganisme didapatkan dengan cara mengambil limbah padat tersebut kemudian dimasukkan ke dalam botol. Suhu dan tempat dipertahankan sehingga diharapkan mikroorganisme yang terdapat didalamnya tetap hidup sampai saat diamati.

2. Isolasi Jamur

Sampel berupa limbah padat bioetanol ini ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml NaCl. Setelah itu sebanyak 1 ml dari masing-masing pengenceran dimasukkan ke dalam cawan petri dan dituangkan medium PDA (medium *Potatoes Dextrose Agar*). Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 72 jam.

3. Pemurnian Koloni Jamur

Koloni dengan ciri yang berbeda, diisolasi dan diinokulasi kembali secara berulang hingga benar-benar diperoleh kultur murni.

4. Identifikasi Jamur

Identifikasi secara makroskopik diamati dengan cara pengamatan morfologi pada setiap koloni. Pengamatan morfologi jamur mencakup pengamatan warna, permukaan koloni, tekstur, margin atau tepi koloni (Ganjar, 1999). Sedangkan untuk pengamatan identifikasi mikroskopik jamur selulolitik dilakukan metode Moist Chamber. Identifikasi karakteristik jamur dicocokkan berdasarkan karakteristik dan morfologi pada buku identifikasi.

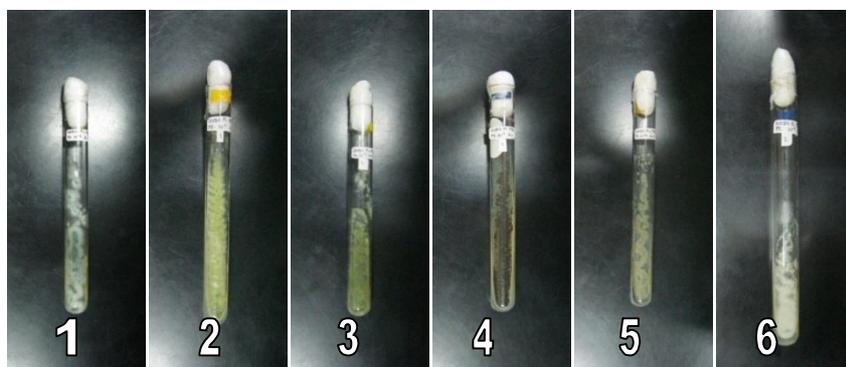
5. Uji Aktivitas Degradasi Selulosa

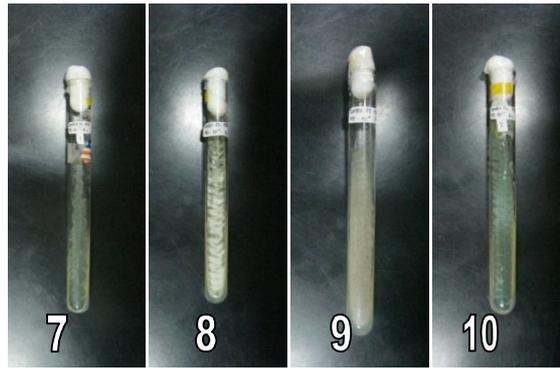
Isolat jamur diinokulasikan pada medium PDA dan diinkubasi disuhu ruang selama 24 jam. Setelah isolat jamur tumbuh, permukaan medium ditetesi dengan indikator Kongo red kemudian dibilas dengan NaCl. Selanjutnya, diamati dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekitar koloni. Rasio antara diameter zona bening dan diameter koloni jamur dipakai untuk mengetahui tingkat kemampuan selulolitik jamur.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolat Jamur Selulolitik Limbah Bioetanol dari Singkong

Jamur selulolitik yang telah berhasil diisolasi dari limbah padat bioetanol dari singkong diperoleh sebanyak 10 isolat. Adapun isolat jamur yang diperoleh, tercantum pada Gambar 1.

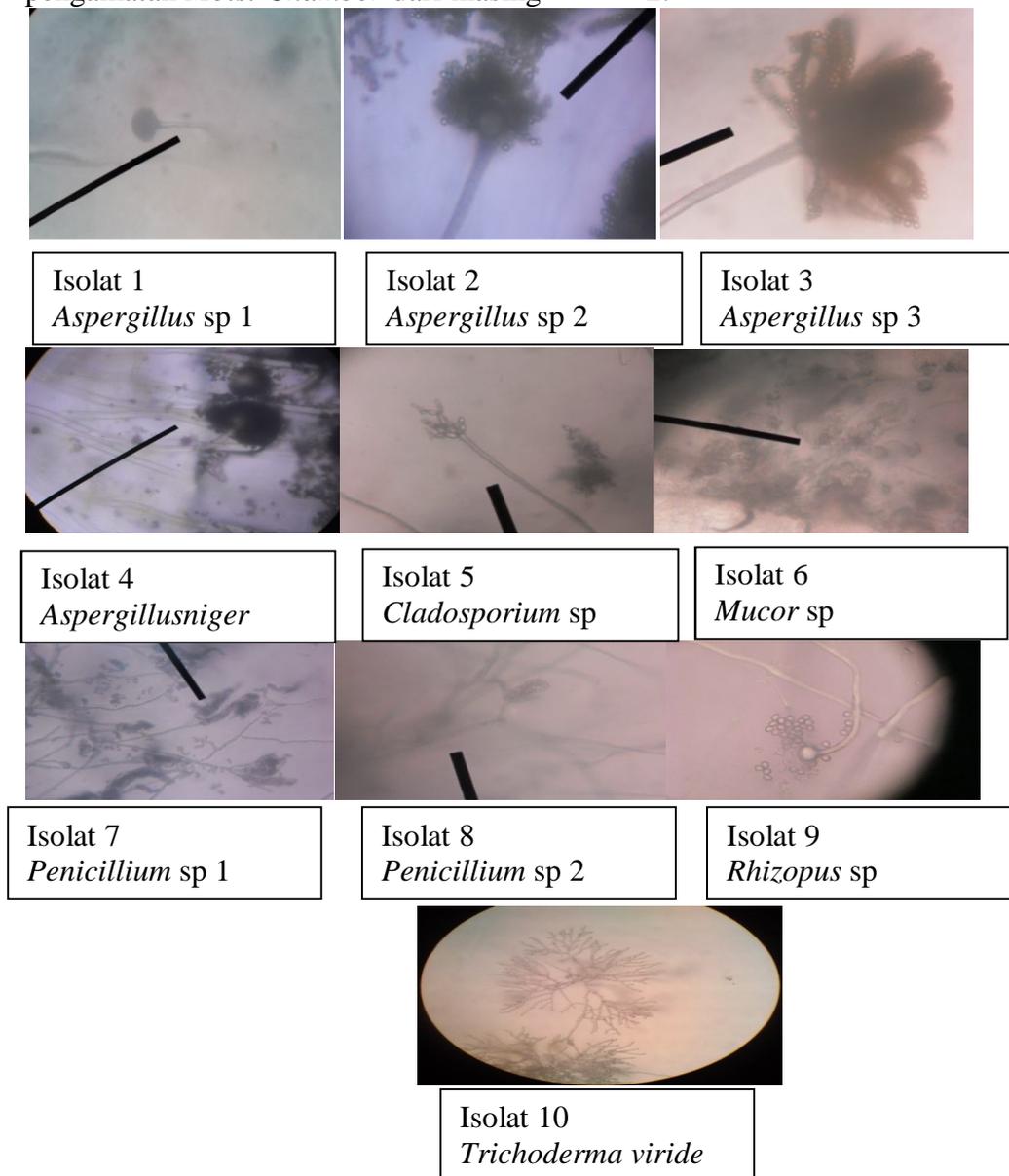




Gambar 1. Isolat Jamur

Hasil identifikasi berdasarkan penampakan mikroskopik pada pengamatan *Moist Chamber* dari masing-

masing isolat jamur, diperoleh gambaran isolat jamur seperti tampak pada Gambar 2.



Gambar 2. Genus dan Spesies dari Jamur

Isolat 1

Isolat 1 teridentifikasi dari genus *Aspergillus* sp 1. Ciri-ciri makroskopik *Aspergillus* sp 1 yang diisolasi pada medium PDA pada umur 7 hari dengan suhu inkubasi 30°C berwarna hijau tua, permukaan koloni mendatar dengan tekstur permukaan kasar dan berbutir, karena lebatnya konidiofor yang terbentuk dari miselia yang ada di agar, sebalik koloni tidak berwarna, dan margin koloni tidak rata. *Aspergillus* sp 1 tidak memiliki lingkaran konsentris dan tidak menghasilkan eksudat. Ciri-ciri mikroskopik yang diperoleh adalah konidiofor pendek, dan tersusun tunggal. Permukaan konidiofor berdinding halus dan berwarna hialin. Ujung konidiofor membentuk vesikula yang berbentuk gada yang lebar. Lapisan atas vesikula yang terbentuk langsung pada vesikula disebut fialid menghasilkan konidia. Konidia berbentuk bulat hingga semi bulat.

Isolat 2

Isolat 2 teridentifikasi dari genus *Aspergillus* sp 2. Ciri-ciri makroskopik *Aspergillus* sp 2 yang diisolasi pada medium PDA pada umur 7 hari dengan suhu inkubasi 30°C berwarna hijau kekuningan, permukaan koloni mendatar dengan tekstur permukaan kasar dan berbutir karena bersporulasi lebat, sebalik koloni berwarna kuning dan margin koloni tidak rata. *Aspergillus* sp 2 tidak memiliki lingkaran konsentris dan menghasilkan eksudat berwarna kuning. Ciri-ciri mikroskopik yang diperoleh adalah konidiofor berbentuk panjang, permukaan konidiofor berdinding kasar dan berwarna hialin. Ujung konidiofor membentuk vesikula yang berbentuk semi bulat. Fialid terbentuk pada vesikula. Konidia berbentuk bulat hingga semi bulat.

Isolat 3

Isolat 3 teridentifikasi dari genus *Aspergillus* sp 3. Ciri-ciri makroskopik

Aspergillus sp 3 yang diisolasi pada medium PDA pada umur 7 hari dengan suhu inkubasi 30°C berwarna hijau kekuningan agak pucat, permukaan koloni mendatar dengan tekstur permukaan kasar dan berbutir karena bersporulasi lebat, sebalik koloni berwarna kuning dan margin koloni tidak rata. *Aspergillus* sp 3 tidak memiliki lingkaran konsentris dan menghasilkan eksudat berwarna kuning kecoklatan. Ciri-ciri mikroskopik yang diperoleh adalah konidiofor berbentuk panjang, berwarna hialin dan berdinding kasar. Vesikula berbentuk semi bulat.

Isolat 4

Isolat 4 teridentifikasi dari spesies *Aspergillus niger*. Ciri-ciri makroskopik *Aspergillus niger* yang diisolasi pada medium PDA pada umur 7 hari dengan suhu inkubasi 30°C berwarna hitam karena lebatnya konidiofor yang terbentuk. Permukaan koloni mendatar dengan tekstur permukaan kasar dan berbutir. Margin koloni tidak rata, sebalik koloni berwarna hitam dan tidak menghasilkan eksudat. Sedangkan ciri-ciri mikroskopik yang diperoleh adalah konidiofor berbentuk panjang, berdinding halus dan berwarna hialin kecoklatan. Vesikula berbentuk bulat. Fialid terbentuk pada metula dan berwarna coklat. Konidia berbentuk bulat.

Isolat 5

Isolat 5 teridentifikasi dari genus *Cladosporium* sp. Ciri-ciri makroskopik *Cladosporium* sp. yang diisolasi pada medium PDA pada umur 7 hari dengan suhu inkubasi 30°C, berwarna hijau lumut/hijau tua kecoklatan, sebalik koloni berwarna hijau kehitaman. Permukaan koloni menggunung dan tekstur permukaan seperti beludru. Margin koloni rata/beraturan, tidak memiliki lingkaran konsentris dan menghasilkan eksudat berwarna hialin.

Sedangkan ciri-ciri mikroskopik yang diperoleh adalah memiliki hifa yang bersekat/septum dengan multinukleat, konidiofor berbentuk lateral atau terminal pada hifa, konidia berbentuk rantai dan berdinding halus. Ramokonidia terdapat pada basis dari rantai bersepta 1 hingga 2, berbentuk silindris dan berdinding halus. Konidia terdapat pada rantai yang bercabang yang berbentuk elips.

Isolat 6

Isolat 6 teridentifikasi dari genus *Mucor* sp. Ciri-ciri makroskopik *Mucor* sp yang diisolasi pada medium PDA pada umur 7 hari dengan suhu inkubasi 30°C, berwarna putih agak krem, permukaan koloni datar dengan tekstur berbutir halus dan margin koloni rata, sebalik koloni berwarna putih. *Mucor* sp tidak memiliki lingkaran konsentris dan tidak menghasilkan eksudat. Sedangkan ciri-ciri mikroskopik yang diperoleh adalah sporangiospora berbentuk elips dan kolumela berbentuk bulat.

Isolat 7

Isolat 7 teridentifikasi dari genus *Penicillium* sp 1. Ciri-ciri makroskopik *Penicillium* sp 1 yang diisolasi pada medium PDA pada umur 7 hari dengan suhu inkubasi 30°C, berwarna hijau tua agak redup, sebalik koloni berwarna krem. Permukaan koloni mendatar dengan tekstur permukaan seperti beludru, margin koloni rata. Pada umur 3 hari saat koloni ditanam dengan metode titik tumbuh berbentuk seperti cakram, hal ini menyatakan bahwa *Penicillium* sp 1 memiliki lingkaran konsentris dan pada saat ditanam dengan metode streak berwarna hijau agak biru pucat. *Penicillium* sp 1 tidak menghasilkan eksudat. Ciri-ciri mikroskopik yang diperoleh adalah hifa tidak bersepta, konidiofor berbentuk bening dan halus, memiliki banyak percabangan. Fialid

berbentuk silindris/seperti botol dan berdinding tebal. Konidia berbentuk bulat dan semibulat, berwarna hialin dan berdinding halus.

Isolat 8

Isolat 8 teridentifikasi dari genus *Penicillium* sp 2. Ciri-ciri makroskopik *Penicillium* sp 2 yang diisolasi pada medium PDA pada umur 7 hari dengan suhu inkubasi 30°C, berwarna putih. Sebalik koloni berwarna putih. Permukaan koloni kasar, dan margin koloni rata. Tidak terdapat lingkaran konsentris dan *exudate drops*. Sedangkan ciri-ciri mikroskopik yang diperoleh adalah hifa tidak bersepta, konidiofor berbentuk bening dan halus, Fialid berbentuk silindris/seperti botol dan berdinding tebal. Konidia berbentuk bulat dan semibulat, berwarna hialin dan berdinding halus.

Isolat 9

Isolat 9 teridentifikasi dari genus *Rhizopus* sp. Ciri-ciri makroskopik *Rhizopus* sp yang diisolasi pada medium PDA pada umur 7 hari dengan suhu inkubasi 30°C, berwarna keputihan kemudian menjadi coklat keabu-abuan disebabkan karena warna coklat dari sporangiofor dan warna coklat kehitaman dari sporangia. Permukaan merambat karena memiliki rhizoid dan tekstur permukaan berambut, sebalik koloni berwarna putih. Margin koloni tidak dapat ditentukan karena *Rhizopus* sp ini pertumbuhannya sangat cepat pada hari kedua setelah inokulasi diameternya mencapai 2 cm, pada hari ketiga 7,1 cm dan pada hari keempat sudah memenuhi cawan petri. *Rhizopus* sp tidak memiliki lingkaran konsentris dan tidak menghasilkan eksudat. Sedangkan ciri-ciri mikroskopik yang diperoleh adalah memiliki rhizoid, sporangia berbentuk bulat hingga semi bulat dan berwarna coklat kehitaman.

Kolumela berbentuk bulat. Sporangiospora berbentuk tidak teratur, ada yang berbentuk bulat dan elips serta memiliki garis pada permukaannya.

Isolat 10

Isolat 10 teridentifikasi dari genus *Trichodermaviride*. Ciri-ciri makroskopik *Trichodermaviride* yang diisolasi pada medium PDA pada umur 7 hari dengan suhu inkubasi 30°C, berwarna hijau tua. Permukaan koloni mendatar dan memiliki tekstur permukaan halus dan berbutir, margin koloni rata. Pada umur 3 hari saat koloni ditanam dengan metode titik tumbuh berbentuk seperti cakram berwarna putih, kuning, hijau muda, dan hijau tua, hal ini dikatakan bahwa *Trichodermaviride* memiliki lingkaran konsentris. *Trichoderma viride* tidak menghasilkan eksudat. Sedangkan ciri-ciri mikroskopik yang diperoleh adalah hifa berbentuk pipih, bersekat, dan bercabang-cabang membentuk anyaman

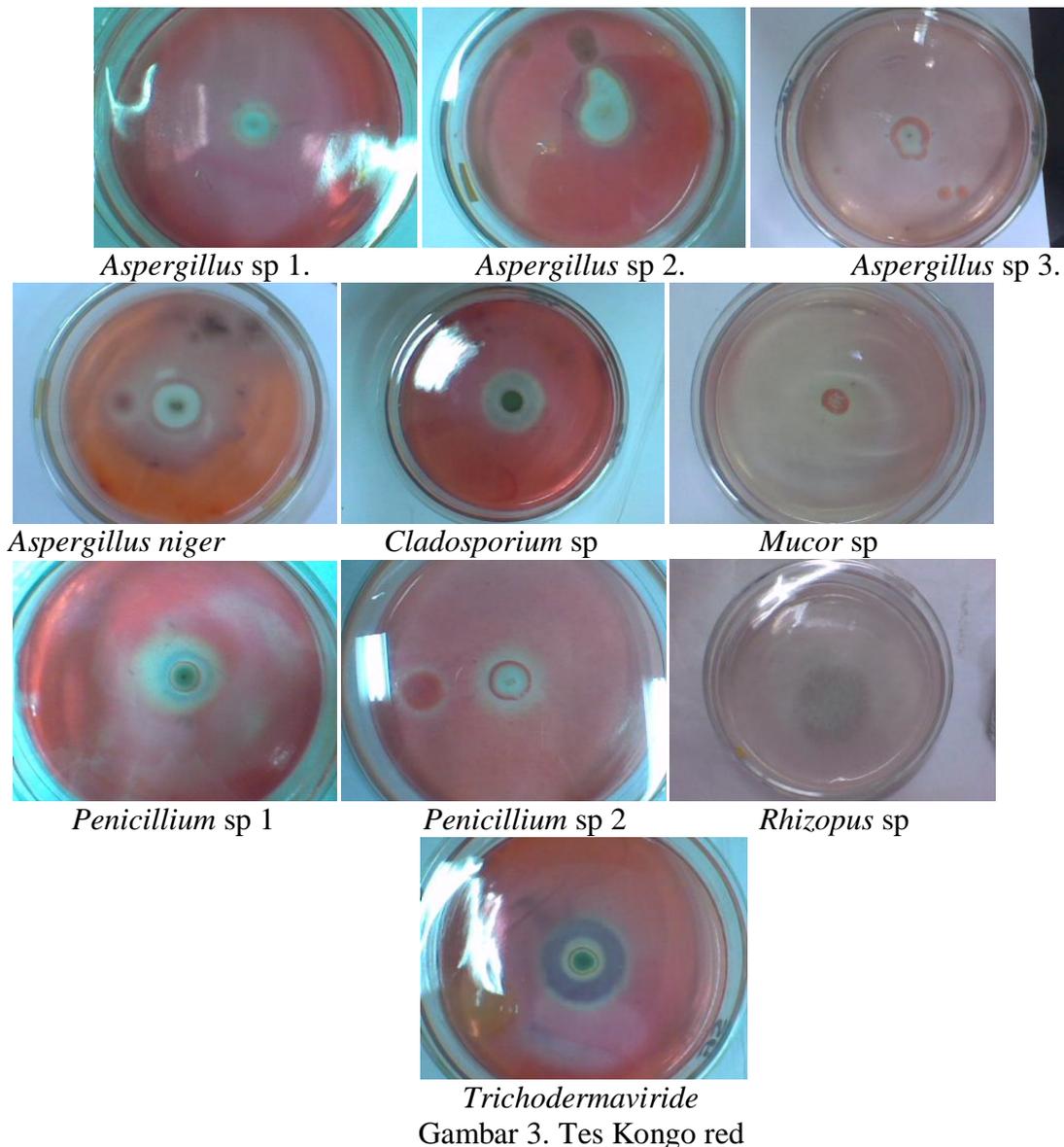
yang disebut miselium. Konidiofornya bercabang berbentuk *verticillate*. Pada bagian ujung konidiofornya tumbuh sel yang bentuknya menyerupai botol (*fialida*).

2. Uji Aktivitas Enzim Selulase (Screening)

Berdasarkan perbandingan diantara diameter zona bening dan diameter koloni yang terbentuk pada setiap isolat, empat dari sepuluh isolat jamur mempunyai kemampuan degradasi selulosa lebih besar, yaitu berasal dari genus *Trichodermaviride*, *Penicillium* sp 1, *Cladosporium* sp dan *Aspergillus niger*. Sedangkan satu dari sepuluh isolat jamur tidak mempunyai kemampuan degradasi selulosa. Sebagai perbandingan diantara diameter zona bening dan diameter koloni yang terbentuk pada setiap isolat bisa dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Kemampuan Produksi Selulase (*Screening*)

No.	Fungi	DZ (cm)	DK (cm)	IS	Nomor Kandidat IS Jamur
1.	<i>Aspergillus</i> sp 1	1,6	1,25	1,28	8
2.	<i>Aspergillus</i> sp 2	2,7	2,1	1,28	9
3.	<i>Aspergillus</i> sp 3	2,2	1,65	1,3	7
4.	<i>Aspergillus niger</i>	4,3	2	2,15	4
5.	<i>Cladosporium</i> sp	3	1,25	2,4	3
6.	<i>Mucor</i> sp	2,175	1.15	1,89	5
7.	<i>Penicillium</i> sp 1	3	1	3	2
8.	<i>Penicillium</i> sp 2	2,15	1,35	1,59	6
9	<i>Rhizopus</i> sp	0	7,1	0	10
10.	<i>Trichodermaviride</i>	3,25	1	3,25	1



Jamur dapat mendegradasi selulosa karena mampu menghasilkan enzim selulase. Jika pengeluaran jumlah enzim selulase pada jamur lebih besar maka terjadi degradasi selulosa lebih cepat (Bagga dan Sandhu, 1987 dalam Zumrotiningrum dkk., 2004). Diantara empat isolat jamur yakni *Trichoderma viride*, *Penicillium sp 1*, *Cladosporium sp* dan *Aspergillus niger*, dua diantaranya dapat digunakan untuk pengolahan pakan ternak dari limbah padat bioetanol yaitu *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*. Karena keduanya memiliki daya selulolitik yang cukup tinggi, sehingga diharapkan dapat

meningkatkan kandungan protein, energi, bahan kering dan mampu mendegradasi serat kasar pada limbah padat bioetanol agar nilai mutu limbah menjadi lebih baik dikonsumsi oleh ternak.

D. KESIMPULAN

Dalam penelitian ini, didapatkan 10 isolat jamur yang tumbuh pada limbah padat bioetanol, diantaranya termasuk ke dalam genus *Aspergillus sp 1*, *Aspergillus sp 2*, *Aspergillus sp 3*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium sp*, *Mucor sp*, *Penicillium sp 1*, *Penicillium sp 2*, *Rhizopus sp* dan

Trichodermaviride. *Trichodermaviride*, *Penicillium* sp 1, *Cladosporium* sp dan *Aspergillus niger* merupakan kandidat terbaik yang memiliki kemampuan paling tinggi dalam mendegradasi selulosa. *Trichodermaviride* dan *Aspergillus niger* dapat digunakan untuk pengolahan pakan ternak dari limbah padat bioetanol.

REFERENSI

- Agustini, Nurul. 2010. *Manajemen Pengelolaan Limbah Pertanian Untuk Pakan Ternak Sapi*. Petunjuk Praktis. Balai Besar Pengkajian Dan Pengembangan Teknologi Pertanian. Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian. NTT.
- Fauzana, dkk. 2007. *Isolation, Identification and Selection of Cellulolytic fungi From Banana Waste (Musa paradisiaca)*. Universitas Mangkurat Lambung. Banjarbaru.
- Gandjar, I dan Syamsuridzal, W. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Hidayat, Cecep. 2010. *Mendongkrak Kecernaan Singkong*. Majalah TROBOS. [Online]. Tersedia di: http://.trobos.com/show_article.php?rid=19&aid=2036. (29 April 2011).
- Irawan, Bambang. 2008. *Uji Aktivitas Enzim Selulase dan Lipase Pada Mikrofungi Selama Proses Dekomposisi Limbah Cair Kelapa Sawit dengan Pengujian Kultur Murni*. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung (UNILA). Lampung. Jurnal Penelitian.
- Rikana, Heppy dan Adam, Risky. 2009. *Pembuatan Bioethanol Dari Singkong Secara Fermentasi Menggunakan Ragi Tape*. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro. Belum dipublikasikan.
- Uusima, Maria. 2006. *Mastering The Fermentation Process*. Vaisala News Article. Volume 172/2006. Finland. URL: http://www.vaisala.com/files/Mastering_thefermentation_process.pdf. (30 April 2012).
- Wira, 2011. *Penanganan Limbah Bioethanol dan Pemurnian Bioethanol 99.5%*. Tersedia di: <http://www.facebook.com/notes/wira-kampung/bioethanol-2-penanganan-limbah-bioethanol-dan-pemurnian-bioethanol-995/257401214272027>. (30 April 2012).
- Yati S. Soeka dan Dudi D. Sastraatmadja, 1992. *Pengaruh Penambahan Sumber-Sumber Nitrogen Terhadap Produksi Enzim Selulase Oleh Aspergillus niger Terseleksi Pada Media Dedak*. Balitbang Mikrobiologi, Puslitbang Biologi-LIPI, Bogor. Jurnal Penelitian

