

**KAJIAN PENGARUH PENINGKATAN KONSENTRASI EKSTRAK KHAMIR PADA
MEDIA HESTRIN DAN SCHRAMM TERHADAP PEROLEHAN SELULOSA
OLEH *Acetobacter liquefaciens* SRC-4**

Ermina Sari¹

Abstract

SRC-4 strain is one of bacteria cellulose producing strains. It was obtained from the rotten coconut meat from Semplak, Bogor. The objective of this study is to obtain the optimum composition of modified HS medium to produce cellulose, by increasing yeast extract concentration and also combination of carbon and vitamin sources. The production of cellulose by SRC-4 was done by 18 treatments on static culture. The increasing of yeast extract concentration, combination of carbon and vitamin sources gave significant effect to the production of cellulose. The highest yield of cellulose was produced at the treatment consist of 1.0 % yeast extract (as nitrogen source), 1 % glucose + 1 % glycerol (as carbon source) and 0.164 ppm vitamin B₁ + 0.020 ppm vitamin B₂ (as vitamin source).

Kata Kunci: *cellulose, Acetobacter liquefaciens SRC-4, yeast*

PENDAHULUAN

Penggunaan selulosa di bidang industri semakin berkembang, terutama sebagai bahan utama untuk produksi papan, kertas dan serat rayon. Selulosa yang diperoleh dari tumbuhan lebih dikenal dengan istilah lignoselulosa. Saat ini, pemanfaatan bahan lignoselulosa masih sangat terbatas karena struktur selulosanya sangat kompleks. Menurut Englehardt (1995), selulosa tumbuhan masih terkontaminasi atau tercampur dengan bahan lainnya yang perlu dihilangkan sebelum digunakan sebagai bahan baku industri, yaitu hemiselulosa dan lignin. Lignin sangat mempengaruhi ikatan antar serat, kekuatan warna dan kilap kertas, menghambat penggilingan serta membutuhkan bahan kimia yang banyak untuk degradasi.

Selain dari tumbuhan, selulosa juga dapat dihasilkan oleh mikroorganisme dengan tingkat kemurnian yang lebih tinggi. Di Indonesia penggunaan selulosa dari mikroorganisme sebagai sumber selulosa alternatif selain serat dan kayu masih belum begitu populer. Kelompok

¹ Dosen Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Lancang Kuning Pekanbaru, email: erminasari@yahoo.com

mikroba yang dapat menghasilkan selulosa ini adalah kelompok *Acetobacter*, yang tersebar luas di alam. Selulosa yang dihasilkan memiliki tingkat kemurnian yang tinggi, struktur jaringan yang kuat, dan produknya dapat didegradasi secara biologis, sehingga tidak berbahaya bagi lingkungan.

Acetobacter tumbuh dalam substrat yang mengandung gula, menyukai lingkungan asam dan memerlukan sumber nitrogen untuk aktivitasnya. Media fermentasi untuk pertumbuhan *Acetobacter* yang banyak dikenal selama ini adalah air kelapa. *Acetobacter* dapat tumbuh dengan baik pada media ini, dan masih belum optimal dalam media sintetis yang tidak menggunakan air kelapa seperti media HS (Hestrin dan Schramm). Air kelapa mengandung nutrisi yang sangat baik bagi pertumbuhan bakteri penghasil selulosa. Diantara kandungan yang dimiliki air kelapa adalah vitamin, mineral, protein dan karbohidrat. Perbedaan kandungan nutrisi ini dapat mengakibatkan pertumbuhan mikroorganisme pada media air kelapa dan media sintetis menjadi berbeda.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menyebutkan korelasi positif terhadap pertumbuhan mikroorganisme dan perolehan selulosa dengan adanya penambahan sumber nitrogen dan mineral (Suprabaningrum, 1992 dan Octarina, 1999). Pertumbuhan mikroorganisme diharapkan dapat ditingkatkan dengan menambahkan sumber-sumber nutrisi lain yang ada pada air kelapa ke dalam media sintetis, seperti sumber vitamin dan sumber karbon lainnya untuk dikombinasikan dengan glukosa. Vitamin yang diberikan ditujukan untuk meningkatkan metabolisme pertumbuhan mikroorganisme sedangkan kombinasi sumber karbon ditujukan untuk keseimbangan pertumbuhan mikroorganisme dan perombakan glukosa menjadi selulosa yang lebih baik.

Tujuan dari kajian ini adalah untuk memproduksi selulosa dengan menggunakan bakteri isolate lokal pada media HS termodifikasi sehingga diperoleh komposisi media HS termodifikasi yang terbaik untuk memproduksi selulosa.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam kajian ini adalah buffer sodium fosfat, pepton, ekstrak khamir, gliserol, glukosa, vitamin B₁, vitamin B₂, KH₂PO₄, MgSO₄.7H₂O, Na₂HPO₄, CaCO₃, asam asetat 1.0 %, larutan HCl 1.0 %, larutan NaOH 1.0 %, kapas dan aquades.

Peralatan yang digunakan adalah tabung reaksi, cawan petri, pH meter, otoklaf, incubator, Erlenmeyer, pengaduk magnetis, pembakar Bunsen, gelas piala, spektrofotometer dan *shaker incubator*.

Pembuatan Media Fermentasi

Untuk 100 ml media HS modifikasi diperlukan bacto pepton sebanyak 0.5 g, asam sitrat 0.12 g, Na₂HPO₄ sebanyak 0.15 g, MgSO₄.7H₂O 0.1 g, KH₂PO₄ 0.52 g dan CaCO₃ 0.04 g. Selain bahan-bahan di atas, ditambahkan juga sumber karbon berupa glukosa dan gliserol serta sumber vitamin dan ekstrak khamir dengan komposisi seperti pada rancangan percobaan. Setelah semua bahan tercapur, selanjutnya media di sterilisasi dengan menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Sterilisasi sumber karbon dan vitamin dilakukan terpisah disebabkan kedua bahan mudah rusak karena panas. Aquades yang akan digunakan untuk melarutkan vitamin disterilisasi terlebih dahulu selama 15 menit pada suhu 121°C. selanjutnya setelah aquades dingin, dilakukan penambahan vitamin secara steril pada *laminar flow*. Kemudian sumber karbon dan vitamin dicampurkan ke dalam media fermentasi secara steril sesuai komposisi yang diinginkan.

Penyiapan Starter (Inokulum)

Media starter yang telah disiapkan ditambahkan biakan *Acetobacter* sebanyak 5 % dari volume media, atau sekita dua ose penuh untuk volume media 100 ml. selanjutnya diinkubasi menggunakan *shaker incubator* pada suhu antara 28 – 30°C dengan kecepatan putar 200 rpm selama empat hari.

Fermentasi Produksi Selulosa

Media yang telah disiapkan, diinokulasi dengan starter *Acetobacter* sebanyak 10 % dari volume media. Selanjutnya media yang telah diinokulasi diinkubasi selama 12 hari pada suhu kamar. Selama inkubasi berlangsung media harus bebas dari guncangan.

Rancangan Percobaan

Untuk mengetahui pengaruh faktor-faktor perlakuan dan interaksi antar factor dilakukan analisis dengan menggunakan model rancangan acak lengkap pada percobaan faktorial dengan ulangan sebanyak empat kali.

Faktor A untuk penambahan ekstrak khamir dengan taraf faktor A1 = 0.5 %, A2 = 0.75 % dan A3 = 1.0 %. Faktor B untuk kombinasi sumber karbon dengan taraf faktor B1 = Glukosa 0.5 % + Gliserol 1.5 %, B2 = Glukosa 1.0 % + Gliserol 1.0 % dan B3 = Glukosa 1.5 % + Gliserol 0.5 %. Faktor C untuk kombinasi sumber vitamin dengan taraf faktor C1 = Vitamin B₁ 0.041 ppm + vitamin B₂ 0.005 ppm dan C2 = vitamin B₁ 0.164 ppm + vitamin B₂ 0.020 ppm.

Analisis

Analisis yang dilakukan adalah penghitungan kadar gula total awal dan akhir fermentasi dengan menggunakan metoda fenol (Apriyantono, *et al.*, 1989). Selain itu juga akan dihitung perolehan (yield) selulosa kering menggunakan metoda Yang *et al.* (1998).

Hasil dan Pembahasan

Modifikasi Media HS

Media yang baik diperlukan untuk menjamin pertumbuhan yang baik pula. Pemilihan media pertumbuhan untuk pembentukna produk merupakan langkah penting untuk menjamin keberhasilan produksi. Media yang akan digunakan harus mengandung komponen-komponen kimiawi yang diperlukan untuk mensuplai kebutuhan elemen dalam pembentukan massa sel dan produk serta harus dapat menyediakan energi yang cukup untuk sintesis dan pemeliharaan. Pembuatan media HS termodifikasi didasarkan pada hasil analisis air kelapa serta penelitian terdahulu yang memberikan perolehan selulosa terbaik hasil modifikasi media HS.

Kajian ini menggunakan dua jenis sumber karbon yaitu glukosa dan gliserol dengan menggunakan tiga kombinasi konsentrasi yang berbeda, dua jenis vitamin yaitu B₁ dan B₂ dengan dua kombinasi konsentrasi yang berbeda serta ekstrak khamir dengan tiga konsentrasi yang berbeda.

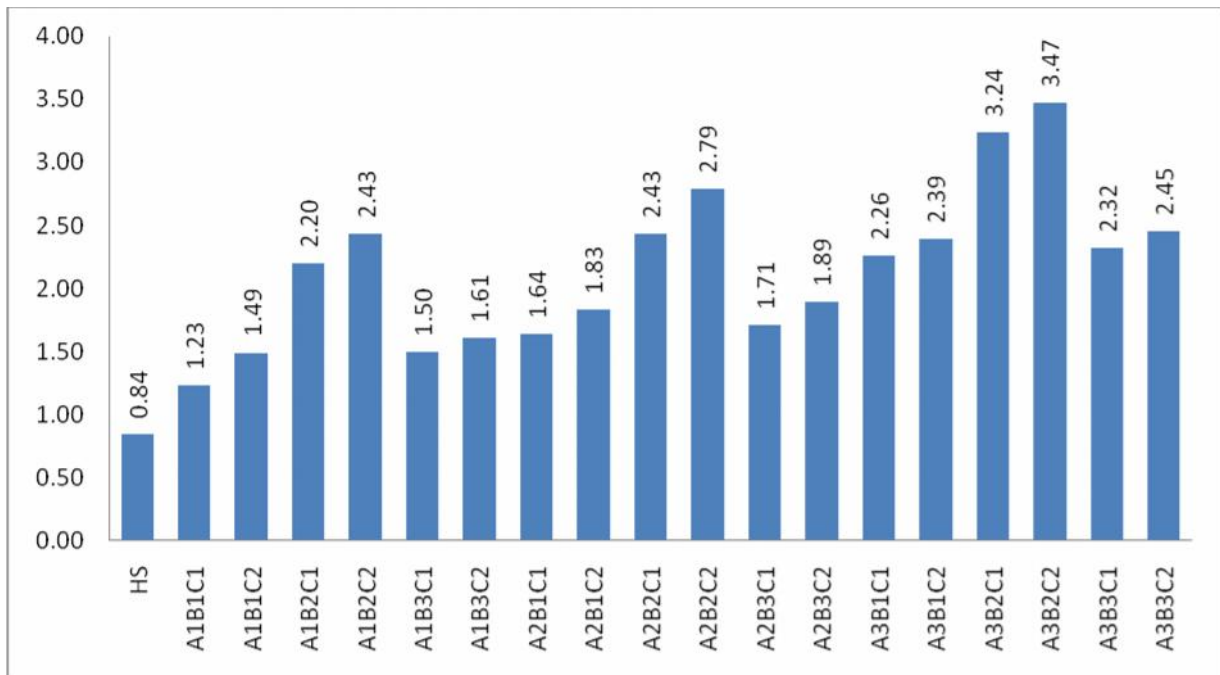
Penentuan konsentrasi sumber karbon didasarkan pada konsentrasi glukosa pada media HS yaitu sebesar 2 %. Tetapi pada kajian ini, glukosa dikombinasikan dengan menambahkan gliserol. Jumlah total konsentrasi sumber karbon (glukosa + gliserol) sama dengan konsentrasi glukosa pada media HS.

Peningkatan konsentrasi ekstrak khamir dilakukan sampai mencapai konsentrasi dua kali lipat dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak khamir pada media HS murni. Konsentrasi yang digunakan adalah 0.5 %, 0.75 % dan 1.0 %.

Kombinasi dilakukan terhadap masing-masing taraf faktor konsentrasi ekstrak khamir, sumber karbon dan vitamin, sehingga diperoleh 18 komposisi media HS termodifikasi.

Pengaruh Jenis Media terhadap Perolehan Selulosa

Hasil pengamatan rata-rata perolehan selulosa dari semua perlakuan disajikan pada gambar 1. Perolehan selulosa pada media HS termmodifikasi terlihat relative jauh lebih tinggi bila dibandingkan dengan perolehan pada media HS murni. Kisaran peningkatan perolehan selulosa ini bisa mencapai tiga kali lipat dari perolehan selulosa pada media HS murni. Peningkatan tertinggi diperoleh pada media termomodifikasi dengan perlakuan A3B2C2 yaitu sebesar 3.47 g/L dan perolehan terendah pada perlakuan A1B1C1 yaitu sebesar 1.23 g/L.



Gambar 1. Perolehan selulosa hasil fermentasi pada media HS termomodifikasi

Secara deskriptif berdasarkan grafik terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak khamir, cenderung memberikan perolehan selulosa yang meningkat. Hal ini disebabkan ekstrak khamir merupakan sumber nitrogen yang diperlukan oleh *Acetobacter* untuk pembentukan selulosa. Selain merupakan sumber nitrogen bagi bakteri, ekstrak khamir juga memiliki kandungan senyawa yang diperlukan oleh *Acetobacter* untuk pertumbuhan diantaranya beberapa vitamin dan mineral.

Rata-rata perolehan selulosa dengan kombinasi sumber karbon menunjukkan bahwa faktor konsentrasi ekstrak khamir yang sama, kombinasi sumber karbon glukosa dan gliserol sebesar 1.0 % dan 1.0 % (taraf faktor B2) memberikan peningkatan perolehan selulosa yang signifikan.

Sumber karbon digunakan oleh *Acetobacter* sebagai sumber energi bagi aktivitas metabolisme mikroorganisme. Glukosa berperan sebagai senyawa antara (prekursor) pada pembentukan selulosa ekstraselular dari *Acetobacter*. Butarbutar (1991) menyebutkan bahwa semakin banyak glukosa yang ditambahkan ke dalam substrat maka selulosa yang terbentuk juga semakin banyak. Namun demikian penambahan gula yang berlebihan justru akan menimbulkan tekanan osmotik dapat mengganggu fisiologis sel. Selain itu gula tersebut juga dapat diubah menjadi senyawa asam yang menyebabkan penurunan pH secara drastis sehingga mengganggu pertumbuhan mikroorganisme. Kemungkinan besar hal ini lah yang terjadi pada taraf faktor B3 (1.5 % glukosa + 0.5 % gliserol) yang menyebabkan pertumbuhan *Acetobacter* terganggu. Pada taraf faktor B1 (0.5 % glukosa + 1.5 % gliserol), konsentrasi gliserol yang ditambahkan lebih tinggi dibandingkan taraf faktor yang lain. Penambahan gliserol yang bersifat alkohol juga dapat mempengaruhi pertumbuhan *Acetobacter*. Sudarmaji *et al.* (1989) menyatakan bahwa semakin tinggi kadar etanol yang ditambahkan semakin berkurang pertumbuhan bakteri. Penambahan alkohol sebanyak 2 %, pertumbuhan bakteri sebesar 82 %, dengan alkohol 5 % bakteri yang tumbuh 58 % dan alkohol 10 % bakteri yang hidup hanya 13 %.

Pertumbuhan *Acetobacter* memerlukan vitamin-vitamin tertentu, dari vitamin B kompleks, seperti tiamin, asam pantotenat dan asam nikotinat (Suprabaningrum, 1992). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan penambahan vitamin dengan konsentrasi vitamin B₁ dan B₂ sebesar 0.164 ppm dan 0.02 ppm (taraf C2) memberikan perolehan selulosa relative lebih tinggi dibandingkan dengan taraf C1 (0.041 ppm vitamin B₁ + 0.005 ppm vitamin B₂). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi vitamin B₁ dan B₂ yang ditambahkan maka semakin tinggi pula perolehan selulosa yang didapat.

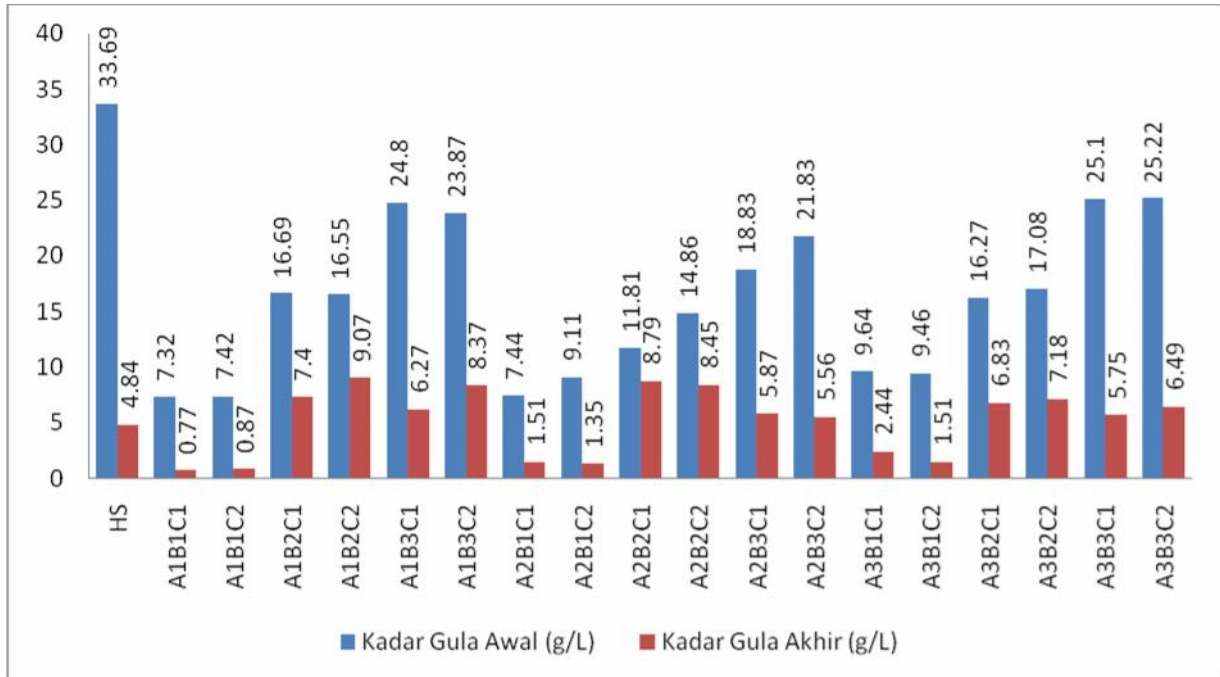
Hasil sidik ragam pengamatan terhadap perolehan selulosa menunjukkan hanya faktor tunggal saja yang memberikan pengaruh nyata pada $p = 0.01$. Sedangkan semua pengaruh interaksinya, baik interaksi orde satu (dua faktor) maupun orde dua (tiga faktor) tidak memberikan hasil nyata. Hal ini dapat diartikan bahwa tidak terdapat keterkaitan antara faktor yang khas dalam mempengaruhi keragaman nilai perolehan selulosa.

Hasil uji lanjut dengan menggunakan uji jarak berganda Duncan pada taraf uji 5 % terhadap faktor konsentrasi ekstrak khamir menunjukkan bahwa pada konsentrasi sebesar 1% (taraf faktor A3) memberikan perolehan selulosa yang paling tinggi dan berbeda nyata dengan taraf konsentrasi ekstrak khamir yang lebih rendah. Peningkatan rata-rata perolehan selulosa pada taraf A3 juga memberikan hasil yang relatif lebih tinggi disbanding A1 (0.5 %) dan A2 (0.75 %). Faktor kombinasi sumber karbon taraf B2 (1.0 % glukosa + 1.0 % gliserol) memberikan perolehan selulosa tertinggi dan berbeda nyata dengan taraf faktor B1 (0.5 % glukosa + 1.5 % gliserol) dan B3 (1.5 % glukosa + 0.5 % gliserol) pada taraf uji 5 %. Faktor kombinasi sumber vitamin taraf C1 (0.041 ppm vitamin B₁ + 0.005 ppm vitamin B₂) dan C2 (0.164 ppm vitamin B₁ + 0.02 ppm vitamin B₂) berada pada grup Duncan yang berbeda yang berarti bahwa kedua taraf faktor ini menunjukkan perbedaan hasil yang signifikan pada taraf uji 5 %.

Pengaruh Jenis Media terhadap Kadar Gula Total yang Dikonsumsi

Pengukuran kadar gula media fermentasi dilakukan dengan menggunakan metoda Fenol, dimana kadar gula yang terukur merupakan kadar gula total. Kadar gula yang diukur meliputi kadar gula awal (sebelum fermentasi) dan kadar gula akhir (setelah fermentasi). Pengukuran kadar gula awal dimaksudkan untuk mengetahui kandungan gula yang tersedia pada media akibat penambahan beberapa faktor diantaranya ekstrak khamir, kombinasi sumber karbon serta penambahan sumber vitamin. Sedangkan pengukuran kadar gula akhir dimaksudkan untuk mengetahui kadar gula yang masih terakumulasi dalam media fermentasi karena tidak dipergunakan oleh bakteri untuk sintesis selulosa maupun untuk aktivitas metabolismenya. Selanjutnya dapat dihitung selisih antara kadar gula awal sebelum fermentasi dengan kadar gula akhir fermentasi, yang menunjukkan nilai dari kadar gula yang dipergunakan oleh

bakteri selama fermentasi. Histogram dari kadar gula sebelum dan setelah fermentasi disajikan pada Gambar 2.

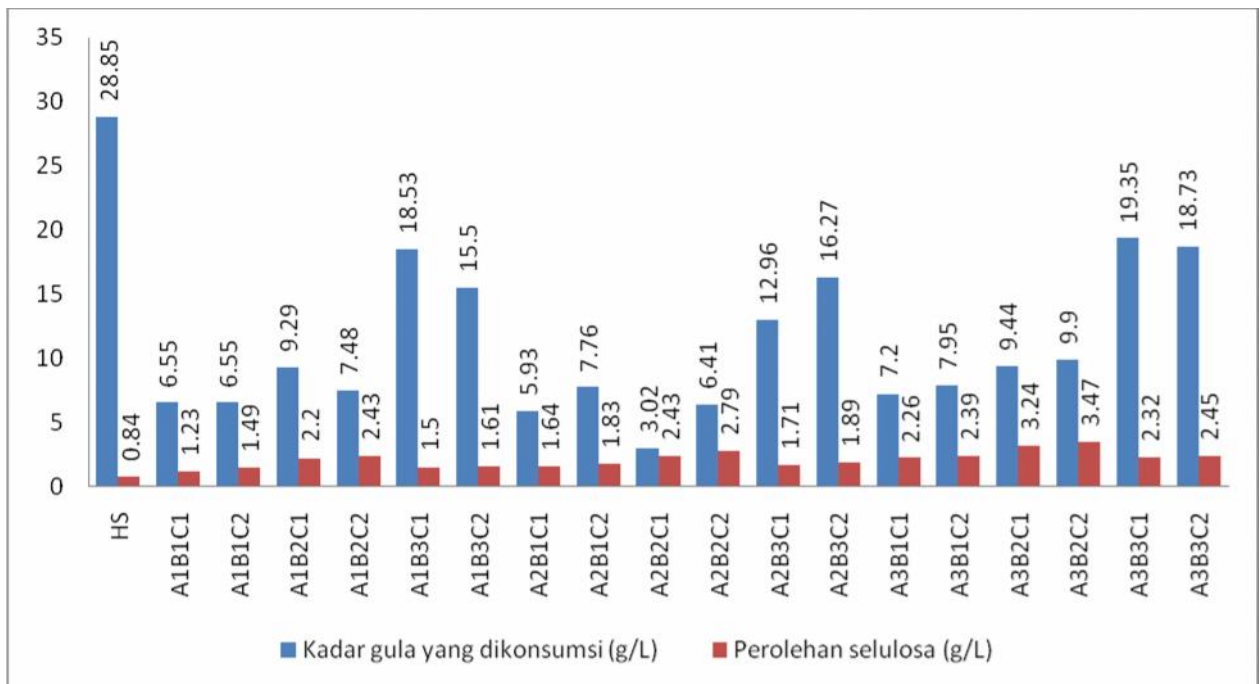


Gambar 2. Kadar gula sebelum dan setelah fermentasi

Secara deskriptif berdasarkan grafik dapat dikatakan bahwa kadar gula awal pada media HS termodifikasi relative lebih kecil dibandingkan dengan kadar gula awal media HS murni. Hal ini disebabkan karena pada media HS murni, sumber karbon yang digunakan adalah glukosa dengan konsentrasi yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan glukosa pada media HS termodifikasi, sehingga pada pengukuran kadar gula awal jelas terlihat bahwa pada media HS murni jauh lebih tinggi dibandingkan media lainnya. Rata-rata kadar gula awal dari media HS murni adalah sebesar 33.69 g/L. Sedangkan pada media HS termodifikasi kadar gula awal berkisar antara 7.32 g/L pada perlakuan A1B1C1 hingga 25.22 g/L pada perlakuan A3B3C2.

Selama fermentasi berlangsung, glukosa digunakan oleh bakteri sebagai senyawa antara (prekursor) dalam pembentukan selulosa. Selain itu sifat bakteri ini juga mampu mengubah gula menjadi asam menyebabkan adanya penurunan kadar gula pada akhir fermentasi. Secara deskriptif berdasarkan grafik dapat disimpulkan bahwa terjadi penurunan kadar gula pada semua perlakuan media yang diamati.

Konsumsi gula selama fermentasi dapat dilihat pada pengurangan kadar gula awal dan akhir media fermentasi. Secara deskriptif berdasarkan grafik terlihat bahwa konsumsi gula terbesar adalah pada media HS murni yaitu sebesar 28.85 g/L, dibandingkan dengan media HS termodifikasi yang hanya berkisar antara 3.02 g/L pada perlakuan A2B2C1 hingga 18.73 g/L pada media A3B3C2. Konsumsi gula terbesar pada HS murni ini tidak selalu berkorelasi positif dengan perolehan selulosa (Gambar 3). Hal ini disebabkan karena glukosa yang ada dalam media lebih banyak digunakan untuk pembentukan asam. Asam yang terakumulasi di dalam media HS murni menghambat terbentuknya selulosa.



Gambar 3. Kadar gula yang dikonsumsi dan perolehan selulosa

Pada media A3B2C2 yang memberikan perolehan selulosa terbesar terlihat bahwa gula yang dikonsumsi hanya sebesar 9.90 g/L dengan pH akhir yang cukup rendah mendekati pH akhir media HS murni. Hal ini membuktikan bahwa glukosa bukanlah satu-satunya faktor yang bisa meningkatkan selulosa. Selain glukosa, sumber nitrogen juga memegang peranan penting dalam pembentukan selulosa.

Hasil sidik ragam terhadap konsumsi gula selama fermentasi menunjukkan bahwa faktor A (peningkatan konsentrasi ekstrak khamir), faktor B (kombinasi sumber karbon) berpengaruh nyata pada taraf uji 1 % ($\alpha = 0.01$), serta interaksi faktor A dan B memberikan pengaruhnya nyata pada taraf uji 5 %. Pengaruh faktor sumber vitamin serta interaksi antar faktor A dan C, B dan C serta interaksi tiga faktor A, B dan C tidak berbeda nyata terhadap konsumsi gula media fermentasi.

Berdasarkan analisis lebih lanjut dengan uji jarak berganda Duncan, untuk taraf faktor A1 dan A3 menunjukkan perilaku yang sama yaitu konsumsi gula meningkat dengan semakin tingginya glukosa yang ditambahkan. Konsentrasi ekstrak khamir sebesar 0.75 % (taraf faktor A2) menunjukkan perilaku yang berbeda yaitu konsumsi gula tinggi pada taraf faktor B1 dan B3, sedangkan pada taraf faktor B2 terjadi penurunan.

Substrat esensial (gula) yang diberikan akan dikonversi menjadi massa sel metabolit selama proses pembentukan selulosa. Suprabaningrum (1992) menyebutkan bahwa setiap konversi dinilai secara kuantitatif oleh koefisien hasil, yang dinyatakan sebagai massa sel atau produk yang terbentuk per unit massa nutrient yang dikonsumsi. Koefisien hasil dapat dihitung dengan persamaan :

$$Y_{p/s} (\%) = \frac{Y}{S_0 - S_t} \times 100$$

dimana :

$Y_{p/s}$ = koefisien hasil (%)

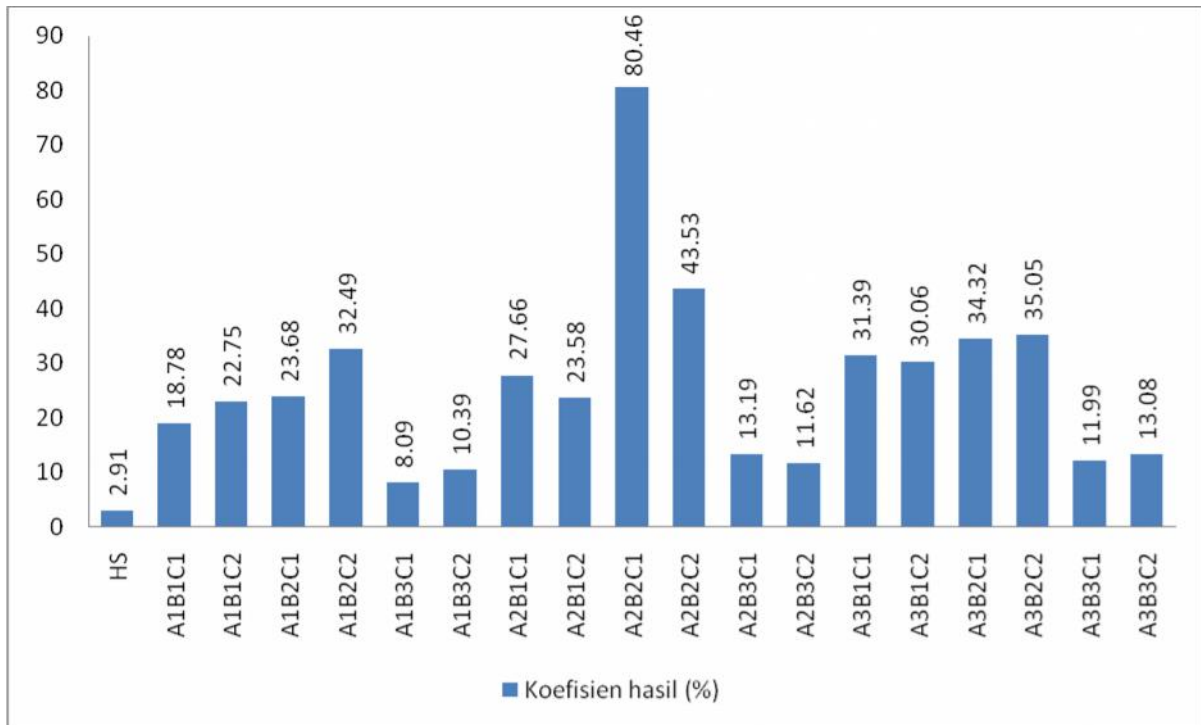
Y = perolehan selulosa (g/L)

S_0 = konsentrasi gula awal (g/L)

S_t = konsentrasi gula akhir (g/L)

Histogram koefisien hasil disajikan pada Gambar 4. Berdasarkan hasil penghitungan menggunakan persamaan di atas diketahui bahwa koefisien hasil pada media HS murni menunjukkan persentase yang paling kecil bila dibandingkan dengan media HS termodifikasi. Persentase terbesar pada media HS termodifikasi diperoleh pada media dengan perlakuan

A2B2C1 yaitu sebesar 80.46 %. Koefisien hasil yang tertinggi pada perlakuan ini tidak memberikan perolehan selulosa tertinggi pula. Perolehan selulosa tertinggi terdapat pada perlakuan A3B2C2 dengan koefisien hasil hanya sebesar 35.05 %.



Gambar 4. Koefisien hasil fermentasi

KESIMPULAN DAN SARAN

Isolat SRC-4 merupakan species *Acetobacter liquefaciens* yang bersifat gram negative, menghasilkan selulosa hanya pada permukaan media yang mengandung gula, serta menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah hydrogen peroksida menjadi H₂O dan O₂.

Perolehan selulosa oleh isolat SRC-4 pada media HS murni adalah sebesar 0.84 g/L. pada media fermentasi menggunakan media HS termodifikasi umumnya memberikan perolehan selulosa yang lebih tinggi dibandingkan media HS murni, dengan perolehan selulosa tertinggi pada perlakuan A3B2C2 yaitu sebesar 3,47 g/L sedangkan perolehan terendah pada perlakuan A1B1C1 sebesar 1.23 g/L. Berdasarkan kajian ini dapat disimpulkan bahwa media HS pada perlakuan A3B2C2 (1 % ekstrak khamir, 1 % glukosa, 1 % gliserol, 0.164 ppm

vitamin B₁ dan 0.02 ppm vitamin B₂) adalah modifikasi terbaik untuk memproduksi selulosa menggunakan isolate local SRC-4.

Peningkatan ekstrak khamir, kombinasi sumber karbon serta sumber vitamin berpengaruh nyata terhadap perolehan selulosa oleh isolate local SRC-4. Sedangkan kombinasi dua dan tiga faktor tidak memberikan pengaruh nyata secara statistic terhadap perolehan selulosa.

Faktor penambahan konsentrasi ekstrak khamir dan kombinasi sumber karbon serta interaksi antara keduanya menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap kadar gula yang dikonsumsi. Nilai kadar gula yang dikonsumsi berada pada kisaran 3.02 g/L hingga 19.34 g/L dengan persentase yang dikonversi menjadi selulosa berkisar antara 8.09 % hingga 80.46 %.

Daftar Pustaka

- Alaban, C. A. 1962. Studies on The Optimum Conditions for Nata de Coco Bacterium or Nata Formation in Coconut Water. The Philippine Agriculture Journal. 96(2) : 490 – 515.
- Apriyantono, A. Fardiaz, D., Puspitasari, N. L., Sedarnawati dan Budiyanto, S. 1989. Analisis Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB, Bogor.
- Butarbutar, R. S. 1991. Mempelajari Pembuatan Nata dari Batang Rumput Raja (*Pennisetum purpureophoides*). Teknologi Pangan dan Gizi. IPB, Bogor.
- Dimaguilla, L. A. 1967. Nata de Coco 2. Chemical Nature and Properties of Nata. Philippine Agriculture. 51 : 475 – 485.
- Dolendo, A. L dan Maniquis, P. L. 1967. Preparation and Storage Qualities of Fortified Nata de Coco. The Philippine Journal of Science.
- Embuscado, M. E., Marks, J. S. dan Miller, J. N. 1994. Bacterial Cellulose I. Factor Affecting the Production of Cellulose by *A. xylinum*. Food Hydrocolloids. 8 (5) : 407 – 418.
- Engelhardt, J. 1995. Source, Industrial Derivative and Commercial Application of Cellulose. Journal Carbohydrate. 12 : 5 – 13.

Fardiaz, S. 1988. Fisiologi Fermentasi. Pusat Antar Universitas, IPB, Bogor.

Masaoka, S., Ohe, T dan Sakaota, N. 1993. Production of Cellulose from Glucose by *A. xylinum*. Journal of Fermentation and Bioengineering. 75 (1) : 18 – 22.

Ross, P., Raphael, M. dan Moshe, B. 1991. Cellulose of Biosynthetic and Function in Bacteria. Microbiological Reviews, American Society for Microbiology. 55 (1) : 35 – 38.

Suprabaningrum, S. R. 1992. Faktor-faktor yang mempengaruhi Pembuatan Nata Sari Buah Tomat. Teknologi Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.

Tuleckle. 1961. Coconut. Longmans Green and Co., London.

Yang, Y. K., Hwang, J. W., dan Pyun, Y. R. 1998. Screening of Cellulose of Indonesia Producing Starins from Indonesia Fruit Sample. Laporan Penelitian (Tidak dipublikasikan). BRC, Yonsei University, Seoul, Korea.

Yoshino, T, Ashakura, T dan Yoda, K. 1995. Cellulose Production by *Acetobacter pasteurians* on Silicone Membrane. Journal of Fermentation and Bioengineering. 81 (1) : 32 – 36.