

Produksi Enzim Inulinase Khamir *Pichia manshurica* DUCC Y-015 Dari Tepung Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.) Dengan Variasi Konsentrasi Magnesium Sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) Dan Waktu Inkubasi

Riza Laksitadevi Mutiaratri, Wijanarka, Sri Pujiyanto

Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika

Universitas Diponegoro, Semarang

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Telp. (024) 7474754; Fax. (024) 76480690 Indonesia 50275

E-mail: rizamutiaratri@gmail.com

ABSTRACT

Dahlia tubers (*Dahlia variabilis* Willd.) contain inulin which can be hydrolyzed by the inulinase enzyme (E.C.3.2.1.7) into fructose monomer units. Application of inulinase enzyme is used in the production of HFS (*High Fructose Syrup*) dan FOS (*Fructo-oligosaccharides*). Inulinase can be produced by several microorganisms including inulinolytic yeast *Pichia manshurica* DUCC Y-015. One of the factors that influence the production of enzyme inulinase is macro minerals and incubation time on production medium. This study aims to determine the concentration of magnesium sulphate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) and the most optimal incubation time in producing the inulinase enzyme. The research was carried out experimentally using a Randomized Block Design factorial. The first factor is the concentration $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ those are 0,5 g/L; 1 g/L; and 1,5 g/L. The second factor is the variation of the incubation time, those are 12 hours; 18 hours; and 24 hours, repetition was performed three times. Data were analyzed using ANOVA with 5% significant level ($\alpha = 0,05$) and Duncan Test for further analysis. The results showed that the variation of the concentration of $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ has not been able to increase the production of inulinase enzyme, while the incubation time of 18 hours produced the inulinase enzyme activity of 0,9605 IU/mL.

Keywords: Inulinase, *Dahlia variabilis* Willd., *Pichia manshurica* DUCC Y-015, MgSO_4 , Incubation Time

ABSTRAK

Umbi dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.) mengandung inulin yang dapat dihidrolisis oleh enzim inulinase (E.C.3.2.1.7) menjadi unit monomer fruktosa. Aplikasi enzim inulinase seperti HFS (*High Fructose Syrup*) dan FOS (Fruktooligosakarida). Inulinase dapat diproduksi oleh beberapa mikroorganisme diantaranya khamir inulinolitik *Pichia manshurica* DUCC Y-015. Salah satu faktor yang mempengaruhi produksi enzim inulinase yaitu mineral makro dan waktu inkubasi pada medium produksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi magnesium sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) dan waktu inkubasi yang paling optimal dalam memproduksi enzim inulinase. Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial. Faktor pertama adalah konsentrasi $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, yaitu 0,5 g/L; 1 g/L; dan 1,5 g/L. Faktor kedua adalah variasi waktu inkubasi, yaitu 12 jam; 18 jam; dan 24 jam dengan ulangan sebanyak 3 kali. Data dianalisis menggunakan metode Anova taraf signifikan 5% ($\alpha = 0,05$) dan uji lanjut Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ belum mampu meningkatkan produksi enzim inulinase, namun waktu inkubasi 18 jam dapat menghasilkan produksi enzim inulinase sebesar 0,9605 IU/mL.

Kata kunci: Inulinase, *Dahlia variabilis* Willd., *Pichia manshurica* DUCC Y-015, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Waktu Inkubasi

PENDAHULUAN

Enzim sebagai hasil perkembangan ilmu bioteknologi telah memberikan dampak positif pada bidang industri dan farmasi untuk menunjang pengembangan pangan fungsional. Pangan fungsional merupakan pangan yang mengandung komponen bioaktif yang berpengaruh pada aspek fisiologis, sehingga berdampak positif terhadap kesehatan manusia misalnya inulin. Salah satu enzim yang banyak dipelajari adalah inulinase yang memiliki kemampuan menghidrolisis inulin menjadi fruktosa. Inulin merupakan oligosakarida yang mengandung unit-unit fruktosa dalam ikatan -2-1 fruktofuranosida dan memiliki gugus terminal berupa glukosa (Yustinus, 2008). Senyawa ini dapat diperoleh dari bagian umbi tanaman dahlia (*D. variabilis* Willd.) yang dimanfaatkan dalam pembuatan sirup HFS (*High Fructose Syrup*), FOS (*Fruktooligosakarida*). HFS merupakan hasil hidrolisis inulin pada ujung unit fruktosa (eksoinulinase) yang menghasilkan monomer fruktosa, sedangkan FOS diperoleh dari hasil pemecahan rantai inulin pada bagian tengah secara acak (endo-inulinase). HFS digunakan sebagai pemanis alternatif rendah kalori dan FOS sebagai prebiotik (Widowati dkk., 2005).

Enzim inulinase dapat diperoleh dari khamir *Kluyveromyces* sp., *Candida* sp., *Debaromyces* sp., dan *Saccharomyces* sp. (Wijanarka dkk., 2008). Salah satu khamir indigenous yang bersifat inulinolitik adalah *Pichia manshurica* DUCC Y-015. Morfologi *P. manshurica* DUCC Y-015 berbentuk bulat telur dengan panjang 2-7 μm dan lebar 2-5 μm . Koloni berwarna krem, permukaan halus, bagian tengah koloni menggunung, spora seksual, mampu tumbuh pada suhu 37 °C, dan dapat membentuk miselium palsu dan sejati (Neagu & Bahrim, 2011).

Produksi enzim inulinase dapat ditentukan oleh beberapa faktor seperti magnesium sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) dan waktu inkubasi. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ termasuk penyusun sumber nutrisi dalam medium yang berupa ion

logam. Peranan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ adalah stabilisator ribosom dan asam nukleat pada proses sintesis protein (Madigan *et al.*, 2012). Waktu inkubasi digunakan untuk mengetahui efektivitas kerja enzim suatu mikroorganisme pada medium. Menurut penelitian Wijanarka dkk., (2013) *P. manshurica* DUCC Y-015 mampu menghasilkan inulinase sebesar 0,557 IU/mL dengan konsentrasi $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ pada medium standar sebanyak 0,5 g/L. Hasil tersebut kemudian dikembangkan dalam penelitian ini dengan melakukan variasi pada konsentrasi $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan waktu inkubasi untuk memperoleh nilai aktivitas enzim inulinase yang lebih tinggi.

Enzim invertase adalah enzim yang dapat memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Skowronek *et al.*, 2003). Aktivitas invertase mengiringi aktivitas inulinase, sehingga dapat digunakan rasio I/S (I: inulinase, S: invertase). Nilai rasio I/S >1 dikategorikan enzim inulinase, sedangkan nilai rasio < 1 digolongkan enzim invertase. Rasio I/S digunakan untuk menentukan aktivitas katalitik enzim. Semakin besar nilai rasio I/S maka aktivitas inulinase semakin besar pula (Wijanarka dkk., 2004).

METODE PENELITIAN

Bahan

Pichia manshurica DUCC Y-015, tepung umbi dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.), inulin murni, sukrosa, kertas saring, kapas, kertas pH, reagen DNS (*Dinitrosalicylic Acid*), akuades steril, NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, *yeast extract*, fruktosa standar, buffer sodium asetat, asam asetat glasial, ISM (*Inulin Screening Medium*), dan PDA (*Potato Dextrose Agar*).

Pembuatan Tepung Umbi Dahlia

Umbi dahlia dikupas dan dicuci hingga bersih. Umbi dipotong kecil dan tipis dengan ketebalan \pm 0,5 cm. Potongan umbi dikeringkan menggunakan oven suhu 80 °C selama 2 jam (Ertan *et al.*, 2003) selanjutnya

dihaluskan menggunakan *blender* hingga berbentuk tepung (Wijanarka dkk., 2013).

Pembuatan Starter *P. manshurica* DUCC Y-015

P. manshurica DUCC Y-015 diinokulasikan sebanyak satu ose bulat ke dalam medium starter sebanyak 50 mL. Medium diagitasi menggunakan *rotary shaker* pada kecepatan 120 rpm selama 22 jam (Wijanarka dkk., 2008).

Pembuatan Medium Produksi Inulinase

Tepung umbi dahlia 3% dipanaskan hingga mendidih selama 30 menit. Komposisi medium produksi enzim inulinase (g/L) terdiri dari larutan tepung umbi dahlia (30); NH₄NO₃ (2,3); (NH₄)₂HPO₄ (3,7); K₂HPO₄ (1); MgSO₄.7H₂O (0,5); dan yeast ekstrak (1,5) dengan pH 5 digunakan sebagai medium kontrol (M₁). Medium disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm (Ertan *et al.*, 2003). Variasi MgSO₄.7H₂O sebanyak 1 g/L (M₂) dan 1,5 g/L (M₃).

Pertumbuhan Sel dan Produksi Inulinase

Kultur starter diinokulasikan sebanyak 10% (v/v) dalam medium produksi dengan berbagai konsentrasi MgSO₄.7H₂O yaitu 0,5 g/L (M₁), 1 g/L (M₂), dan 1,5 g/L (M₃). Medium selanjutnya diinkubasi selama 30 jam menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm. Kultur diambil setiap 6 jam sebanyak 5 mL untuk mengukur pertumbuhan sel metode turbidimetri (kekeruhan) menggunakan spektrofotometer pada 520 nm.

Pengukuran Aktivitas Enzim

Pengukuran aktivitas enzim terdiri atas aktivitas inulinase dan invertase, sehingga dapat diperoleh rasio I/S. Pengukuran aktivitas enzim ini dianalisis menggunakan metode gula reduksi yang diukur dengan cara menghitung absorbansi enzim substrat (ES) dikurangi absorbansi substrat (S) dan enzim (E). Berikut adalah rumus aktivitas enzim.

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{(\text{Abs ES} - \text{Abs S} - \text{Abs E})}{\text{BM fruktosa} \times 30 \text{ menit}} \times P \times 1000$$

Keterangan: Abs ES = absorbansi enzim substrat, Abs S = absorbansi substrat, E = absorbansi enzim, BM = berat molekul fruktosa (180,1), P = faktor pengenceran.

a. Aktivitas Inulinase

Aktivitas inulinase dilakukan dengan mengukur absorbansi ES, S, dan E.

Tabel 1. Komposisi Bahan Pengukuran Aktivitas Inulinase

No	Komposisi	ES (mL)	S (mL)	E (mL)	Blanko
1	Buffer phosphat	0,4	0,4	0,4	0,4
2	Crude enzyme	0,1	-	0,1	-
3	Substrat inulin 1%	0,5	0,5	-	-
4	Akuades	-	0,1	0,5	0,6

Tabung reaksi diinkubasi suhu 50 °C selama 30 menit, kemudian dimasukkan dalam air mendidih selama 5 menit. Reagen DNS ditambahkan 1 mL pada kondisi dingin, dipanaskan kembali selama 10 menit, dan ditambahkan 4 mL akuades sebagai pengenceran. Larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada 570 nm. Aktivitas inulinase ditentukan berdasarkan jumlah gula reduksi yang dibebaskan sebanyak 1 μmol per menit.

b. Aktivitas Invertase

Pengukuran aktivitas invertase memiliki prinsip yang sama seperti pengukuran aktivitas inulinase. Perbedaannya hanya pada substrat yang digunakan yaitu larutan sukrosa 1%.

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

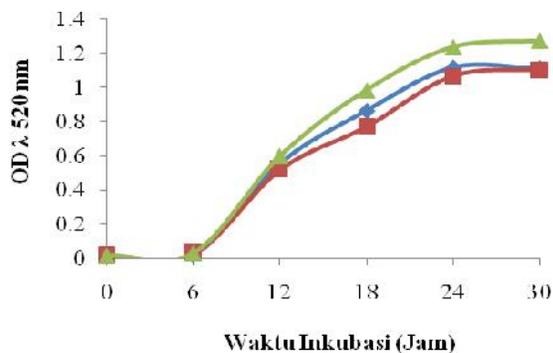
Penelitian ini dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial. Faktor pertama yaitu

variasi konsentrasi $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ yang terdiri 0,5 g/L (M_1); 1 g/L (M_2); dan 1,5 g/L (M_3). Faktor kedua adalah variasi waktu inkubasi yaitu 12 jam (T_{12}); 18 jam (T_{18}); 24 jam (T_{24}). Pengulangan produksi dilakukan sebanyak 3 kali. Data yang diperoleh, dilakukan uji normalitas dan normalitas menggunakan uji Barlett dan uji Kolmogorov-Smirnov, selanjutnya dianalisis menggunakan uji Anova taraf signifikan 5% ($\alpha = 0,05$) dan uji lanjut Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan *P. manshurica* DUCC Y-015

Pertumbuhan khamir merupakan suatu bentuk proses fermentasi yang menguraikan komponen kompleks menjadi komponen sederhana, sehingga dengan mudah dapat diserap sel untuk sintesis energi (Gandjar dkk., 2006). *P. manshurica* DUCC Y-015 tergolong khamir yang bersifat inulinolitik yang artinya memiliki kemampuan untuk memproduksi enzim inulinase (Ertan *et al.*, 2003). Khamir *P. manshurica* DUCC Y-015 memanfaatkan inulin menjadi sumber karbon tunggal untuk mendukung pertumbuhannya. Kekeruhan medium mengindikasikan adanya pertumbuhan khamir yang ditunjukkan dengan nilai absorbansi. Pertumbuhan khamir ketiga perlakuan cenderung menunjukkan pola yang serupa (Gambar 1).



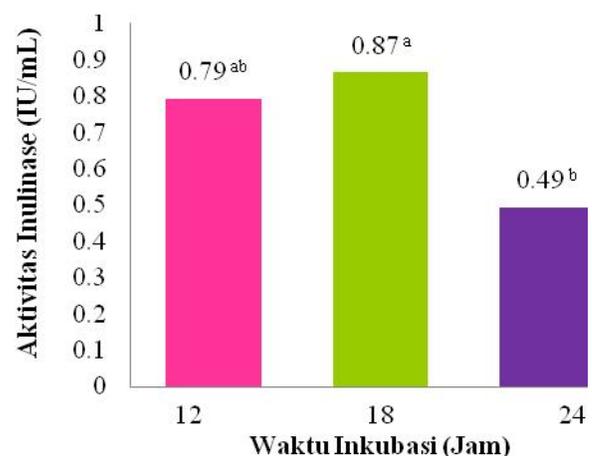
Gambar 1. Kurva pertumbuhan *P. manshurica* DUCC Y-015 dengan variasi konsentrasi $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ dan waktu inkubasi M_1 (—◆—); M_2 (—■—); M_3 (—▲—)

Berdasarkan Gambar 1. menunjukkan pertumbuhan tertinggi terjadi pada waktu inkubasi antara 12-24 jam pada perlakuan M_3 dengan penambahan $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ sebanyak 1,5 g/L. Waktu inkubasi tersebut digolongkan sebagai fase log. Fase ini terbentuk karena khamir *P. manshurica* DUCC Y-015 mengalami pembelahan sel secara pesat dan adanya proses hidrolisis inulin dalam medium.

Fase lag terjadi pada waktu inkubasi antara 0-6 jam yang merupakan fase penyesuaian sel dengan lingkungan (medium). Fase stasioner terjadi pada waktu inkubasi antara 24-30 jam yang menunjukkan adanya penurunan jumlah sel akibat berkurangnya nutrisi dalam medium (Gandjar dkk., 2006).

Aktivitas Inulinase *P. manshurica* DUCC Y-015

Aktivitas inulinase adalah jumlah enzim yang membebaskan sebanyak 1 μ mol gula reduksi berupa fruktosa dari substrat inulin per menit. Inulinase adalah enzim ekstraseluler yang disekresikan keluar dari sel, sehingga perlu dilakukan pemisahan melalui proses sentrifugasi antara supernatan (*crude enzyme*) dan biomassa (Wijanarka dkk., 2007).



Gambar 2. Aktivitas inulinase *P. manshurica* DUCC Y-015 terhadap pengatur waktu inkubasi T_{12} (■); T_{18} (■); T_{24} (■)

Gambar 2. menunjukkan bahwa aktivitas inulinase tertinggi diperoleh pada waktu inkubasi 18 jam. Aktivitas inulinase pada perlakuan berturut-turut yaitu 0,9451 IU/mL; 0,9605 IU/mL; dan 0,6897 IU/mL.

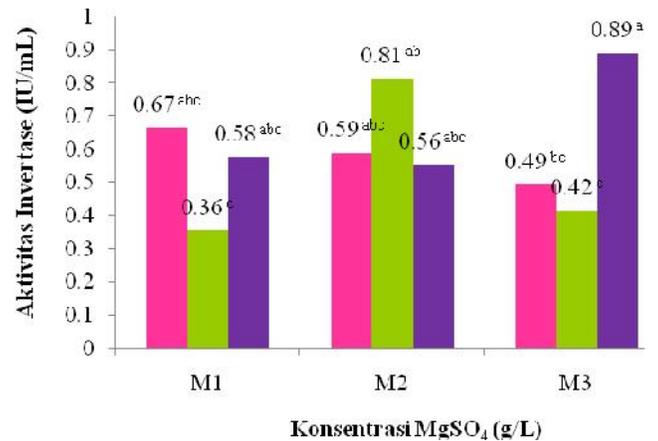
Berdasarkan hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa waktu inkubasi berpengaruh, sedangkan penambahan $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ tidak berpengaruh dalam meningkatkan aktivitas inulinase. Waktu inkubasi berpengaruh dikarenakan enzim inulinase termasuk metabolit primer yang dibentuk pada fase pertumbuhan log. Fase log merupakan fase dengan pertumbuhan sel sangat cepat, sehingga aktivitas enzim akan meningkat pula.

Fase ini khamir memanfaatkan sumber karbon berupa inulin di dalam medium produksi sebagai inducer untuk proses sintesis enzim inulinase pada tahap transkripsi. Keberadaan inulin mampu menginduksi khamir *P. manshurica* DUCC Y-015 untuk memproduksi inulinase, sehingga inulinase tergolong dalam enzim induktif. Sintesis inulinase terjadi karena penempelan RNA polimerase pada promoter. Sintesis enzim diawali dengan adanya gen Rep pada promoter yang diproduksi secara konstitutif akan membentuk represor. Represor adalah suatu protein regulasi yang menghambat terjadinya sintesis protein. Represor berikatan dengan substrat inulin sehingga represor menjadi tidak aktif dan sintesis proteindapat berlangsung. RNA polimerase selanjutnya menempel pada promoter dan terjadi proses transkripsi pada ribosom yang mengandung mRNA. mRNA tersebut kemudian mentranslasi protein yang berisi enzim tertentu sesuai dengan substrat yang digunakan (Madigan *et al.*, 2012).

Aktivitas Invertase *P. mansurica* DUCC Y-015

Unit aktivitas invertase adalah jumlah enzim yang mampu menghidrolisis sebanyak 1 μ mol sukrosa per menit pada kondisi tertentu (Pessoni *et al.*, 1999). Enzim ini digunakan

untuk memecah sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa pada ujung rantai inulin (Wijanarka dkk., 2007).



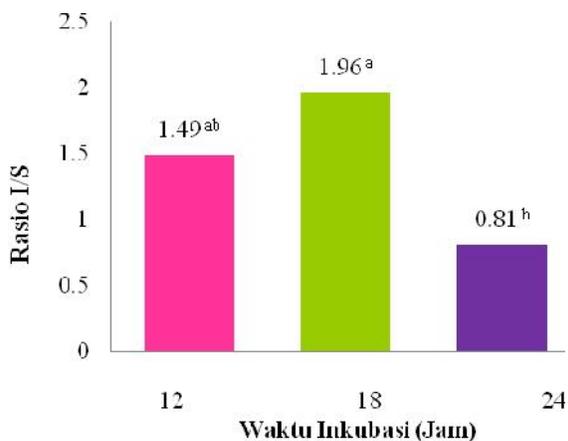
Gambar 3. Aktivitas invertase *P. manshurica* DUCC Y-015 terhadap interaksi $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ dan waktu inkubasi T₁₂ (■); T₁₈ (■); T₂₄ (■)

Gambar 3. menunjukkan bahwa aktivitas invertase tertinggi pada perlakuan M₃T₂₄ (0,8900 IU/mL). Berdasarkan analisis sidik ragam menunjukkan adanya penambahan $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ sebanyak 1,5 g/L dan waktu inkubasi selama 24 jam merupakan konsentrasi dan waktu inkubasi yang paling optimal untuk menghasilkan aktivitas invertase.

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ berperan sebagai stabilisator ribosom dan berdampak pada proses sintesis protein yang ditranslasi menjadi enzim invertase dengan sukrosa 1% sebagai substratnya. Waktu inkubasi berkaitan dengan kurva pertumbuhan *P. manshurica* DUCC Y-015 yang mengalami fase log dengan kecepatan membelah sangat cepat, sehingga terjadi peningkatan jumlah sel yang terkandung dalam medium.

Rasio I/S *P. manshurica* DUCC Y-015

Rasio I/S merupakan rasio yang digunakan untuk mengetahui aktivitas katalitik *P. manshurica* DUCC Y-015. Aktivitas katalitik diperoleh dengan cara membandingkan aktivitas inulinase dan invertase (Wijanarka *et al.*, 2007)



Gambar 4. Rasio I/S *P. manshurica* DUCC Y-015 terhadap pengaruh waktu inkubasi T₁₂ (■); T₁₈ (■); T₂₄ (■)

Berdasarkan analisis sidik ragam, waktu inkubasi berpengaruh terhadap aktivitas invertase sedangkan penambahan MgSO₄.7H₂O maupun interaksinya tidak berpengaruh. Gambar 4. menunjukkan rasio I/S tertinggi sebesar 2,7046 pada waktu inkubasi 18 jam. Hal tersebut dapat diartikan bahwa aktivitas inulinase lebih berperan daripada aktivitas invertase. Nilai rasio I/S dipengaruhi oleh nilai aktivitas inulinase dan invertase karena ketika nilai aktivitas inulinase tinggi dan nilai invertase rendah, sehingga menghasilkan nilai rasio I/S yang tinggi. Nilai rasio I/S dapat dikategorikan menghasilkan enzim inulinase apabila nilainya > 1 sedangkan nilai rasio I/S < 1 menunjukkan enzim yang dihasilkan adalah enzim invertase (Wijanarka *et al.*, 2004).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Variasi konsentrasi MgSO₄.7H₂O belum mampu meningkatkan produksi enzim inulinase, sedangkan waktu inkubasi 18 jam (T₁₈) dapat menghasilkan enzim inulinase sebesar 0,9605 IU/mL. Interaksi antara MgSO₄.7H₂O dan waktu inkubasi dapat mempengaruhi produksi enzim invertase pada perlakuan M₃T₂₄ sebesar

8,900 IU/mL. Pemberian MgSO₄.7H₂O dengan konsentrasi yang berbeda belum mampu meningkatkan rasio I/S, namun waktu inkubasi 18 jam (T₁₈) menjadi kondisi optimal untuk produksi enzim.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika UNDIP, Dr. Drs. Wijanarka, M. Si dan Dr. Sri Pujiyanto, M. Si yang telah membantu terlaksananya penelitian ini serta bimbingan selama tugas akhir.

DAFTAR PUSTAKA

- Ertan, F., Tulin, A., Filliz, E., & Elvan, B. 2003. Determination of Optimum Cultivation Condition on The Production of Inulinase From *Rhizoctania solani*. *Pakistan Journal of Biological Science* 6(1): 1386-1388.
- Gandjar, I., Wellyzar, S. & Ariyanti, O. 2006. *Mikologi: Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta. hal. 39-44.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A. & Clark, D. P. 2012. *Brock Biology of Microorganisms*, 3rd Editon. Benjamin/Cumming Publishing Company Inc., San Fransisco. p. 86-178.
- Neagu, C & Bahrim, G. 2011. Inulinases-A Versatile Tool for Biotechnology. *Innovative Romanian Food Biotechnology* (9): 1-11.
- Pessoni, R.A.B., Ribeiro, R.C.L.F. & Braga, M. R. 1999. Extracellular Inulinases from *Penicillium janczewskii*, a Fungus Isolated from the Rhizosphere of *Vernonia herbacea* (Asteraceae). *Journal of Applied Microbiology* 1(87):141-147.
- Skowronek, M., Justyna, K., Jan, F. & Anna G. 2003. Invertase Activity of Psychrotrophic Fungi. *Akademicka* 19(28): 20-33.
- Widowati, S., Titi, C. S. & Zaharani, A. 2005. Ekstraksi, Karakterisasi, dan Kajian Potensi Prebiotik Inulin dari Umbi Dahlia (*Dahlia pinnata* L.). Seminar

Rutin Puslitbang Tanaman Pangan
Bogor: 1-12.

- Wijanarka, Rejeki, S.F. & Salamah. 2004. Produksi Inulinase *Pichia alni* DUCC W-4 pada Tepung Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.) dengan Variasi Konsentrasi Ammonium Nitrat dan Waktu Inkubasi. *BIOMA* 2(10): 58-64.
- _____, Rukmi, I.M.G. & Lynda S. 2007. Pengaruh Pepton dan Waktu Inkubasi Terhadap Produksi Inulinase oleh *Pichia alni* DUCC-W4 Berbahan Dasar Tepung Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.). *BIOMA* 2(9): 52-57.
- _____, Rejeki, S.F. & Salamah. 2008. Produksi Inulinase oleh *Pichia alni* DUCC-W4 pada Tepung Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.) dengan Variasi Konsentrasi Ammonium Nitrat dan Waktu Inkubasi. *BIOMA* 2(19): 58-64.
- _____, Endang, S.S., Kumala, D & Ari, I. 2013. Aktivitas Inulinase oleh *Pichia manshurica* dan Fusan F4 pada Fermentasi Batch dengan Umbi Dahlia (*Dahlia* sp) sebagai Substrat. *Reaktor Terakreditasi* 3(14): 187-192.
- Yustinus, M. 2008. Prospek Pengembangan Makanan Fungsional. *Teknologi Pangan dan Gizi* 1(7): 19-27.