

Seleksi dan Pengujian Potensi Bakteri *Indigenous* Air Rendaman Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) Sebagai Bakteri Selulolitik, Pektinolitik, dan Lignolitik

Farida Rahayu, Sudjindro, dan Untung Setyo Budi

Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat, Malang

Jl. Raya Karangploso, Kotak Pos 199, Malang

Email: farida224@yahoo.com

Diterima: 25 Juni 2010

disetujui: 29 Oktober 2010

ABSTRAK

Serat sintetik yang selama ini banyak digunakan, dipandang tidak ramah lingkungan karena berpotensi menjadi pencemar. Untuk itulah, inovasi untuk mendapatkan bahan yang lebih ringan, murah, dan ramah lingkungan dikembangkan. Pemanfaatan bahan mentah berupa serat tanaman untuk bahan selain tekstil khususnya serat kenaf (*Hibiscus cannabinus*) banyak mendapat perhatian khusus dari berbagai kalangan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menyeleksi dan menguji potensi bakteri selulolitik, pektinolitik, dan lignolitik *indigenous* dari air rendaman kenaf sebagai sumber inokulum pada proses *retting* kenaf. Eksplorasi dilakukan dengan mengambil sampel air rendaman kenaf di Asembagus. Isolasi bakteri dilakukan dalam media *Nutrient Broth* (NB) dan *Nutrient Agar* (NA) yang merupakan media umum untuk bakteri. Isolat bakteri kemudian dikulturkan dan dipelihara dalam medium selektif mengandung *carboxyl methylcellulase* (CMC), pektin, atau lignin. Waktu optimal pertumbuhan sel dan nilai indeks selulolitik, pektinolitik, dan lignolitik ditentukan berdasarkan nisbah antara diameter zona bening di sekitar koloni dengan diameter koloni bakteri. Hasil eksplorasi didapat 8 isolat bakteri yang berpotensi sebagai bakteri selulolitik, pektinolitik, dan lignolitik; 1 isolat berpotensi sebagai bakteri selulolitik dan lignolitik; dan 2 isolat berpotensi sebagai bakteri pektinolitik; serta 1 isolat berpotensi sebagai bakteri selulolitik. Hampir semua isolat memiliki waktu optimal pertumbuhan pada jam ke-12–18 dengan jumlah sel 21,9–267 juta sel/ml pada suhu 37°C.

Kata kunci: *Retting*, kenaf, *Hibiscus cannabinus*, bakteri selulolitik, bakteri pektinolitik, bakteri lignolitik

Selection and Test of Bacteria Indigenous from Water Retting of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) as Cellulolytic, Pectinolytic, and Lignolytic Bacteria

ABSTRACT

Synthetic fiber has been widely used and considered as an environmentally unfriendly product because its potency as a contaminant. For this reason, innovation to get lighter, cheaper, and environmentally friendly materials is developed. Utilization of plant fibers for raw materials other than textiles especially kenaf fiber (*Hibiscus cannabinus*) has received special attention from various communities. The aim of this research was to isolate indigenous cellulolytic, pectinolytic, and lignolytic bacteria from water retting of kenaf for inoculum sources in retting process of kenaf. Exploration of bacteria was done in Asembagus by collecting retting water of kenaf. Isolate was done in common media for bacteria, i.e Nutrient Broth (NB) and Nutrient Agar (NA), then the isolate bacteria were selected in a selective medium contained carboxyl methylcellulase (CMC), pectin, or lignin. Determination of optimal time of cell growth and value of index cellulolytic, pectinolytic, and lignolytic activity based on the ratio between the diameter of clear zone around the colony and diameter of the bacterial colony. The isolates collected from this study were 12 numbers, consist of 8 isolates of bacteria with cellulolytic, pectinolytic, and lignolytic ability; 1 isolate of bacteria with cellulolytic and lignolytic ability; 2 isolates of pectinolytic bacterium; and 1 isolate as cellulolytic bacterium. Almost all isolates have optimal time of growth at 12th–18th hour with number of cells between 21,9–267 million cell/ml at 37°C.

Keywords: *Retting*, kenaf, *Hibiscus cannabinus*, cellulolytic, pectinolytic, lignolytic

PENDAHULUAN

PEMANFAATAN bahan alam berupa serat tanaman, khususnya serat kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), untuk bahan selain tekstil telah mendapat perhatian khusus dari berbagai kalangan. Saat ini, para ahli otomotif di Jepang mulai menggunakan bahan baku *trim* mobil dari serat kenaf, baik untuk lapisan dalam mobil ataupun kursi mobil-mobil mewah. Plastik yang selama ini banyak digunakan, dipandang tidak ramah lingkungan karena berpotensi menjadi pencemar. Untuk itulah, ino-vasi selalu dikembangkan demi mendapatkan bahan yang lebih ringan, murah, dan ramah lingkungan. Peneliti AS mengevaluasi berbagai spesies tanaman untuk memenuhi kebutuhan serat di AS dan mendapatkan bahwa kenaf adalah sumber serat dengan selulosa yang sa-ngat baik untuk berbagai macam produk kertas (kertas, kertas *bond* dan bergelombang *liner board*) (White *et al.*, 1970).

Tanaman kenaf memiliki keunggulan sebagai salah satu komoditas industri karena mampu beradaptasi di berbagai lingkungan tumbuh, umurnya pendek (4–5 bulan), murah, mudah eksploitasinya, serta ramah lingkungan karena dapat menyerap CO₂ udara dalam jumlah yang besar, sehingga dapat membantu mengatasi pencemaran udara (Sudjindro, 2001). Kulit batang kenaf dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku karung goni dan pulp kertas. Kenaf juga digunakan sebagai ba-han pintal untuk memproduksi benang, tali, dan kain selama lebih dari enam ribu tahun (Charles *et al.*, 2002). Penelitian baru dan pro-yek-proyek pembangunan pada 1990-an menunjukkan kesesuaian kenaf sebagai bahan bangunan (papan partikel dari berbagai kerapatan dan ketebalan, resistensi terhadap api dan serangga), memiliki daya serap yang baik, dapat digunakan sebagai bahan tekstil, pakan ternak, dan sumber serat baru (Webber dan Bledsoe, 1993).

Serat alami adalah suatu struktur komposit yang mengandung hemiselulosa, pektin,

dan lignin merupakan suatu matriks, dengan selulosa bertindak sebagai penguat matriks. Dengan komposisi yang demikian, menyebabkan pemisahan satu serat dari sebuah ikatan (*bundle*) serat cukup sulit, karena selalu saja ada beberapa (4–10) serat yang saling menempel di dalam sebuah *bundle* (Baley, 2002). Untuk memisahkan serat kenaf dari batang memerlukan proses yang disebut *retting*. *Retting* konvensional yang biasa dilakukan petani dengan merendam batang kenaf selama 2–3 minggu dirasa kurang efektif dan efisien, karena terlalu lama, memerlukan lahan berair yang cukup luas, serta sisa air *retting* dianggap mengganggu lingkungan. Dalam melakukan *retting*, petani biasanya melakukan dengan cara merendam batang kenaf di tempat-tempat yang biasa tergenang air hujan, sehingga proses ini sangat bergantung pada kondisi alam. *Retting* kenaf secara konvensional ini, merupakan hasil kerja bakteri yang berjalan secara alami, sehingga proses yang terjadi kurang terkendali dan serat yang dihasilkan juga tidak seragam. Keterbatasan lahan untuk perendaman kenaf, serta bau busuk yang ditimbulkan selama proses *retting* merupakan kendala terbesar dalam produksi serat kenaf.

Pemisahan serat kenaf dapat dilakukan dengan 3 metode yaitu secara mekanis, secara kimiawi, maupun secara biologi (Chen *et al.*, 1995). *Retting* kenaf secara mekanis, walaupun jauh lebih ekonomis dalam memproduksi serat, tapi menghasilkan kualitas serat yang terlalu kaku. Pemisahan serat kenaf secara kimiawi yaitu dengan menggunakan senyawa asam maupun basa yang berfungsi untuk mendegradasi senyawa-senyawa pengikat serat di dalam suatu tanaman. Teknik ini selain menghasilkan serat kurang bagus dan residu kimiawi yang dihasilkan selama proses *retting* menimbulkan polusi, sehingga dianggap tidak ramah lingkungan. Teknik pemisah-an serat secara biologi adalah dengan memanfaatkan mikroorganisme yang mampu me-rombak komponen-komponen pengikat serat yang

secara alami telah tersedia di alam, khususnya bakteri pendegradasi selulosa, pektin, maupun lignin.

Bakteri-bakteri dalam air *retting* kenaf memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim yang spesifik yang membantu proses pemisahan serat. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Ramasmawy *et al.* (1994), diketahui bahwa serat hasil *retting* bakteri memiliki kekuatan serat dan kekuatan *bundle* serat lebih baik jika dibandingkan serat hasil *retting* secara kimiawi. Selain itu, serat hasil *retting* bakteri dilaporkan lebih seragam dan lebih mengkilap. Ainuri *et al.* (1997), melaporkan bahwa *Bacillus pumilus*, *B. polymyxa*, dan *B. subtilis* yang telah diproduksi secara komersial yang dipergunakan untuk proses *retting* di dalam penelitiannya.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui potensi bakteri selulolitik, pektinolitik, dan lignolitik *indigenous* dari air rendaman kenaf di KP Asembagus, Situbondo yang selanjutnya akan digunakan sebagai sumber inokulum dalam proses *retting* kenaf.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan mulai bulan September 2009 sampai Juni 2010 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Malang dan Laboratorium Fitopatologi Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat di Malang. Sampel air *retting* kenaf berasal dari KP Asembagus, Situbondo.

Isolasi dan Pemurnian Isolat Bakteri

Metode isolasi dilakukan mengikuti metode panduan mikrobiologi (Jutono *et al.*, 1973). Isolasi bakteri dari sampel air *retting* kenaf dilakukan dalam media *Nutrient Broth* (NB), diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian ditanam dalam media *Nutrient Agar* (NA) secara *pour plate* selama 24–48 jam. Pemurnian bakteri dilakukan pada media NA lalu dipindahkan pada media selektif *carboxyl methylcellulase* (CMC), media selektif pektin, dan media selektif lignin untuk kemudian

diuji potensinya dengan cara ditetesi indikator pewarna *congo red*. Isolat bakteri yang membentuk zona bening adalah isolat yang berpotensi dalam proses *retting* kenaf. Aktivitas selulolitik, pektinolitik, dan lignolitik diukur dengan penentuan indeks selulolitik, pektinolitik, dan lignolitik yang merupakan nisbah antara diameter zona bening dengan diameter koloni (Meryandini *et al.*, 2009).

Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri

Sediaan bakteri diinokulasikan ke dalam 90 ml media NB dan selanjutnya diinkubasi pada *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37°C selama 24 jam. Media produksi dibuat dengan menginokulasi kembali 20 ml sediaan bakteri dengan cara dihomogenasi dan diinkubasi dalam 180 ml media produksi pada *rotary shaker* dengan kecepatan agitasi 120 rpm pada suhu 37°C. Kerapatan sel (*optical density* (OD)) diukur setiap empat jam sampai tercapai fase stasioner dari pertumbuhan bakteri, untuk selanjutnya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu, Japan) pada panjang gelombang 500 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil isolasi diperoleh 12 isolat bakteri, yang terdiri 8 isolat memiliki ketiga potensi sebagai bakteri selulolitik, pektinolitik, serta lignolitik; 1 isolat berpotensi sebagai selulolitik dan lignolitik; dan 1 isolat hanya sebagai selulolitik saja; serta 2 isolat mampu berperan sebagai pektinolitik saja (Tabel 1).

Potensi bakteri dapat dilihat dari terbentuknya zona bening di sekitar koloni setelah penambahan *congo red* seperti contoh pada Gambar 1. Reagen *congo red* dapat berikatan kuat dengan polisakarida dan tampak berwarna merah. Zona bening yang terbentuk dikarenakan enzim yang disekresi sel bakteri baik selulase, pektinase, maupun lignase menghidrolisis polisakarida dalam media menjadi senyawa gula sederhana sehingga tidak terjadi

pengikatan oleh *congo red* (Sutoyo dan Muza-khar, 2008).

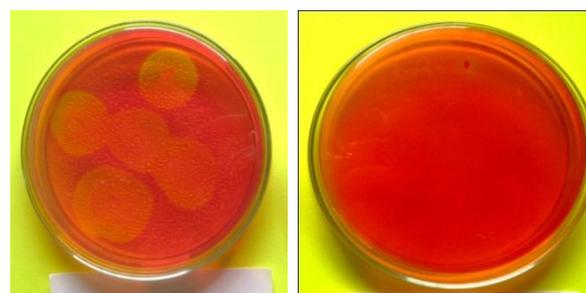
Tabel 1. Potensi isolat sebagai bakteri selulolitik, pektinolitik, dan lignolitik

Isolat	Potensi		
	Selulolitik	Pektinolitik	Lignolitik
SB 1	√	√	√
SB 2	√	√	√
SB 3	√	√	√
SB 4	√	-	√
SB 5	√	√	√
SB 6	√	√	√
SB 7	√	√	√
SB 8	-	√	-
SB 9	√	√	√
SB 10	√	√	√
SB 11	√	-	-
SB 12	-	√	-

Informasi tentang waktu optimum pertumbuhan sel dan nilai indeks potensi sangat penting dalam aplikasi proses *retting* kenaf. Di dalam pertumbuhan sel bakteri, fase log digunakan sebagai awal inokulasi bakteri dalam memulai suatu proses *retting*, karena pada fase log bakteri berada pada kondisi optimum

untuk pertumbuhannya. Peningkatan jumlah sel yang optimal akan diikuti produksi enzim yang tinggi yang dapat mendukung berjalannya proses *retting* kenaf yang lebih efektif dan efisien. Oleh karena itu, dari informasi ini, akan diketahui saat yang tepat untuk memulai pelaksanaan proses *retting*.

Hasil uji pertumbuhan sel dan nilai indeks potensi selulolitik, pektinolitik, serta lignolitik masing-masing isolat disajikan dalam Tabel 2. Bentuk sel isolat *indigenous* dari air *retting* kenaf di KP Asembagus, Situbondo di-



a

b

Gambar 1. Zona bening di sekitar koloni bakteri (a) Zona bening tidak terbentuk (b)

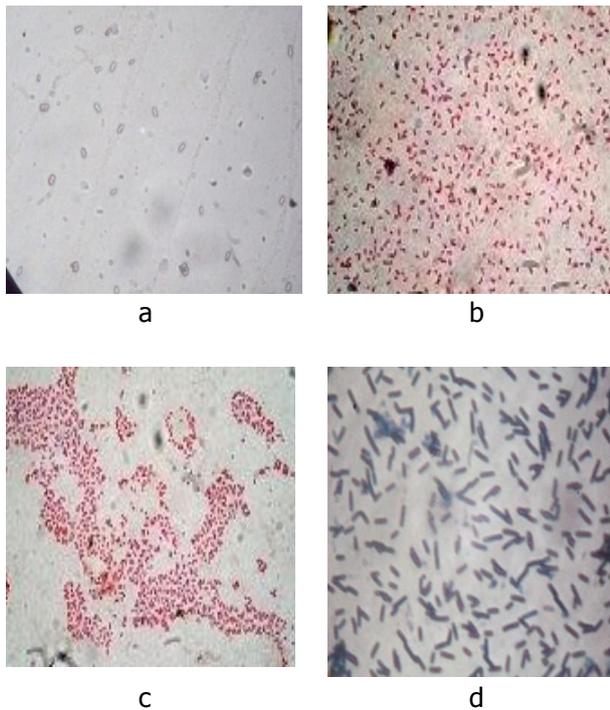
Tabel 2. Hasil pengamatan kondisi optimal pertumbuhan sel dan nilai indeks potensi

Isolat	Bentuk sel	Cat gram	Kondisi optimal		Nilai indeks potensi (mm)		
			Pertumbuhan (jam ke-)	Jumlah sel (juta/ml)	Selulolitik	Pektinolitik	Lignolitik
SB 1	Basil	+	12	214	6	44,12	9,71
SB 2	Basil	-	12	131	5,6	36,18	10,41
SB 3	Basil	+	12	267	9	22,54	9,71
SB 4	Basil	-	12	136	3,4	0	13,51
SB 5	<i>Coccus</i>	-	12	21,9	13,5	25,35	11,33
SB 6	Basil	+	4	210	3,4	38,61	12,36
SB 7	Basil	-	12	145	22,5	62,38	8,82
SB 8	Basil	-	12	141	0	46,08	0
SB 9	Basil	-	12	267	29,25	35,86	19,52
SB 10	Basil	-	12	115	21,4	42,32	11,55
SB 11	Basil panjang	+	12	93	15	0	0
SB 12	Basil	+	8	135	0	33,49	0

Keterangan:

- + : hasil uji positif
- : hasil uji negatif

peroleh informasi yaitu 10 isolat memiliki bentuk sel basil, 1 isolat memiliki bentuk sel basil panjang, dan 1 isolat memiliki bentuk sel *coccus* dengan hasil cat gram yang beragam, yaitu isolat yang gram positif dan gram negatif (Gambar 2). Pengamatan bentuk sel dan pewarnaan cat gram merupakan langkah awal dalam melakukan identifikasi.



Gambar 2. Sel bakteri bentuk basil gram positif (a), sel bakteri bentuk basil gram negatif (b), sel bakteri bentuk *coccus* gram negatif (c), sel bakteri basil panjang gram positif (d) dengan perbesaran 1000 x

Dalam proses *retting* kenaf terdapat 3 komponen yang harus didegradasi untuk memisahkan serat secara sempurna yaitu selulosa, pektin, serta lignin. Kemampuan yang berbeda antara bakteri satu dengan yang lain dapat dikombinasikan kerjanya sehingga diperoleh suatu kinerja yang simultan dan optimal. Namun, tidak menutup kemungkinan adanya kombinasi dengan isolat bakteri yang hanya memiliki potensi selulolitik saja, pektinolitik saja, atau lignolitik saja.

Nilai indeks potensi dijadikan sebagai dasar untuk mengetahui potensi masing-masing isolat sebagai bakteri selulolitik, pektinolitik, serta lignolitik. Semakin besar nilai indeksinya, maka potensi isolat tersebut akan semakin besar pula. Hal ini dapat menjadi indikator dalam menentukan isolat yang dimanfaatkan sebagai sumber inokulum dalam proses *retting* kenaf. Isolat-isolat bakteri *indigenous* yang memiliki ketiga potensi sekaligus (multipotensi) merupakan isolat yang paling sesuai untuk dimanfaatkan sebagai sumber inokulum dalam proses *retting* kenaf, karena memiliki kinerja yang efektif dan efisien. Isolat-isolat bakteri tersebut antara lain adalah SB 1, SB 2, SB 3, SB 5, SB 6, SB 7, SB 9, dan SB 10.

Nilai indeks potensi selulolitik terbesar adalah isolat SB 9 yaitu 29,25 mm, kemudian disusul isolat SB 7 sebesar 22,5 mm, dan SB 10 sebesar 21,4 mm. Isolat SB 9, selain memiliki potensi yang besar sebagai bakteri selulolitik, juga berpotensi sebagai isolat lignolitik yang ditunjukkan dengan nilai indeks lignolitik sebesar 19,52 mm, dan nilai indeks pektinolitik sebesar 35,86 mm. Begitu pula dengan isolat SB 7, selain sebagai selulolitik, juga memiliki potensi terbesar sebagai pektinolitik dengan nilai indeks 62,38 mm, namun nilai indeks lignolitik hanya sebesar 8,82 mm lebih rendah dari SB 9 seperti disajikan dalam Tabel 2.

Sebagian besar pertumbuhan sel bakteri optimum terjadi pada jam ke-12 dengan jumlah sel yang bervariasi antara 21,9–267 juta sel/ml, namun ada pula tumbuh optimum pada jam ke-4 dan ke-8. Pertumbuhan optimum yang dimaksud adalah fase log dalam kurva pertumbuhan suatu bakteri, kondisi dimana bakteri berada pada pertumbuhan maksimum. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Meriyandini *et al.* (2009), isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari sampel tanah, memiliki rata-rata waktu optimal pertumbuhan pada jam ke-24 dengan kisaran jumlah sel 6–7 juta/ml. Sedangkan, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Candilo *et al.* (2009), isolat pektinolitik yang berhasil diisolasi dari air rendam-

an rami memiliki waktu optimum pertumbuhan pada jam ke-24 dengan aktivitas enzim lebih tinggi yaitu dengan kisaran 55.10^{-3} – 75.10^{-3} μ /ml. Hal ini menunjukkan bahwa isolat hasil isolasi dari air *retting* kenaf memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih cepat dibanding isolat selulolitik dari tanah dan isolat pektinolitik dari air rendaman rami.

Perbedaan fase log ini dikarenakan masing-masing isolat bakteri memiliki karakter spesifik yang berbeda. Kemampuannya memetabolisme unsur-unsur dalam media juga sangat mempengaruhi kecepatan pertumbuhannya. Peningkatan aktivitas enzim seiring dengan penambahan jumlah sel bakteri merupakan suatu hal yang wajar, karena fase log merupakan fase dalam tahapan pertumbuhan sel bakteri dimana sel bakteri sedang mengalami kondisi yang optimal dalam pertumbuhannya, sehingga produksi dan aktivitas enzim pun akan ikut meningkat. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi tinggi rendahnya suatu aktivitas enzim di antaranya: jenis substrat, pH lingkungan, waktu, konsentrasi enzim, suhu, serta produk akhir yang mungkin bisa bersifat sebagai penghambat kinerja enzim itu sendiri (Azis, 2010).

Perbedaan antara nilai indeks potensi yang ditunjukkan oleh masing-masing isolat dibandingkan dengan nilai aktivitasnya dapat dijelaskan sebagai fenomena dimana suatu bakteri memiliki persyaratan khusus dalam pemenuhan kebutuhannya seperti ketersediaan air, ketersediaan oksigen, serta ketersediaan unsur-unsur yang lain di dalam lingkungan yang mendukung, baik pH, suhu, atau kelembapan. Kondisi dalam media cair lebih menguntungkan bagi bakteri untuk dapat berkembang biak secara optimal. Dalam memulai inokulasi perlu memperhatikan kondisi optimal dari tiap-tiap bakteri. Informasi ini menjadi saat yang tepat untuk melakukan inokulasi pada proses *retting* kenaf.

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk menguji aktivitas bakteri secara langsung dalam menghidrolisis komponen-komponen polisakarida pengikat serat (selulosa, pektin, dan

lignin) dengan berbagai konsentrasi inokulum serta berbagai kondisi suhu lingkungan.

KESIMPULAN

Hasil isolasi dari air *retting* kenaf di KP Asembagus, Situbondo diperoleh 8 jenis isolat bakteri yang multipotensi sebagai selulolitik, pektinolitik, dan lignolitik, yaitu SB 1, SB 2, SB 3, SB 5, SB 6, SB 7, SB 9, dan SB 10; sedangkan 1 isolat yang memiliki 2 potensi sekaligus sebagai isolat selulolitik dan lignolitik, yaitu SB 4; dan 2 isolat berpotensi sebagai pektinolitik, yaitu SB 8 dan SB 12; serta 1 isolat selulolitik, yaitu SB 11. Isolat bakteri *indigenous* memiliki waktu pertumbuhan optimal pada jam ke-12–18 dengan jumlah sel antara 21,9–267 juta sel/ml pada suhu 37°C.

DAFTAR PUSTAKA

- Azis, P. 2010. Enzim dan faktor-faktor yang mempengaruhi laju kerja enzim. [Http://greenforce.files.wordpress.com/2008/01/materi-tambahan-praktikum.pdf](http://greenforce.files.wordpress.com/2008/01/materi-tambahan-praktikum.pdf). Tanggal akses: 23 Juli 2010.
- Ainuri, M., G. Said, M. Romli, dan Sudjindro. 1997. Pengembangan sistem proses *retting* serat kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) menggunakan kultur mikrobial pada lingkungan non-aseptik. *Agritech* 17(1):18–25.
- Baley, C. 2002. Analysis of flax fibres tensile behaviour and analysis of the tensile stiffness increase. *Composites Part A* 33:939–948.
- Candilo, M.D., P.M. Bonatti, C. Guidetti, B. Focher, C. Grippo, E. Tamburini, and G. Mastromei. 2009. Effects of selected pectinolytic bacterial strains on water-*retting* of hemp and fibre properties. *Journal of Applied Microbiology* 108. p. 194–203.
- Charles, L.W. III, V.K. Bledsoe, and R.E. Bledsoe. 2002. Kenaf harvesting and processing reprinted from: *Trends in new crops and new uses*. J. Janick and A. Whipkey (eds). ASHS Press, Alexandria, VA.
- Chen, L.H., E.P. Columbus, J.W. Pote, M.J. Fuller, and J.G. Black. 1995. Kenaf bast fiber separation. p. 15–19. *In Proc. International Kenaf As-*

- sociation, Ladonia, TX. Mar. 1995. International Kenaf Association, Ladonia, TX.
- Meryandini, A., W. Widosari, B. Maranatha, T.C. Sunarti, N. Rachmania, dan H. Satria. 2009. Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Makara, Sains* 13(1):33–38.
- Ramasmawy, G.N., C.G. Ruff, and C.R. Boyd. 1994. Effect of bacterial and chemical retting of kenaf fiber quality. Dept of Home Economics. Mississippi State University. Mississippi State. Mississippi 39762. USA.
- Sudjindro. 2001. Teknologi untuk mendukung pengembangan kenaf dan sejenisnya. Makalah disampaikan pada Lokakarya Kenaf dan Sejenisnya, Peluang dan Tantangan Agribisnis Kenaf dan Sejenisnya Menyongsong Pasar Bebas, tanggal 7 November 2001. *Balittas, Malang*. 7 hal.
- Jutono, J. Soedarsono, S. Hartadi, S. Kabirun, Suhadi, dan Susanto. 1973. Pedoman praktikum mikrobiologi umum. Fakultas Pertanian, UGM, Yogyakarta.
- Sutoyo dan K. Muzakhar. 2008. Skreening dan identifikasi bakteri endosimbiotik dalam usus ruyap penghasil selulase. *Jurnal Pengendali Hayati* 1(2):104–110.
- Webber, C.L. III and R.E. Bledsoe. 1993. Kenaf: Production, harvesting, and products. p. 416–421. *In* J. Janick and J.E. Simon (eds.), *New crops*. Wiley, New York.
- White, G.A., D.G. Cummins, E.L. Whiteley, W.T. Fike, J.K. Greig, J.A. Martin, G.B. Killinger, J.J. Higgins, and T.F. Clark. 1970. Cultural and harvesting methods for kenaf. *USDA Prod. Res. Rpt.* 113. Washington, DC.