

AKTIVITAS SELULASE, AMILASE DAN INVERTASE PADA TANAH KEBUN BIOLOGI WAMENA [Cellulase, Amylase and Invertase Activities Achieved from Soil of Wamena Biological Research Station]

MRahmansyah dan HJD Latupapua

Bidang Mikrobiologi, Puslitbang Biologi LIPI, Bogor

ABSTRACT

Enzymatic activities in soil as due to microbes action in organic matter degradation, lead to propose as indicators for determining soil degree enrichment. In this work, the enzymatic activities of cellulase, invertase and amylase were determined in tropical soil collected from Biological Research Station in Wamena. Result of measurement on five soil samples showed that cellulase activity occurred between 0.10 - 0.31 mg reducing sugar/g soil/hour in 2% Carboxymethylcellulose (CMC) substrate, and about 0.15 - 0.25 mg reducing sugar/g soil/hour in 0.5% Avicel substrate. Amylase and invertase assayed in 6% of amyllum and 6% of sucrose substrates correspondingly; and its activities between 2.55 - 3.54 and 0.59 - 1.30 mg reducing sugar/g soil/hour, respectively. Correlation of enzymatic activities and soil organic-C content (1.35 - 2.70%) of soil layer was significant in selulase and amilase, but it was poor correlation in invertase activity.

Kata kunci/keywords: Aktivitas enzim/enzyme activity, selulase/cellulase, amilase/amylase, invertase/invertase, Kebun Biologi Wamena/Wamena Biological Research Station.

PENDAHULUAN

Kebanyakan residu organik di alam umumnya terdapat dalam bentuk selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa merupakan bahan organik paling dominan, dan proses dekomposisinya secara biologis banyak diperankan oleh mikroba. Dekomposisi merupakan fenomena alamiah dan berfungsi menjaga daur nutrisi dalam menunjang seluruh komponen kehidupan pada ekosistem. Energi dan nutrisi yang terkandung dalam bahan organik yang berguna bagi tanaman dan mikroba, akan dikeluarkan selama proses dekomposisi berlangsung.

Bakteri dan jamur adalah mikroba yang banyak berperan dalam dekomposisi bahan organik melalui proses enzimatiknya. Selulase, invertase dan amilase merupakan enzim yang dihasilkan mikroba yang terlibat dalam proses dekomposisi. Aktivitas enzim tersebut berkorelasi dengan kondisi populasi mikroba tanah (Balasubramanianera/, 1972; Abdul-Ghaffertfa/, 1977), khususnya berkaitan dengan pertumbuhan bakteri heterotrop aerob (Vazquez *et al.*, 1993). Oleh sebab itu beberapa peneliti menggunakan aktivitas enzim sebagai salah satu indikator dasar dalam melakukan prediksi kondisi kesuburan tanah (Ross, 1972; Kannan dan Oblisami, 1990), sekalipun beberapa faktor lainnya seperti

kondisi aktivitas mikroba (mikroflora), faktor fisik-kimiawi tanah, keadaan vegetasi, dan faktor iklim pun turut menjadi penentu (Senthilkumar *et al.*, 1997).

Kebun Biologi Wamena-LIPI dibangun untuk kawasan konservasi flora dataran tinggi Papua. Berbagai jenis flora ditumbuhkan di lokasi tersebut dengan tujuan mengkonservasi flora secara *ex-situ*. Perkembangan flora akan berinteraksi dengan status mikroflora di tanah dan lingkungan pada kawasan tersebut. Untuk penegasannya maka telah dilakukan pengamatan terhadap status dan keberadaan mikroflora tanah Kebun Biologi Wamena. Beberapa kegiatan sebagai upaya pengungkapan kekayaan keragaman mikroflora tanah Kebun Biologi Wamena yang telah dilaksanakan antara lain isolasi dan identifikasi mikroba penambat nitrogen (Sri Purwaningsih dan Latupapua, 2001), mikroba pelarut fosfat (Suliasih *et al.*, 2001), agen biokontrol (Latupapua dan Nurhidayat, 2001), agen pupuk hayati (Sri Widawati *et al.*, 2001), dan keragaman khamir (Kanti, 2001).

Penelaahan aktivitas enzim pada tanah kawasan Kebun Biologi Wamena dapat menjadi langkah kongkrit dalam mempertegas status aktivitas mikroba tanah yang menyangkut aktivitas dekomposisi bahan organik. Aktivitas selulase, amilase, dan invertase

diamati untuk dua tujuan. Selain dimaksudkan untuk mengetahui kondisi aktivitas enzim sehubungan dengan proses dekomposisi bahan organik tanah sebagai status kesuburan lahan, juga sekaligus dapat diketahui pengaruh keragaman warna tanah terhadap aktivitas enzim selulase, amilase dan invertase.

BAHAN DAN CARA KERJA

Sampel Tanah

Tanah diambil dari areal Kebun Biologi Wamena yang memiliki luasan lahan sekitar 150 ha, pada ketinggian 1700 m dpi (di atas permukaan laut), pada bulan Juli 2002. Sampel tanah diperoleh dari lima lokasi berbeda (Tabel 1). Sampel diambil dengan cara membersihkan permukaan tanah, kemudian digali sampai kedalaman 10 cm. Tanah dikeringanginkan di ruangan, dibersihkan dan dikemas untuk segera dikirim ke Laboratorium Ekologi Mikroba, Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi LIPI di Bogor.

Di laboratorium, setiap sampel tanah dibersihkan dari unsur bukan tanah, dan disaring; kemudian dilakukan pengukuran terhadap pH dengan melarutkan 40 g tanah ke dalam larutan 100 ml $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.147 g/100 ml H_2O), kadar air (*dry weight basis*), kapasitas lapang (*water holding capacity = WHC*), dan kandungan bahan organik tanah. Selama tidak dipergunakan sampel disimpan dalam inkubator pada suhu 4°C (Srivastava dan Sing, 1988).

Kandungan Bahan Organik

Sebanyak 1 g tanah dimasukkan dalam labu ukur 100 ml; selanjutnya ditambahkan 20 ml $\text{H}_2\text{Cr}_2\text{O}_4$ dan 15 ml H_2SO_4 ; didiamkan selama 2 jam; kemudian ditambahkan H_2O sampai tera (bahan-1). Sebanyak 1 ml bahan-1 ditambah 25 ml H_2O , kemudian kandungan organiknya diukur dengan spektrofotometer (Thermospectronic Genesys 20) pada panjang gelombang 570 nm. Untuk membuat kurva standar digunakan larutan mioinositol pada konsentrasi 2, 4, 6 dan 8%. Persentase kandungan organik dihitung dengan rumusan sebagai berikut (Ohlinger dan Gerzabek, 1996):

$$\text{Kandungan organik tanah} = \frac{S \times 2}{BT}$$

S = asumsi persentase bahan organik pada sampel berdasar perhitungan standar

2 = faktor koreksi

BT = bobot tanah (g)

Ekstraksi Enzim

Sebanyak 15 g tanah dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 50 ml larutan asetat yang memiliki pH 4 (bahan-2), selanjutnya dihancurkan dengan sonikator (Ultra S Homogenizer VP-15^S) selama 10 menit, kemudian dipusingkan (Sorvall RC 5C Plus) pada kecepatan 3000 rpm, pada suhu 2°C selama 10 menit. Supernatan digunakan sebagai ekstrak enzim (bahan-3), dan dapat disimpan pada suhu dingin sampai diperlukan untuk pengukuran.

Aktivitas Enzim

Sebanyak 2 ml bahan-3 dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml substrat, dan diinkubasi dalam inkubator (Centromat^R HK) 37°C selama 2 jam. Substrat yang digunakan adalah Avicel 0.5% untuk mengukur aktivitas selulase, sukrosa 6% untuk invertase, dan amilum 6% untuk amilase. Pelarut substrat adalah dapar yang digunakan dalam ekstraksi enzim. Pengukuran aktivitas selulase dilakukan pula dengan menggunakan substrat karboksimetil selulosa (CMC) 2% dengan menggunakan dapar borat pH 10. Untuk pengukuran aktivitas enzim (hasil inkubasi) kemudian disebut sebagai bahan-4.

Pengukuran Aktivitas Enzim

Setengah ml bahan-4 dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml asam dinitrosalisilat (DNS) (Miller, 1959), dan dihomogenasi. Tabung reaksi kemudian dipanaskan dalam air mendidih (100°C) selama 5 menit, didinginkan pada air mengalir, selanjutnya diencerkan dengan 10 ml H_2O . Glukosa yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer 540 nm. Aktivitas enzim dinyatakan sebagai miligram gula pereduksi yang terbentuk akibat aktivitas enzim pada satu gram tanah selama satu jam (mg gula pereduksi/g bobot tanah/jam), yang penghitungannya dilakukan menurut rumusan berikut:

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{\text{mg/l gula pereduksi} \times 25 \times 3/1000}{15 \times 2}$$

Keterangan:

25 = faktor pengenceran (50/2 ml)

3 = volume yang diukur (ml)

15 = bobot tanah (g)

2 = waktu inkubasi (*Qam*)

Tabel 1. Kondisi fisik-kimia tanah

Sampel tanah	pH	Kadar air (%)	WHC (%)	Kandungan organik (%)
A. Puncak Koliken, elevasi tertinggi, dominan alang-alang (<i>Imperata cylindrica</i> (L.) Beauv.) dan <i>duaga</i> (<i>Vaccinium varingaefolium</i> (Bl.) Miq.), terbuka; berwarna coklat.	3,68	19,02	43,12	2,70
B. Lereng Koliken, vegetasi alang-alang dan <i>seno</i> (<i>Castanopsis acuminatissima</i> (Blume) A. DC); berwarna kuning.	3,79	17,47	40,51	1,35
C. Dekat kolam, di luar vegetasi hutan <i>seno</i> ; berwarna coklat.	4,14	22,84	34,67	2,25
D. Tepi kali Dupuk, vegetasi campuran; berwarna kuning kecoklatan.	3,94	19,12	42,84	1,80
E. Lembah Koliken, vegetasi alang-alang, <i>nyatamuk</i> (<i>Rhododendron macgregoriae</i> F.v.M.), <i>wiep</i> (<i>Grevillea papuana</i> Diels.) dan <i>duaga</i> ; berwarna coklat tua.	4,71	21,19	43,46	2,02
Rata-rata	4,05	19,92	40,92	2,03

Tabel 2. Hasil pengukuran aktivitas enzimatik (notasi sampel seperti pada Tabel 1)

Sampel tanah	Aktivitas enzim (mg gula pereduksi/g tanah/jam)				Invertase Amilase
	Selulase*	Selulase**	Amilase	Invertase	
A	0,28	0,25	2,55	1,30	0,51
B	0,08	0,24	3,54	1,19	0,34
C	0,31	0,21	3,44	1,21	0,35
D	0,14	0,17	3,27	1,24	0,38
E	0,10	0,15	3,54	0,59	0,17
Rata-rata	0,18	0,20	3,27	1,11	0,35

* Substrat CMC; **Avicel

HASIL

Kondisi Tanah

Hasil pengamatan seperti tertera pada Tabel 1, menunjukkan bahwa pH tanah berkisar 3.6-4.7, kadar air 17,5-22,8%, dan WHC 34,7-43,5%. Kandungan organik dalam tanah relatif rendah, yaitu antara 1.35-2.70%. Kandungan organik dan kadar air pada tanah yang berwarna coklat cenderung lebih tinggi dari tanah berwarna kuning.

Tingkat keasaman terendah terdapat pada tanah A (pH 3,68) sebagai tanah yang diambil dari daerah terbuka pada elevasi paling tinggi dengan hanya sedikit vegetasi, sedangkan yang tertinggi pada tanah E (pH 4,71), dikoleksi dari bawah tegakan pohon *seno* (*Castanopsis acuminatissima*), sekalipun keduanya mencirikan tanah yang sama berwarna coklat (Tabel 1).

Aktivitas Enzim

Selulase, amilase dan invertase adalah enzim yang terlibat dalam proses dekomposisi. Aktivitas amilase dan invertase terendah terdapat pada tanah A dan E (Tabel 2). Nilai aktivitas amilase dan invertase pada keseluruhan contoh tanah masing-masing antara 2.55-3.54 dan 0.59-1.30 mg gula pereduksi/g tanah/jam. Aktivitas invertase lebih rendah dari amilase. Enzim invertase selain dihasilkan oleh mikroba juga dikeluarkan oleh biomasa tumbuhan yang tengah mengalami dekomposisi. Invertase yang terukur merupakan hasil aktivitas mikroba karena sampel diperoleh dari lapisan tanah yang tidak mengandung atau dibebaskan dari unsur biomassa lainnya.

Aktivitas selulase diukur dalam kondisi substrat dan pH yang berbeda. Pengukuran aktivitas enzim

dengan substrat CMC dilakukan pada kondisi pH 10, menggunakan larutan dapar borat. Aktivitas selulase dalam merombak substrat CMC tidak dapat berlangsung pada pH 4, kecuali bila menggunakan substrat Avicel dengan dapar asetat. Nilai aktivitas selulase merombak substrat CMC dan Avicel masing-masing berkisar antara 0,08-0,28 dan 0,15-0,25 mg gula pereduksi/g tanah/jam.

Selulase adalah kelompok enzim yang mengubah biomassa selulosa. Pola sinergi enzim kelompok selulase adalah memutus ikatan glikosidik selulosa dan menghasilkan produk akhir berupa glukosa. Glukosa merupakan sumber nutrisi untuk metabolisme mikroba dalam melakukan proses dekomposisi bahan organik.

Adanya nilai korelasi kuat antara aktivitas selulase dengan kandungan bahan organik tanah (Tabel 3), menunjukkan bahwa selulase berperan sesuai fungsinya. Hubungan yang nyata (korelasi negatif) terjadi pula antara aktivitas amilase terhadap kandungan organik tanah, serta aktivitas invertase dengan kondisi keasaman tanah.

Amilase adalah enzim yang mendegradasi pati yang didapat dalam bentuk amilosa dan amilopektin.

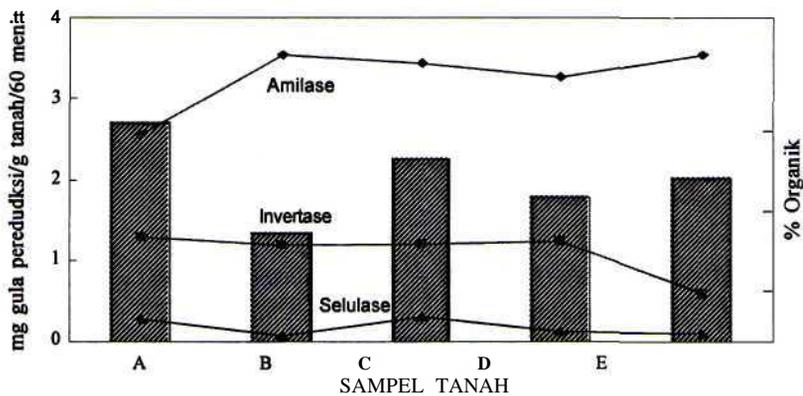
Kedua bentuk pati tersebut terdapat pada tanah sebagai bahan organik berasal dari tumbuhan. Invertase merupakan enzim perombak sukrosa menjadi monosakarida dengan rantai karbon yang lebih sederhana, dan karbon tersebut menjadi sumber nutrisi untuk metabolisme serta pertumbuhan mikroba di dalam tanah (Balasubramanian *et al*, 1972).

Hasil pengamatan terhadap kadar air dan WHC tidak memperlihatkan adanya pengaruh terhadap aktivitas enzim. Sedangkan kondisi pH hanya berpengaruh terhadap aktivitas invertase saja. Fenomena tersebut didukung oleh hasil uji optimasi aktivitas invertase terhadap pH yang menunjukkan bahwa aktivitas yang tinggi terjadi pada pH 4, kemudian menurun sampai titik terendah pada pH 5 (data tidak dicantumkan). Aktivitas kembali meningkat sampai separuhnya pada pH 8. Aktivitas invertase tertinggi terdapat pada sampel tanah B dan E, sekalipun kadar air, WHC dan kandungan organiknya bervariasi. Gambaran mengenai hubungan aktivitas enzim dengan kandungan bahan organik dari kelima sampel tanah asal Kebun Biologi Wamena seperti diilustrasikan pada Gambar 1.

Tabel 3. Koefisien korelasi aktivitas enzim terhadap beberapa parameter kondisi tanah

Parameter	Selulase (CMC-ase)	Amilase	Invertase
1. Kadar air	0,509	0,227	- 0,357
2. Daya jerap air (WHC)	-0,512	-0,308	- 0,301
3. Kandungan organik	0,815***	- 0,672**	0,039
4. pH	- 0,263	0,094	- 0,603*

(**p* 0,10 = 0,549; ***p* 0,05 = 0,632; ****p* 0,005 = 0,805; *df*= 8)



Gambar 1. Hubungan antara kandungan organik dengan aktivitas enzim

PEMBAHASAN

Data kondisi fisik dan kimia tanah Kebun Biologi Wamena telah berhasil dihimpun. Kadar air tanah, WHC, kondisi pH, dan kandungan organik merupakan data penting untuk menyertai analisis aktivitas enzim selulase, amilase dan invertase. Aktivitas selulase pada seluruh sampel berfluktuasi sesuai dengan kandungan bahan organik dari masing-masing sampel yang diamati serta memiliki korelasi positif ($p=0,005$) ($p<0,005$), sedangkan aktivitas amilase berkorelasi negatif ($p=0,005$) ($p<0,05$). Hasil pengamatan Kannan dan Oblisami (1990) menegaskan bahwa peningkatan kelarutan bahan organik ke dalam tanah diikuti dengan aktivitas selulase, amilase dan invertase. Selulase merupakan enzim yang mudah larut dalam air dan mendegradasi selulosa sebagai substrat yang sulit larut dalam air. Sedangkan amilase dan invertase merupakan enzim yang sulit larut dalam air namun mendegradasi amilosa dan sukrosa yang mudah larut dalam air.

Selulase adalah kelompok enzim kompleks terdiri dari endoglukanase, eksoglukanase, dan glukosidase. Endoglukanase memotong bagian rantai selulosa secara acak, sedangkan eksoglukanase memotong pada dua rantai bagian luar sehingga menghasilkan selobiosa; glukosidase mendegradasi selobiosa dan selodekstrin menjadi glukosa (Deng dan Tabatabai, 1994). Eksoglukanase dan endoglukanase memiliki varian aktivitas degradasi yang luas di mana dalam posisi sinergi maka eksoglukanase cenderung dipengaruhi oleh kecepatan aktivitas endoglukanase (Kim *et al.*, 1994). Aktivitas eksoglukanase yang mendegradasi substrat Avicel dan endoglukanase yang merombak substrat CMC pada penelitian ini terjadi pada kisaran pH yang berbeda, oleh sebab itu pengukuran awal dengan substrat CMC tidak dapat menguji aktivitasnya. Dengan demikian maka degradasi selulosa pada sampel tanah Kebun Biologi Wamena pada kedalaman 10 cm tidak berjalan efektif, atau terjadi sangat lambat, dan tidak nampak adanya sinergi kedua macam selulase tersebut. Aktivitas selulase, amilase dan invertase umumnya berlangsung dinamis pada lapisan humus di atas tanah hutan (Kshattriya *et al.*, 1992) yang sedang mengalami dekomposisi bahan organik.

Bakteri dan jamur menghidrolisis pati dengan cara menghasilkan enzim amilase ekstraseluler. Enzim tersebut terdiri dari α -amilase dan β -amilase yang masing-masing memutus ikatan α dan β -glikosidik secara acak dan memutus rantai amilosa nonpereduksi. Hasil akhir degradasi pati adalah berupa ikatan karbon sederhana seperti maltosa, glukosa dan dekstrin (Conn dan Stumpf, 1976) yang kesemuanya merupakan sumber nutrisi mikroba tanah.

Invertase sebagai enzim yang dihasilkan oleh mikroba tanah dapat pula disekresikan oleh akar tumbuhan. Pengamatan terhadap invertase mikroba perlu penanganan seksama agar tidak terpengaruh oleh invertase hasil sekresi bahan organik. Oleh sebab itu, pada saat penyaringan dan pembersihan tanah supaya setiap sampel terbebas dari unsur organik berupa serpihan akar (*plant debris*) atau bahan lainnya yang biasanya tercampur dengan tanah.

Hasil isolasi yang dilaksanakan oleh para peneliti sebelumnya menunjukkan bahwa terdapat keragaman dan fungsi mikroba tanah. Beberapa jenis bakteri berfungsi sebagai penambat nitrogen (*Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*), beberapa jamur berperan dalam proses pelarutan fosfat, dan terdapat bakteri yang berpotensi sebagai agen biokontrol (*Pseudomonas cepacia*, *P. fluorescens*, *P. striata*) (Sri Purwaningsih dan Latupapua, 2001; Suliasih *et al.*, 2001; Latupapua dan Nurhidayat, 2001; Sri Widawati *et al.*, 2001). Selain jamur dan bakteri, khamir adalah kelompok mikroba yang telah berhasil diisolasi dan berpotensi menghasilkan selulase (Kanti, 2001), perannya dapat membantu dekomposisi selulosa serta menyediakan sumber fosfat bagi tanaman. Data keberadaan status dan fungsi mikroba tanah Kebun Biologi Wamena menggambarkan keragaman potensi yang dimilikinya dan berguna untuk kepentingan strategi pengembangan Kebun Biologi di masa yang akan datang.

KESIMPULAN

Adanya aktivitas enzim selulase, amilase, dan invertase dari setiap sampel tanah yang diamati menunjukkan bahwa terdapat aktivitas mikroba yang mendukung terjadinya siklus nutrisi melalui proses dekomposisi bahan organik di lahan Kebun Biologi

Wamena. Sekalipun secara visual terjadi keragaman seperti warna tanah dan kondisi lingkungan yang berbeda dari setiap sampel yang diuji, namun tidak menampakkan perbedaan kadar pH, kondisi air dan nilai aktivitas enzim yang tinggi, karena secara topografis bahwa kelima tempat pengambilan sampel tersebut berlokasi dalam satu wilayah hamparan Kebun Biologi Wamena.

UCAPAN TERDYIAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Pemimpin Proyek Penelitian Pengembangan Potensi Flora dan Fauna di Papua, Puslitbang Biologi LIPI yang memberikan dukungan finansial melalui Tahun Anggaran Proyek 2002, dan terima kasih disampaikan pula kepada Wydiastri Untari.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul-Ghaffer AS, El-Shakwer MHA and Barakat MA. 1977.** Effect of Organic Matter and Salts on the Activity of Some Soil Enzymes. *Dalam: Soil Organic Matter Studies*. IAEA, Vienna, him. 319-323.
- Balasubramanian A, Siddaramappa R and Rangaswami G. 1972.** Effect of organic manuring on the activities of the enzymes hydrolysing sucrose and urea and soil agregation. *Plant and Soil* 37, 319-328.
- Conn EE and Stumpf PK. 1976.** *Outline of Biochemistry*. John Willey and Sons. London.
- Deng SP and Tabatabai MA. 1994.** Cellulase Activity of Soil. *Soil Biology and Biochemistry* 26, 1347-1354.
- Kannan K and Oblisami G. 1990.** Influence of Paper Mill Effluent Irrigation on Soil Enzyme Activities. *Soil Biology and Biochemistry* 22,923-926.
- Kanti A. 2001.** Diversitas Khamir Tanah Kebun Biologi Wamena, Kabupaten Jayawijaya, Propinsi Papua. *Laporan Teknik Bagian Proyek Penelitian dan Pengembangan Potensi Flora dan Fauna di Papua*. Stasiun Penelitian dan Alih Teknologi LIPI, Wamena, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor. him 12-17.
- Kim-Dong Won, Jeong-Young Kyu and Lee-Jae Kuk. 1994.** Adsorption Kinetics of Exoglucanase in Combination with Endoglucanase from *Trichoderma viride* on microcrystalline cellulose and Its Influence on Synergistic Degradation. *Enzym Microbial Technology* 16,649-658.
- Kshattriya S, Sharma GD and Mishra RR. 1992.** Enzyme Activities Related to Litter Decomposition in Forests of Different Age and Altitude in North East India. *Soil Biology and Biochemistry* 24,265-270.
- Latupapua HJD dan Nurhidayat N. 2001.** Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Pseudomonas* dari Tanah Kebun Biologi Wamena Sebagai Agen Biokontrol. *Laporan Teknik Bagian Proyek Penelitian dan Pengembangan Potensi Flora dan Fauna di Papua*. Stasiun Penelitian dan Alih Teknologi LIPI, Wamena, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor. him 48-53.
- Miller GL. 1959.** Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry* 31,426-428.
- Ohlinger R and Gerzabek M 1996.** Organic Carbon in Soil Extracts. *Dalam: Methode in Soil Biology*. F Schinner, R Ohlinger, E Kandeler and R Margesin (Editor). Springer. London, him 398-400.
- Ross DJ. 1972.** Some Enzyme and Respiratory Activities of Tropical Soil from New Hebrides. *Soil Biology and Biochemistry* 5, 559-567.
- Senthilkumar K, Manian S and Udaiyan K. 1997.** The Effect of Burning on Soil Enzyme Activities in Natural Grassland in Southern India. *Ecological Research* 12,21-25.
- Sri Purwaningsih dan Latupapua HJD. 2001.** Isolasi, Populasi dan Karakterisasi Keberadaan Bakteri *Rhizobium* dari Tanah Kebun Biologi Wamena. *Laporan Teknik Bagian Proyek Penelitian dan Pengembangan Potensi Flora dan Fauna di Papua*. Stasiun Penelitian dan Alih Teknologi LIPI, Wamena, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor. him. 35-40.
- Srivastava SC and Sing JS. 1988.** Carbon and Phosphorus in Soil Biomass of Some Tropical Soils of India. *Soil Biology and Biochemistry* 20,743-747.
- Sri Widawati, Suliasih dan Latupapua HJD. 2001.** Pupuk Organik dan Hayati Sebagai Agen Oertumbuhan Anakan *Kaliandra* (*Calliandra* sp.) serta Kepadatan Mikroba pada Tanah Asam. *Laporan Teknik Bagian Proyek Penelitian dan Pengembangan Potensi Flora dan Fauna di Papua*. Stasiun Penelitian dan Alih Teknologi LIPI, Wamena, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor. him. 18-27.
- Suliasih, Widawati S dan Latupapua HJD. 2001.** Daya Pacu Mikroba Pelarut Fosfat dan Penambat Nitrogen pada Tanaman Jagung (*Zea mays*). *Laporan Teknik Bagian Proyek Penelitian dan Pengembangan Potensi Flora dan Fauna di Papua*. Stasiun Penelitian dan Alih Teknologi LIPI, Wamena, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor. him. 28-34.
- Vazquez FJ, Acea MJ and Carballas T. 1993.** Soil Microbial Population After Wild Fire. *FEMS Microbial Ecology* 13,93-103.