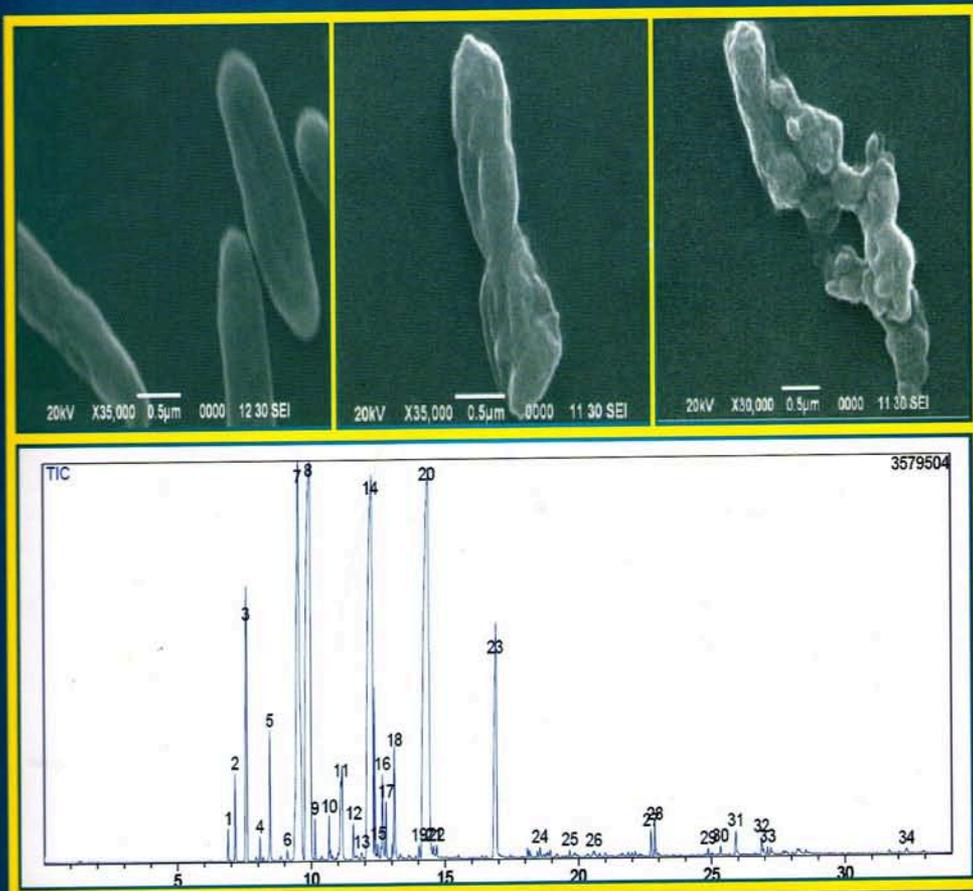


Berita Biologi

Jurnal Ilmiah Nasional



Diterbitkan Oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Berita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekarya-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan
Kusumadewi Sri Yulita, Marlina Ardiyani, Tukirin Partomihardjo

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan, Yosman

Distribusi

Budiarjo

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan dan surat-menyurat)

Enok, Ruswenti

Pusat Penelitian Biologi - LIPI
Kompleks Cibinong Science Centre (CSC-LIPI)
Jin Raya Jakarta-Bogor Km 46,
Cibinong 16911, Bogor - Indonesia
Telepon (021) 8765066 - 8765067
Faksimili (0251) 8765063
Email: herbogor@indo.net.id
[ksama_p2biologi\(@,vahoo.com](mailto:ksama_p2biologi(@,vahoo.com)

Keterangan foto/ gambar cover depan: *Perbandingan tingkat kerusakan dinding sel Escherichia coli yang diperlakukan dengan minyak atsiri temu kunci (Kaempferia pandurata), dan kromatogramnya yang dihasilkan dengan GC-MS sesuai makalah di halaman 1 (Foto: koleksi Universitas Sriwijaya/ Institut Pertanian Bogor - Miksusanti).*



LIPI

Berita Biologi

Jurnal Ilmiah Nasional

ISSN 0126-1754

Volume 9, Nomor 1, April 2008

Terakreditasi

SK Kepala LIPI

Nomor 14/Akred-LIPI/P2MBI/9/2006

**Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek "baru" dalam bidang-bidang
 - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik dan sebagainya).
 - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agro bioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri. *Aspek/pendekatan biologi* harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.
Abstrak dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, ditulis miring, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. *Hasil dipisahkan dari Pembahasan*.
8. Pola penyiapan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto; pencantuman Lampiran seperlunya.
Gambar dan foto: harus bermutu tinggi, gambar pada kertas kalkir (bila manual) dengan tinta cina, berukuran kartu pos; foto berwarna, sebutkan programnya bila dibuat dengan komputer.
9. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee secara elektronik. Jika memungkinkan, kirim juga filenya melalui alamat elektronik (E-mail) Berita Biologi: herbogor@indo.net.id dan [ksama_p2biologi\(3\),yahoo.com](mailto:ksama_p2biologi(3),yahoo.com)
10. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, presiding atau sumber lainnya secara lengkap, jangan disingkat. Nama inisial pengarang tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
 - a. Jurnal
Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992. Leaf Water Relations, Osmotic Adjustment, Cell Membrane Stability, Epicuticular Wax Load and Growth as Affected by Increasing Water Deficits in Sorghum. *Journal of Experimental Botany* 43, 1559-1576.
 - b. Buku
Kramer PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
 - c. Presiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya
Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995. Pengamatan Beberapa Aspek Biologi Sotong Buluh (*Septoteuthis lessoniana*) di Sekitar Perairan Pantai Wokam Bagian Barat, Kepulauan Am, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Littay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
 - d. Makalah sebagai bagian dari buku
Leegood RC and DA Walker. 1993. Chloroplast and Protoplast. Dalam: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*. DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkamp, RC Leegood and SP Long (Eds), 268-282. Chapman and Hall. London.
11. Kirimkan makalah serta copy file dalam CD (lihat butir 9) ke Redaksi. Sertakan alamat Penulis yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang mudah dan cepat dihubungi dan alamat elektroniknya.

Berita Biologi menyampaikan terima kasih
kepada para Mitra Bestari/Penilai (Referee) nomor ini
9(1)-April 2008

- Prof. Dr. Adek Zamrud Adnan (Farmasi, FMIPA-Universitas Andalas)*
Dr. Andria Agusta (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Dr. B Paul Naiola (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Drs. Edy Mirmanto, MSc (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Dr. Erdy Santoso (Puslitbang Hutan dan Konservasi Alam
Departemen Kehutanan)
Dr. Hah Sutrisno (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Dr. Herman Daryono (Puslitbang Hutan dan Konservasi Alam
Departemen Kehutanan)
Dr. Iwan Saskiawan (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Ir. Maria Imelda, MSc (Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI)
Dra. Nunuk Widhyastuti, MSi (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Dr. Nuril Hidayati (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Dr. Nyoman Mantik Astawa (Departemen Virologi FKH -Universitas Udayana)

DAFTAR ISI

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

| | |
|---|-----------|
| KERUSAKAN DINDING SEL <i>Escherichia coli</i> K1.1 OLEH MINYAK ATSIRI TEMU KUNCI (<i>Kaempferia pandurata</i>) [Cell Wall Disruption of <i>Escherichia coli</i> K1.1 by Temu Kunci (<i>Kaempferia pandurata</i>) Essential Oil] <i>Miksusanti, Betty Sri Laksmi Jennie, Bambang Ponco dan Gatot Trimulyadi</i>..... | 1 |
| KERAGAMAN AKTINOMISETES KEPULAUAN WAIGEO, KABUPATEN RAJA AMPAT, PAPUA DAN POTENSINYA SEBAGAI PENDEGRADASI SELULOSA DAN PELARUT FOSFAT [Actinomycetes Diversity in Waigeo Island, Raja Ampat Regency, Papua and Their Potentials as Cellulose Degradation and Phosphate Solubilization] <i>ArifNurkanto</i>..... | 9 |
| POTENSI IKAN MUJAIR (<i>Sarotherodon mossambica</i>) SEBAGAI BIOAKUMULATOR PENCEMARAN PESTISIDA PADA LINGKUNGAN PERTANIAN [The Potential of Mujair Fish (<i>Sarotherodon mossambica</i>) as Bioaccumulator of Pesticides Contamination in Agricultural Land] <i>Yulvian Sani dan Indraningsih</i>..... | 19 |
| PEMBUATAN STARTER UNTUK EKSTRAKSI MINYAK KELAPA MURNI MENGUNAKAN MIKROBA AMILOLITIK [Preparation of Starter for Extracting Virgin Coconut Oil by Using Amylolytic Microbes] <i>ElidarNaiola</i>..... | 31 |
| RETRANSFORMATION AND EXPRESSION OF RECOMBINANT VIRAL PROTEIN OF JEMBRANA SU AND Tat (JSU AND JTat) IN pGEX SYSTEM [Retransformasi dan Ekspresi Protein Virus Rekombinan JSU dan JTat Penyakit Jembrana dalam Sistem pGex] <i>Endang T Margawati, Andi Utama and Indriawati</i>..... | 39 |
| POPULASI POHON JENIS DIPTEROCARPACEAE DI TIGA TIPE HUTAN PAMAH KALIMANTAN [Tree Population of Dipterocarpaceae Species in Three Vegetation Types of Lowland Forests Kalimantan] <i>Herwint Simbolon</i>..... | 45 |
| DAUR PATOLOGIS TEGAKAN HUTAN TANAMAN <i>Acacia mangium</i> Willd. [Pathological Rotation of <i>Acacia mangium</i> Willd. Forest Stand] <i>Simon Taka Nuhamara, Soetrisno Hadi, Endang Suhendang, Maggy T Suhartono, Wasrin Syafii dan Achmad</i>..... | 59 |
| KEANEKARAGAMAN FLORA CAGAR ALAM NUSA BARONG, JEMBER - JAWA TIMUR [Floral Diversity of Nusa Barong Nature Reserve, Jember - East Java] <i>Tukirin Partomihardjo dan Ismail</i>..... | 67 |
| KARAKTERISASI 17 FAMILI IKAN NILA (<i>Oreochromis niloticus</i>) GENERASI KE TIGA (G-3) BERDASARKAN METODE TRUSS MORFOMETRIKS [Characterization of 17 Families of Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) Third Generation (G-3) Based on Truss Morphometrics] <i>Nuryadi, Otong Zenal Arifin, Rudhy Gustiano dan Mulyasari</i>..... | 81 |

| | |
|---|------------|
| INDUKSI KALUS DAN REGENERASI TUNAS PULAI PANDAK (<i>Rauwolfia serpentina</i> L.) [Callus Induction and Shoot Regeneration of Pulai pandak (<i>Rauwolfia serpentina</i> L.)] <i>Rossa Yunita dan Endang Gati Lestari</i> | 91 |
| POTENSI ANTIBAKTERIA EKSTRAK DAN FRAKSI LIBO (<i>Piper mnlatum</i> Bl.) [Antibacterial Potential of Extract and Fraction of Libo (<i>Piper mnlatum</i> Bl.)] <i>Sumarnie H Priyono</i> | 99 |
| TOLERANSI SENGON BUTO (<i>Enterolobium cyclocarpum</i> Griseb) YANG DITANAM PADA MEDIA LIMBAH TAILING TERCEMAR SIANIDA DENGAN PERLAKUAN PUPUK [Tolerance of Sengon buto (<i>Enterolobium cyclocarpum</i> Griseb) Grown on Cyanide Contaminated Tailing Media with Fertilizer Application] <i>Fauzia Syarif</i> | 105 |
| <u>KOMUNIKASI PENDEK</u> | |
| MENGESTIMASI NILAI KERUSAKAN TUMBUHAN INANG AKIBAT PEMARASITAN BENALU [Estimating the Destruction of Host Plant caused by Mistletoe Parasitizing] <i>Sunaryo</i> | 111 |

PEMBUATAN STARTER UNTUK EKSTRAKSI MINYAK KELAPA MURNI MENGUNAKAN MIKROBA AMILOLITIK [Preparation of Starter for Extracting Virgin Coconut Oil by Using Amylolytic Microbes]

Elidar Naiola

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Cibinong Science Center (CSC-LIPI)
Jl. Raya Jakarta-Bogor Km 46, Cibinong 16911
Telp (021) 8765066; Fax (021) 8765062
E-mail: elidaraur@yahoo.com

ABSTRACT

The thirteen isolates of amylolytic microbes had been tested their ability to extract the oil from "coconut milk" and nine of them could break the emulsion and separated the oil from the water and protein. The aim of this study was to find a starter that can be used for producing the coconut oil by using molase and "gula aer" gewang (*Corypha utan* Lamk.) palm sugar as the substrates. The result suggest that by using the isolates (ferm. 1 and ferm.2), "gula aer" gewang can be used as a substrate without supplemented by organic nitrogen. The starter prepared with isolate ferm. 1 containing cells of microbe about 10.2×10^8 cell/ml and prepared with ferm.2 about $9.0 - 10.2 \times 10^8$ cell/ml. After 4 weeks the amount of the cells decreased to 0.98×10^8 cell/ml and 0.90×10^8 cell/ml, respectively. The amount of microbes were stable until 12 weeks. The starter conducted the fermentation processes at 40°C for 16 hours and produced the coconut oil. The extracted oil content about 85% saturated fatty acids and 42% of them was lauric acid. Another chemical component of the extracted oil were Iodine numbers, peroxide numbers and free fatty acid (FFA), they were 5.98%, 2.51 Meq/kg and 0.41%, respectively.

Kata kunci: San tan kelapa, starter, proses fermentasi, gula kelapa, asam lemak jenuh, asam laurat, asam lemak bebas.

PENDAHULUAN

Proses pembuatan minyak kelapa secara fermentasi mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan cara tradisional, antara lain dapat menghemat tenaga kerja serta bahan bakar sampai 70% dan produksinya yang dihasilkan mempunyai kualitas yang jauh lebih baik dibandingkan dengan produk yang dibuat secara tradisional. Minyak kelapa murni mengandung kadar air yang rendah yaitu sekitar 0,03%, kandungan asam lemak bebasnya juga rendah sekitar 0,02%, tidak berwarna (bening), tahan disimpan sampai 70 hari tanpa mengalami perubahan warna, aroma maupun citarasanya (Posorske, 1984). Menurut Syah (2005) minyak kelapa murni memiliki aroma dan rasa khas buah kelapa. Selain beberapa kelebihan yang dimilikinya, proses pembuatan minyak kelapa secara fermentasi juga mempunyai beberapa kelemahan; salah satu di antaranya menurut Rindengan dan Novarianto (2005) terdapat pada tahap pemisahan antara fase lemak (minyak), protein (blondo) dan air.

Proses pembuatan minyak kelapa secara fermentasi melibatkan mikroba (Rosenthal *etal*, 1996). Mikroba dengan berbagai aktivitas enzim yang dimilikinya, seperti protease, amilase atau enzim lainnya dapat berperan dalam menghidrolisis substansi yang

berupa protein, karbohidrat atau lemak yang terikat dalam emulsi santan. Dalam proses pembuatan minyak kelapa secara fermentasi, mikroba yang digunakan akan merombak substrat dengan memutus rantai protein, karbohidrat maupun bahan lain yang terkandung di dalam emulsi santan. Pada prinsipnya, mikroba dengan aktivitas yang dimilikinya akan dapat menyebabkan emulsi santan menjadi tidak stabil sehingga terjadi pemisahan antara fase minyak, belondo dan air (Rindengan dan Novarianto, 2005). Dilaporkan juga bahwa selain melalui proses fermentasi, emulsi santan juga dapat dibuat tidak stabil dengan melakukan pemancingan yaitu menambahkan minyak kelapa pada konsentrasi tertentu.

Minyak kelapa murni yang dewasa ini lazim disebut sebagai *virgin coconut oil* (VCO) banyak sekali menarik perhatian masyarakat, terutama karena berbagai macam khasiatnya, sehingga usaha-usaha pengolahannya banyak bermunculan. Selain berfungsi untuk menggoreng, VCO dapat berfungsi untuk membantu mencegah beberapa macam penyakit, memperbaiki pencernaan, meningkatkan kekebalan tubuh, mencegah infeksi serta membantu menurunkan berat badan. Studi tentang minyak kelapa murni yang

sudah dilakukan pada umumnya lebih banyak mengungkap tentang berbagai keunggulan atau khasiat dari produk tersebut (Blackburn *et al.*, 1989; Kabara, 1979; Kaunitz dan Dayrit, 1992). Sekitar 92% dari asam lemak pada minyak kelapa murni adalah merupakan asam lemak golongan rantai karbon sedang (medium) yang terdiri dari hanya 12 atom karbon yang diikat jenuh atau tidak ada ikatan ganda (Blackburn *et al.*, 1989). Salah satu keunggulan dari minyak kelapa murni adalah kandungan asam lauratnya yang tinggi yaitu mencapai sekitar 48,2%

Cara pembuatan minyak kelapa murni, hampir sama dengan cara pengolahan minyak kelapa secara tradisional yaitu daging buah kelapa diparut, diekstrak dengan air panas atau hangat dengan perbandingan tertentu dan selanjutnya diinokulasi dengan mikroba penghasil enzim tertentu (Rosenthal *et al.*, 1996) yang bertujuan untuk memecah protein yang berikatan dengan minyak dan karbohidrat, sehingga minyak dapat terpisah dengan baik.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari potensi beberapa mikroba amilolitik dalam mengekstraksi minyak kelapa serta mencari bahan yang cocok untuk digunakan sebagai pembawa (carrier) mikroba tersebut. Bahan yang digunakan sebagai pembawa sebaiknya merupakan bahan yang mudah didapat, cukup tersedia serta mudah mempersiapkannya. Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh starter yang dapat digunakan untuk memproduksi minyak kelapa dengan kualitas yang sesuai dengan standar mutu minyak kelapa, aman dan menyehatkan serta dapat digunakan oleh masyarakat, terutama petani kelapa yang tinggal di daerah-daerah penghasil kelapa.

BAHANDAN CARA KERJA

Mikroba

Mikroba yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari beberapa isolat yang mempunyai aktivitas amilase yang diisolasi dari beberapa produk pangan/minuman fermentasi tradisional (tape, tempoyak, tuak, ragi serta beberapa contoh lainnya) yang berasal dari beberapa daerah di Indonesia (Naiola, 2001; Widhyastuti dan Naiola; 2001 dan Naiola; 2003).

Media

Sebagai media dasar untuk pembuatan starter digunakan YPSs cair dengan komposisi: 0,2% ekstrak khamir, 0,5% pepton, 0,3% KH_2PO_4 , 0,05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 20 gr agar dan 2% pati terlarut (Mangunwardoyo *et al.*, 1982). Isolat-isolat bakteri dipelihara dalam media nutrisi agar (NA) dengan komposisi: beef extract 3gr, pepton 5gr dan bacto agar 20gr yang dipersiapkan dalam satu liter akuadest. Isolat-isolat khamir dan kapang dipelihara dalam media PDA yang diperoleh dari Difco Ltd.

Bahan lainnya

Gula aer (gula cair) dari tumbuhan gaweng (*Corypha utan* Lamk.) diperoleh dari para petani dan pengrajin nira dari NTT; molase merupakan limbah pabrik gula diperoleh dari pabrik gula di Jawa Timur. Santan kelapa yang digunakan untuk uji kemampuan starter diperoleh dari penjual kelapa di Pasar Anyar (salah satu pasar tradisional di Bogor). Santan tersebut berasal dari kelapa tua terpilih yang dipersiapkan dengan cara diparut dan diperas dengan mesin peras kelapa. Jenis kelapa yang digunakan tergantung pada persediaan yang ada pada saat pemesanan.

Seleksi kemampuan mikroba dalam mengekstraksi minyak kelapa

Tahap awal kemampuan masing-masing isolat untuk mengekstraksi minyak kelapa diuji secara kualitatif. Masing-masing isolat diuji berdasarkan kemampuannya dalam memisahkan lapisan minyak (lemak), protein (blondo) dan air dari emulsi santan kelapa secara sempurna. Sebanyak 2,5%-3% suspensi masing-masing isolat (OD 0,5 pada panjang gelombang 630 nm) diinokulasikan ke dalam 20 ml santan kelapa yang sudah dipersiapkan dalam erlemeyer 100 ml. Santan tersebut sebelumnya diencerkan dengan penambahan air panas dengan perbandingan 2:1. Campuran tersebut kemudian diinkubasikan pada suhu 40°C sampai terlihat adanya 3 lapisan yang terdiri atas lapisan minyak, blondo dan air; selanjutnya masing-masing lapisan dipisahkan. Isolat yang dapat memisahkan ketiga lapisan tersebut secara sempurna dianggap mempunyai kemampuan dalam proses fermentasi minyak kelapa secara kualitatif. Isolat-isolat terseleksi selanjutnya ditumbuhkan dalam medium yang sesuai atau diformulasi dalam bentuk starter.

Pembuatan strater

Untuk mendapatkan bahan yang cocok digunakan sebagai pembawa mikroba maka mikroba terseleksi ditumbuhkan pada beberapa macam substrat. Sebagai starter 1 atau "St. 1" digunakan medium YPSs cair. Sebanyak 2,5-3% suspensi masing-masing isolat (OD 0,5 pada panjang gelombang 630 nm), diinokulasikan ke dalam 20 ml media dan diinkubasikan pada suhu kamar selama 3-7 hari di atas alat pengocok dengan kecepatan rendah sampai terlihat adanya pertumbuhan mikroba. Sebagai starter 2 atau "S/.2" digunakan media YPSs yang sumber C-nya diganti dengan molase. Konsentrasi molase yang digunakan disesuaikan dengan media standar YPSs. Starter tersebut kemudian diinkubasikan pada suhu kamar di atas alat pengocok dengan kecepatan rendah selama 3-7 hari sampai terlihat adanya pertumbuhan mikroba. Sebagai starter 3 atau "St. 3" digunakan media yang hanya mengandung gula aer gawang. Sebelumnya gula aer gawang diencerkan (perbandingan antara gula aer dan akuadest 1:4). Inokulasi dilakukan dengan cara yang sama sampai terlihat adanya pertumbuhan mikroba.

Uji kemampuan starter

Sebanyak 2,5 - 3% masing-masing starter digunakan untuk menginokulasi santan kelapa, inkubasikan pada suhu 40°C sampai terjadi pemisahan antara lapisan minyak, blondo dan air. Lapisan air dikeluarkan dengan selang, selanjutnya lapisan minyak dan blondo dipisahkan dengan menggunakan kertas saring. Randemen minyak kelapa yang terbentuk dihitung secara gravimetri (v/v).

Kriteria yang diamati

Jumlah sel mikroba yang terdapat dalam starter dilakukan secara "plate count metode". Penghitungan dilakukan terhadap starter pada selang waktu tertentu. Selama periode penyimpanan komposisi bahan kimia starter meliputi kandungan gula total dan asam-asam lainnya diamati. Selain itu jumlah randemen minyak kelapa yang dihasilkan oleh starter yang disimpan selama priode tertentu juga diamati secara gravimetri (v/v) dengan penghitungan sebagai berikut:

$$\text{Randemen} = \frac{\text{volume minyak terbentuk}}{\text{volume total santan}} \times 100\%$$

Kualitas produk diamati berdasarkan jumlah kandungan asam-asam lemak serta komponen kimia lain (asam lemak bebas, bilangan peroksida dan bilangan iod). Analisis komponen kimia produk dilakukan di Laboratorium Pascapanen, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor.

HASH,

Hasil uji kemampuan mikroba untuk mengekstraksi minyak kelapa

Secara kualitatif kemampuan mikroba dalam mengekstraksi minyak kelapa diamati berdasarkan kemampuan masing-masing isolat untuk memecah emulsi santan atau memisahkan lapisan minyak (lemak), protein (blondo) dan air. Hasil pengamatannya ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kemampuan masing-masing isolat dalam mengekstraksi minyak kelapa

| Isolat | Kemampuan mengekstraksi secara kualitatif | Randemen minyak (dalam %) | |
|---------|---|---------------------------|----|
| | | I | II |
| Lpl | + | 21 | 22 |
| Lp2 | + | 22 | 22 |
| Lp5 | ++ | 25 | 25 |
| B.3.2 | ++ | 25 | 26 |
| B.3.4 | ++ | 24 | 26 |
| 01 | ++ | 26 | 26 |
| 4d | ++ | 25 | 25 |
| F3 | + | 21 | 21 |
| I | + | 25 | 24 |
| XI | -H- | 26 | 24 |
| ferm. 1 | ++ | 25 | 26 |
| ferm. 2 | ++ | 26 | 25 |
| F9 | ++ | 26 | 26 |

Sebagai substrat santan kelapa : air panas (2:1)

+ pemisahan fase minyak, protein dan air kurang sempurna.

++ pemisahan fase minyak, protein dan air serapurna.

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa semua isolat yang diuji mempunyai kemampuan untuk memecah emulsi santan yang ditunjukkan dengan terbentuknya 3 lapisan yang terpisah, berupa lapisan minyak (lemak), blondo (protein) dan air, namun empat di antaranya tidak memberikan hasil yang sempurna dalam pemisahan ke tiga fase tersebut. Terjadinya pemisahan antara ke 3 lapisan tersebut disebabkan oleh adanya mikroba yang mempunyai aktivitas amilase yang berperan dalam memutus rantai panjang karbohidrat dari emulsi santan menjadi gula-gula

sederhana. Tahap berikutnya gula yang dihasilkan akan dirobah menjadi asam-asam organik, pH sedikit menurun dan sebagai akibatnya terjadi penggumpalan protein dan pemisahan antara fase minyak, blondo dan air. Randemen minyak kelapa yang dihasilkan berkisar antara 21- 26%. Randemen yang dihasilkan oleh isolat O1, B.3.2, F9, ferm. 1, dan ferm. 2 sedikit lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya. Isolasi-isolasi yang menghasilkan randemen cukup tinggi tersebut diformulasikan dalam bentuk starter cair ("St. 1", "St.2", dan "St.3") dengan menggunakan molase dan gula aer gawang sebagai pembawa yang cara pembuatannya dijelaskan pada bagian lain naskah.

Penghitungan jumlah sel mikroba serta uji kemampuan starter

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa jumlah sel mikroba yang terkandung dalam masing-masing starter bervariasi pada kisaran antara $7,0 \times 10^6$ - $10,2 \times 10^8$ sel/ml.

Tabel 2. Jumlah sel mikroba yang terdapat dalam starter.

| Starter | Isolat | Jumlah sel/ml |
|---------|--------|--------------------|
| "St. 1" | O1 | $6,0 \times 10^7$ |
| | B.3.2 | $7,0 \times 10^6$ |
| | F9 | * |
| "St.2" | O1 | $6,5 \times 10^7$ |
| | B.3.2 | $6,5 \times 10^7$ |
| | F9 | * |
| "St. 3" | ferm.1 | $10,2 \times 10^8$ |
| | ferm.2 | $9,0 \times 10^8$ |

* tidak dihitung karena dalam bentuk pelet

Isolat O1, B.3.2 dan F9 dipersiapkan dalam bentuk "St. 1" yang menggunakan YPSs cair, "St. 2" dengan menggunakan YPSs cair yang sumber C-nya diganti molase sebagai pembawa sedang isolat ferm.1 dan ferm.2 dipersiapkan dalam bentuk "St. 3" yang menggunakan gula aer gawang sebagai pembawa. Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa jumlah sel isolat O1 pada starter yang diformulasi dalam bentuk "St. 1" dan "St. 2" sedikit lebih tinggi dibanding starter yang mengandung isolat lainnya. Jumlah sel tersebut masing-masing sekitar $6,0 \times 10^7$ dan $6,5 \times 10^7$ sel/ml. Jumlah sel pada starter dibuat dengan menggunakan

isolat F9 tidak dihitung karena terdapat dalam bentuk pellet. Jumlah sel isolat ferm.1 dan ferm.2 yang diformulasi dalam bentuk "St. 3" masing-masing $10,2 \times 10^8$ sel/ml dan $9,0 \times 10^8$ sel/ml.

Randemen minyak yang dihasilkan oleh masing-masing starter (diuji pada selang waktu tertentu sampai dengan 4 minggu penyimpanan) ditunjukkan pada Tabel 3.

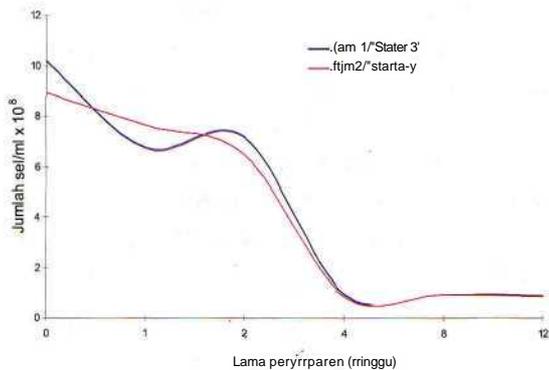
Tabel 3. Randemen minyak hasil proses fermentasi yang dibuat menggunakan starter yang disimpan

| Starter | Isolat | Randemen yang dihasilkan (%) oleh starter | | | Keterangan |
|---------|--------|---|----------|----------|------------|
| | | 1 minggu | 2 minggu | 4 minggu | |
| "St. 1" | a | 17,0 | 19,0 | 19,0 | jetrih |
| | B32 | 18,75 | 18,0 | 19,0 | jenih |
| | K | 17,5 | 18,5 | 19,0 | jenih |
| "St. 2" | a | 18,75 | 18,0 | 19,0 | agkkirng |
| | B32 | 18,75 | 18,75 | 19,0 | agkkuirng |
| | H | 19,0 | 18,75 | 19,0 | agkkirng |
| "St. 3" | ferm.1 | 18,75 | 18,75 | 18,5 | jenih |
| | ferm.2 | 18,75 | 18,75 | 18,5 | jaruh |

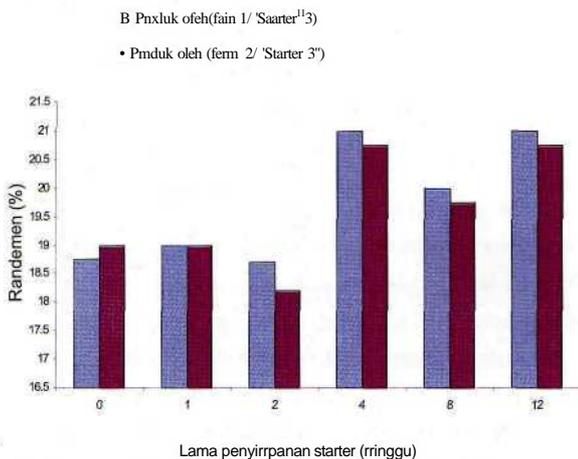
Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa sampai dengan 4 minggu penyimpanan semua starter yang digunakan mampu menghasilkan produk dengan randemen yang berkisar antara 17,0% - 19,0%. Produk yang dihasilkan oleh "St.1" dan "St.3" sangat jerih sedang yang dibuat dengan "St.2" warnanya agak kuning. Berdasarkan beberapa pertimbangan terutama berdasarkan karakter mikroba, bahan yang digunakan sebagai pembawanya maupun warna produk maka "St.3" yang dibuat menggunakan isolat ferm.1 dan ferm.2 dan gula aer gawang sebagai pembawanya dipilih untuk diteliti lebih lanjut.

Starter 3 atau "SU"

Isolat ferm. 1 dan ferm.2 merupakan isolat yang diisolasi dari produk minuman fermentasi nira di NTT, meskipun mempunyai aktivitas amilase yang lemah. Isolasi ini mempunyai kemampuan yang luarbiasa dalam memfermentasi gula aer ditandai dengan timbulnya aroma khas alkohol yang kuat. Dalam penelitian ini kedua isolat diformulasi dalam bentuk starter 3 atau "St. 3" dengan menggunakan gula aer gawang tanpa penambahan bahan lainnya sebagai pembawa. Jumlah



Gambar 1. Pengaruh lama penyimpanan terhadap kandungan mikroba dalam starter "3"



Gambar 2. Randemen yang dihasilkan oleh starter yang disimpan selama waktu tertentu

sel mikroba yang terdapat dalam starter ditunjukkan pada Gambar 1 dan randemen minyak yang dihasilkan pada Gambar 2.

Jumlah sel dari isolat ferm. 1 dan ferm.2 yang diformulasi dalam bentuk "St.3" pada awal penyimpanan adalah sebesar $10,2 \times 10^8$ sel/ml dan $9,0 \times 10^8$ sel/ml (Gambar 1). Seiring dengan berjalannya waktu, maka jumlah mikroba yang terdapat dalam starter mengalami penurunan. Sampai dengan minggu kedua penyimpanan, jumlah sel yang terdapat dalam starter sedikit menurun masing-masing menjadi $7,2 \times 10^8$ sel/ml dan $6,5 \times 10^8$ sel/ml. Setelah 4 minggu penyimpanan jumlah sel mikroba yang terdapat dalam masing-masing starter menjadi $0,98 \times 10^8$ sel/ml dan $0,9 \times 10^8$ sel/ml dan jumlah tersebut kelihatan hampir

tidak mengalami perubahan sampai dengan 12 minggu penyimpanan.

Hasil penghitungan terhadap randemen minyak yang dihasilkan (Gambar 2), menunjukkan bahwa sampai dengan 12 minggu penyimpanan "St. 3" masih dapat menghasilkan produk dengan jumlah randemen yang hampir sama dengan yang dibuat dengan starter pada awal penyimpanan.

Data pada Gambar 1 dan Gambar 2 menunjukkan bahwa ("St. 3") yang mengandung isolat ferm.1 dan ferm.2 sebesar $10,2 \times 10^8$ sel/ml dan $9,0 \times 10^8$ sel/ml pada awal penyimpanan dapat menghasilkan produk dengan randemen 18,75 % dan 19,0 %. Sampai dengan 12 minggu penyimpanan ("St. 3") masih efektif untuk digunakan sebagai starter dalam pembuatan minyak kelapa. Randemen yang dihasilkan hampir tidak mengalami perubahan meskipun kandungan mikroba yang terdapat dalam starter turun menjadi sekitar $0,98 \times 10^8$ sel/ml dan $0,90 \times 10^8$ sel/ml setelah 4s/d 12minggu penyimpanan.

Hasil analisis komponen kimia terhadap bahan dasar yang digunakan sebagai substrat ditunjukkan pada Tabel 4.

Hasil analisis kimia terhadap gula aer (Tabel 4) menunjukkan bahwa sebagian besar gula yang tersedia dalam bahan dasar terdiri dari sakharosa, fruktosa dan glukosa .

Hasil analisis komponen kimia terhadap starter ditunjukkan pada Tabel 5.

Data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa sebagian besar dari gula yang terdapat dalam substrat sudah digunakan oleh mikroba untuk pertumbuhannya dan sebagian sudah dirobah menjadi asam-asam organik dan alkohol.

Hasil analisis kimia terhadap produk yang dibuat dengan menggunakan "St. 3" ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 4. Hasil analisis kimia gula aer gewang*).

| No | Jenis analisis | Gula aer |
|----|----------------|----------|
| 1 | Sakarosa (%) | 8,9 |
| 2 | Fruktosa (%) | 4,5 |
| 3 | Glukosa (%) | 4,6 |
| 4 | Air (%) | 80,1 |

Ket.*) Analisis dilakukan di Laboratorium Pascapanen, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor

Tabel 5. Hasil analisis komponen kimia terhadap "St.3"

| Komponen kimia | "SW dengan isolat ferm.1 | "££.3" dengan isolat ferm.2 |
|----------------|--------------------------|-----------------------------|
| Gula total (%) | 0,55 | 0,51 |
| Alkohol(%) | 0,25 | 0,23 |
| Asam laktat(%) | 0,04 | 0,05 |
| Asam sitrat(%) | 0,08 | 0,07 |
| Asamalat(%) | 0,05 | 0,07 |

Ket. *) Analisis dilakukan di Laboratorium Pascapanen, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor.

Tabel 6. Hasil analisis kimia terhadap produk hasil ferjmentasi*)

| Komponen yang diuji | | Produk hasil fermentasi | |
|---------------------|--------------------|----------------------------|--------------------------|
| | | "5t3" dengan isolat ferm.1 | "SW dengan isolat ferm.2 |
| Asam lemak | Kaprilat (%) | 5,86 | 5,30 |
| | Kaprat (%) | 5,31 | 5,30 |
| | Laurat (%) | 38,31 | 42,10 |
| | Miristat (%) | 21,10 | 19,61 |
| | Palmitat (%) | 12,94 | 11,70 |
| | Stearat (%) | 16,48 | 16,53 |
| Komponen lainnya | Bil. Iod (%) | 6,75 | 5,98 |
| | Bil.Peroks. Meq/kg | 2,43 | 2,51 |
| | FFA (%) | 0,30 | 0,40 |

Ket. *) Analisis dilakukan di Laboratorium Pascapanen, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor.

Data pada Tabel 6 menunjukkan bahwa produk yang dihasilkan mengandung beberapa jenis asam lemak yang sekitar 85% di antaranya termasuk kelompok asam lemak jenuh. Sekitar 40% dari asam lemak jenuh tersebut merupakan asam laurat.

Bilangan peroksida produk yang dihasilkan starter mengandung isolat Term. 1 dan ferm.2 masing-masing 2,43-2,51 Meq/kg. Pengukuran bilangan peroksida terhadap produk bertujuan untuk mengetahui sifat teroksidasi dari produk yang dihasilkan yang biasa dijadikan sebagai standar mutu produk. Kejenuhan produk yang ditunjukkan dari nilai bilangan iod masing-masing 6,75% dan 5,98%, sedang prosentase asam lemak bebas produk adalah 0,30% - 0,40%.

PEMBAHASAN

Mikroba yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 13 isolat yang mempunyai kemampuan amilase dengan aktivitas yang bervariasi sesuai dengan isolatnya; lima di antaranya (F2, F9, O1, ferm. 1 dan

ferm.2) termasuk kelompok khamir, sedang isolat lainnya termasuk kelompok bakteri. Isolat F2 dan F9 secara kualitatif mempunyai kemampuan amilase cukup tinggi, diidentifikasi sebagai genus *Candida* sp. Isolat O1 mempunyai aktivitas amilase $4,2 \times 10^2$ U/ml, diidentifikasi sebagai genus *Sacharomycopsis* sp. (Naiola, 2003). Isolat 4d memiliki aktivitas amilase sebesar $4,971 \times WU/ml$ (Widhyastuti dan Naiola, 2001) dan isolat B.3.2 dengan aktivitas amilase sebesar $54,19 \times 10^2$ U/ml diidentifikasi sebagai *Bacillus cereus* (Naiola, 2001). Isolat lainnya diisolasi dari laru (asal NTT) secara kualitatif mempunyai aktivitas amilase yang lemah.

Untuk pertumbuhannya mikroba memerlukan bahan-bahan baik berupa protein, lemak, mineral dan vitamin. Pembuatan starter bertujuan mendapatkan substrat atau media perbanyak dari mikroba serta mengoptimalkan kondisi fisiologis dari mikroba tersebut. Sebagai media dasar untuk pertumbuhan mikroba dalam penelitian ini digunakan media YPSs cair, dalam media tersebut semua isolat dapat tumbuh dengan baik. Molase dan gula aer gawang dipilih sebagai substrat karena di samping mengandung gula yang cukup tinggi, juga mengandung bahan lainnya yang dibutuhkan oleh mikroba untuk pertumbuhannya.

Menurut Paturau (1982), molase mempunyai kandungan gula yang tinggi yaitu sukrosa 30-40%, glukosa 4-9% dan fruktosa 5-12%, sehingga penggunaannya sebagai sumber C pada media YPSs diharapkan dapat memberikan kondisi yang optimal terhadap beberapa isolat terseleksi. Gula aer gawang mengandung beberapa macam gula sederhana yaitu sakharosa, glukosa dan fruktosa masing-masing 8,9%, 4,6% dan 4,5%. Selain itu juga mengandung beberapa mineral lainnya yang dibutuhkan oleh mikroba untuk pertumbuhannya (hasil analisis kimia yang dilakukan di Laboratorium Pascapanen, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor).

Santan kelapa (krim kelapa) merupakan campuran yang terdiri dari emulsi minyak dan air. Emulsi mengandung berbagai bahan antara lain protein dan karbohidrat, sehingga kehadiran mikroba amilolitik akan dapat menghidrolisis makro molekul karbohidrat yang terdapat dalam emulsi santan. Pemutusan rantai panjang karbohidrat akan menghasilkan gula sederhana

salah satu di antaranya glukosa; selanjutnya gula sederhana tersebut akan dirobah menjadi alkohol dan asam-asam lainnya. Kondisi tersebut dapat menyebabkan terjadinya penggumpalan protein sehingga pemisahan antara fase minyak, protein dan air dapat terjadi. Semua isolat yang diuji mampu melakukan pemisahan antara fase minyak, protein dan air dengan randemen yang berkisar antara 21-26%. Menurut Rosenthal *et al.* (1996) dalam proses pembuatan minyak kelapa secara fermentasi mikroba yang digunakan mampu merombak substrat dengan memutus rantai protein, karbohidrat maupun bahan lain yang terkandung dalam emulsi santan. Mikroba yang digunakan dalam penelitian memiliki aktivitas amilase yang dapat menghidrolisis makro molekul karbohidrat dari emulsi santan. Selanjutnya menurut Rindengan dan Novianto (2005) mikroba dengan aktivitas enzim yang dimilikinya akan dapat menyebabkan emulsi santan menjadi tidak stabil sehingga terjadi pemisahan antara fase minyak, belondo dan air.

Penggunaan gula aer sebagai pembawa isolat ferm.1 dan ferm.2 ("St. 3") memberikan kondisi yang cukup baik untuk pertumbuhannya. Sel mikroba yang terkandung dalam starter pada awal penyimpanan adalah sekitar $10^2 \times 10^8$ sel/ml dan $9,0 \times 10^8$ sel/ml masing-masing untuk ferm. 1 dan ferm.2. Jumlah tersebut mengalami penurunan selama proses penyimpanan sehingga pada minggu ke 4 jumlah sel mikroba yang terdapat dalam starter menjadi $0,98 \times 10^8$ sel/ml dan $0,9 \times 10^8$ sel/ml. Selanjutnya jumlah sel dalam starter hampir tidak mengalami perubahan sampai dengan 12 minggu penyimpanan. Starter dengan kandungan mikroba ($10^2 \times 10^8$ sel/ml dan $9,0 \times 10^8$ sel/ml) pada awal penyimpanan maupun ($0,98 \times 10^8$ sel/ml dan $0,9 \times 10^8$ sel/ml) setelah 12 minggu penyimpanan cukup efektif untuk digunakan dalam pembuatan minyak kelapa secara fermentasi, ditunjukkan dengan terjadinya pemisahan antara fase minyak, belondo dan air secara sempurna. Randemen minyak yang dihasilkan starter setelah 4-12 minggu penyimpanan sedikit lebih tinggi meskipun jumlah sel yang terkandung dalamnya sedikit lebih rendah. Kelihatannya selain jumlah sel mikroba yang terdapat dalam starter, pemisahan antara fase minyak, protein dan air kemungkinan disebabkan adanya enzim atau komponen kimia lainnya dalam

starter. Santan kelapa yang digunakan sebagai bahan dasar untuk menguji kemampuan starter dalam penelitian ini bervariasi sesuai dengan jenis kelapa yang tersedia saat pemesanannya. Menurut Palungun (1993), kelapa yang baik digunakan hams cukup tua (matang di pohon) karena mengandung kadar lemak yang lebih tinggi.

Minyak kelapa murni (VCO) komersial mengandung asam lemak jenuh sekitar 90% dan sekitar 50% di antaranya merupakan asam laurat. Minyak kelapa yang dibuat dengan "St. 5" mengandung asam laurat sekitar 42% atau lebih rendah dibandingkan produk komersial. Untuk mendapatkan minyak kelapa murni (VCO) yang berkualitas baik (www.coconutoil-online.com) diperlukan bahan dasar yang baik yaitu bahan dasar yang berasal dari kelapa yang sudah benar-benar tua, sehingga kandungan minyaknya tinggi. Salah satu keunggulan dari minyak kelapa hasil fermentasi adalah kandungan asam lemak bebasnya yang rendah (Rindengan, 2005). Minyak kelapa yang dibuat dengan "St 5" mengandung asam lemak bebas sebesar 0,3 %.

KESIMPULAN

Sembilan dari 13 mikroba amilolitik yang diuji secara kualitatif mempunyai kemampuan yang baik dalam mengekstraksi minyak dari santan kelapa ditunjukkan dengan terjadinya pemisahan yang sempurna antara fase minyak, protein dan air. Randemen minyak yang dihasilkan oleh masing-masing isolat adalah $> 20\%$.

"St.3" merupakan starter yang dibuat dengan isolat (ferm. 1 dan ferm. 2) dan gula aer gewang sebagai pembawa. Jumlah sel mikroba yang terkandung dalam masing-masing starter adalah $10,2 \times 10^8$ sel/ml dan $9,0 \times 10^8$ sel/ml. Seiring dengan dengan berjalannya waktu jumlah mikroba tersebut mengalami penurunan, sehingga setelah 4 minggu penyimpanan jumlahnya menjadi $0,98 \times 10^8$ sel/ml dan $0,9 \times 10^8$ sel/ml. Jumlah ini hampir tidak mengalami penurunan sampai dengan 12 minggu penyimpanan.

Sampai dengan 12 minggu penyimpanan "St. 3" masih dapat digunakan untuk pembuatan minyak kelapa. Produk yang dihasilkan oleh masing-masing starter mengandung asam laurat 3 8,31 % dan 41,1.2%.

Komponen kimia lain dari produk berupa bilangan iod masing-masing sebesar 6,75% dan 5,98%, bilangan peroksida 2,43 Meq/kg dan 2,51 meq/kg serta FFA 0,3% dan 0,41%.

DAFTAR PUSTAKA

- Blackburn GL, G Kater, EA Mascioli, M Kowalchuk, VK Babayan and BR BJstrian.** 1989. Areevaluation of coconut oil's effect on serum cholesterol and atherogenesis. *The Journal of the Philippine Medical Association*, **144-152**.
- Kabara JJ.** 1979. Fatty acids and derivatives as antimicrobial Agents - A Review. *In: The Pharmacological Effect of Lipids*, 1-14. JJ Kabara (Ed.). Champaign, Illinois. The American Oil Chemists' Society.
- Kaunitz H and CS Dayrit.** 1992. Coconut oil consumption and coronary heart disease. *Philippine Journal of Internal Medicine* **30**, 165-171.
- Mangunwardoyo W, T Mitsuo and I Shibasaki.** 1982. Preservation and utilization of a concentrated seed culture for bacterial amylase production. *Annual Reports of ICME* **5**, 163-171.
- Naiola E.** 2001. Karakterisasi amilase dari isolat bakteri yang berasal dari Bali dan Lombok. *Jurnal Biologi Indonesiall(1)*, 32-42.
- Naiola E.** 2003. Amyolytic activity of yeast isolates from various kinds of samples from Lampung. *Makalah disampaikan dalam Seminar Nasional X PERSADA, Jakarta, 4 Juli 2003*. Persada-Cabang Bogor bekerja sama dengan Badan Pengurus Pusat Persada.
- Paturau JM.** 1982. *By Products of the Cane Sugar Industry, an Introduction to Their Industrial Utilization*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
- Posorske LH.** 1984. Industrial scale application of enzyme to the fats and oil industry. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **61**, 1758-1760.
- Rindengan B dan Novariantio H.** 2005. *Minyak Kelapa Murni: Pembuatan dan Pemanfaatan. Edisi ke-4*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- PalungkunR.** 1993. *Aneka Produk Olahan Kelapa*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Rosenthal A, DL Pyle and K Niranjan.** 1996. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. *Enzyme and Microbial Technology* **19** (6), 402-420.
- Widhyastuti N dan Naiola E.** 2001. Optimasi dan karakterisasi amilase kasar dari bakteri terseleksi. *Journal Ilmiah Pertanian - Gakuryoku VII(2)*, 42-48.
- Syah AAN.** 2005. *Virgin Coconut Oil, Minyak Penakluk Aneka Penyakit*. Agromedia Pustaka, Jakarta. www.coconutoil-online.com/FAOs.html -31k- Cached.