

**OPTIMASI PRODUKSI ENZIM SELULASE DARI *Colletotrichum* sp.
DENGAN VARIASI SUMBER KARBON DAN NITROGEN
MENGGUNAKAN *RESPONSE SURFACE METHODOLOGY***

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya**

Oleh:

**RISCHA AMARA YUNIAR
08041381924063**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2023**

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Optimasi Produksi Enzim Selulase dari *Colletotrichum sp.*
dengan Variasi Sumber Karbon dan Nitrogen
Menggunakan *Response Surface Methodology*

Nama Mahasiswa : Rischa Amara Yuniar

NIM : 08041381924063

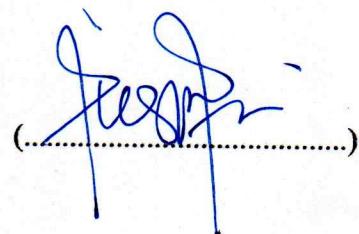
Jurusan : Biologi

Telah disetujui untuk disidangkan pada tanggal 21 Juni 2023

Indralaya, Juni 2023

Pembimbing :

Dr. Elisa Nurnawati, M.Si
NIP. 197504272000122001



HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah Seminar : Optimasi Produksi Enzim Selulase dari *Colletotrichum sp.*
dengan Variasi Sumber Karbon dan Nitrogen
Menggunakan *Response Surface Methodology*

Nama Mahasiswa : Rischa Amara Yuniar

NIM : 08041381924063

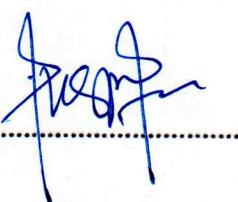
Jurusan : Biologi

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 21 Juni 2023 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukan yang diberikan.

Indralaya, Juli 2023

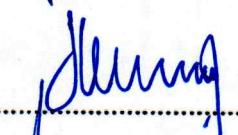
Pembimbing :

Dr. Elisa Nurnawati, M.Si.
NIP. 197504272000122001

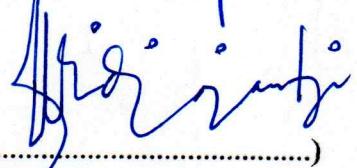
(.....)

Pembahas :

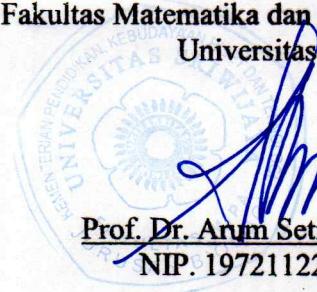
Dra. Muhamni, M.Si.
NIP. 196306031992032001

(.....)

Dr. Harry Widjajanti, M.Si.
NIP. 196112121987102001

(.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya



Prof. Dr. Arum Setiawan, S.Si.,M.Si.
NIP. 197211221998031001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Rischa Amara Yuniar
NIM : 08041381924063
Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.



Indralaya, Juni 2023

Penulis,



Rischa Amara Yuniar
08041381924063

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Rischa Amara Yuniar
NIM : 08041381924063
Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “Hak bebas royaliti non-ekslusif (*non-exclusively royalty-free right*)” atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Optimasi Produksi Enzim Selulase dari *Colletotrichum* sp. dengan Variasi Sumber Karbon dan Nitrogen Menggunakan *Response Surface Methodology*”

Dengan hak bebas royaliti non-ekslusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemiliki hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, Juni 2023

Penulis,



Rischa Amara Yuniar
08041381924063

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Tuhanmu tidak meninggalkanmu dan tidak benci denganmu. Dan sesungguhnya yang akhir itu lebih baik bagimu daripada yang permulaan.”

(Q.S. Adh-Dhuha, 93 : 3 - 4)

Kupersembahkan skripsi ini untuk:

- Allah dan Nabi Muhammad ﷺ
- Bapak dan Ibu yang paling aku sayang, yang selalu mendoakan, mendukung, dan menjadi alasanku untuk berjuang
- Diriku sendiri yang sudah berjuang sampai saat ini
- Adik-adikku yang sama-sama sedang berusaha menuntut ilmu (semoga Allah mudahkan)
- Pembimbing skripsiku, Ibu Elisa Nurnawati yang baik hati, sabar, dan pengertian
- Teman-temanku yang sudah memberikan warna dalam hidupku

“Entah bagaimana mimpi-mimpi itu, tapi selama perjuangan hidup menuntun kita lebih dekat pada Allah, Rasulullah SAW, lebih dekat ke surga, maka kita tetap jadi pemenang hidup”

(@qooonit)

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah menganugerahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul “Optimasi Produksi Enzim Selulase dari *Colletotrichum* sp. dengan Variasi Sumber Karbon dan Nitrogen Menggunakan *Response Surface Methodology*” dapat diselesaikan. Skripsi ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Bidang Studi Biologi di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

Ucapan terimakasi saya berikan kepada kedua orang tua saya serta adik-adik saya yang telah memberikan doa dan dukungan kepada penulis selama masa perkuliahan di Universitas Sriwijaya. Ucapan terimakasih juga saya ucapkan kepada Ibu Dr. Elisa Nurnawati, S.Si, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, dukungan maupun saran dengan penuh keikhlasan dan kesabaran sehingga skripsi ini dapat diselesaikan serta kepada Ibu Dra. Muhamni, M.Si. dan Ibu Dr. Hary Widjajanti, M.Si selaku dosen pembahas yang telah mengarahkan serta memberi saran kepada penulis dalam menulis.

Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Yth:

1. Prof. Dr. Ir. H. Anis Saggaf, MSCE. selaku Rektor Universitas Sriwijaya
2. Prof. Hermansyah, S.Si, M.Si, Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
3. Prof. Dr. Arum Setiawan, M.S.i., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
4. Dr. Sarno, M.Si., selaku Sekretaris Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
5. Dr. Elisa Nurnawati, M.Si., selaku dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama perkuliahan.
6. Seluruh Bapak/Ibu Dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

7. Kak Andi dan Kak Bambang yang telah membantu proses administrasi selama perkuliahan
8. Ibu Rosmania, S. T. selaku analis Laboratorium Mikrobiologi yang telah banyak membantu selama penelitian tugas akhir
9. Kak Agus Wahyudi, S. Si. selaku analis Laboratorium Genetika dan Bioteknologi yang telah memberikan pengarahan, ilmu, dan bantuan selama penelitian tugas akhir
10. Teman-teman kos tersayangku EG 49 (Anin, Yunis, Lulu), Usti, Rosita Sinta Dewi, dan Shaumi yang sudah memberikan warna dalam dunia perkuliahanku. Terimakasih karena kalian bersedia menjadi teman recehku.
11. Serta semua pihak lain yang penulis tidak dapat sebutkan satu persatu.

Terima kasih banyak atas kebaikannya semoga Allah SWT melipatgandakan segala kebaikan kepada pihak-pihak yang terkait. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membacanya.

Indralaya, Juni 2023

Penulis

**OPTIMIZATION OF CELLULASE PRODUCTION FROM *Colletotrichum* sp.
WITH CARBON AND NITROGEN SOURCES USING
RESPONSE SURFACE METHODOLOGY**

**Rischa Amara Yuniar
08041381924063**

SUMMARY

One of the fungi that can produce cellulase is *Colletotrichum* sp. Nutritional factors are factors that influence cellulase production. The carbon sources serve as the main element in the formation of cells, while nitrogen can form amino acids, DNA, RNA, and ATP. The need for cellulase enzymes in various industrial fields. Therefore, optimization of cellulase production by paying attention to carbon and nitrogen sources needs to be done to achieve maximum results.

This research was conducted to determine the best carbon and nitrogen sources that can increase the production of cellulase enzymes from *Colletotrichum* sp. indicated by the highest enzyme activity, knowing the optimum value of cellulase activity with different carbon and nitrogen sources based on the Response Surface Methodology, and knowing the medium formula for optimizing cellulase enzyme from *Colletotrichum* sp. based on the Response Surface Methodology. This research was conducted from September 2022 to April 2023 at the Microbiology laboratory, Genetics and Biotechnology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University.

The stages of this research consisted of preparing the medium, making DNS reagents, selecting the best carbon and nitrogen sources, measuring fungal biomass, making a glucose standard curve using the DNS method, quantitatively testing cellulase activity using the DNS method, and optimizing cultivation media using Response Surface Methodology. The highest cellulase enzyme production was *colletotrichum* sp. obtained from the addition of straw of 5 g/L and yeast extract of 2,5 g/L. The optimum value of cellulase activity from *Colletotrichum* sp. based on Response Surface Methodology is 14,41 U/ml. The optimization medium formulation for cellulase production is by using 5,764 g/L straw and 5 g/L yeast extract which produces a cellulase activity value of 12,581 U/ml and 0,069 g of biomass with a desirability value of 0,787.

Keywords: Optimization of Enzyme Production Cellulase enzyme, *Colletotrichum* sp., Response Surface Methodology

OPTIMASI PRODUKSI SELULASE DARI *Colletotrichum* sp. DENGAN VARIASI SUMBER KARBON DAN NITROGEN MENGGUNAKAN RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

**Rischa Amara Yuniar
08041381924063**

RINGKASAN

Salah satu fungi yang dapat menghasilkan selulase adalah *Colletotrichum* sp. Faktor nutrisi merupakan faktor yang berpengaruh terhadap produksi selulase. Sumber karbon berfungsi sebagai unsur utama pada pembentukan sel, sedangkan nitrogen dapat membentuk asam amino, DNA, RNA, dan ATP. Kebutuhan akan enzim selulase terus meningkat karena enzim tersebut banyak digunakan di berbagai bidang industri. Oleh karena itu, optimasi produksi selulase dengan memerhatikan faktor sumber karbon dan nitrogen perlu dilakukan untuk mencapai hasil yang maksimal.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui sumber karbon dan nitrogen terbaik yang dapat meningkatkan produksi enzim selulase dari *Colletotrichum* sp. yang ditunjukkan dengan aktivitas enzim paling tinggi, mengetahui nilai optimum aktivitas selulase dengan sumber karbon dan nitrogen yang berbeda berdasarkan *Response Surface Methodology*, serta mengetahui formula medium untuk optimasi produksi enzim selulase dari *Colletotrichum* sp. berdasarkan *Response Surface Methodology*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2022 sampai bulan April 2023 di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Genetika dan Bioteknologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Tahapan penelitian ini terdiri dari pembuatan medium, pembuatan reagen DNS, pemilihan sumber karbon dan sumber nitrogen terbaik, pengukuran biomassa fungi, pembuatan kurva standar glukosa dengan metode DNS, uji aktivitas selulase secara kuantitatif dengan metode DNS, dan optimasi media kultivasi menggunakan *Response Surface Methodology*. Produksi enzim selulase paling tinggi dari *Colletotrichum* sp. diperoleh dari penambahan jerami sebesar 5 g/L dan *yeast extract* sebesar 2,5 g/L. Nilai optimum aktivitas selulase dari *Colletotrichum* sp. berdasarkan *Response Surface Methodology* adalah 14,41 U/ml. Formulasi medium optimasi produksi selulase yaitu dengan penggunaan jerami 5,764 g/L dan *yeast extract* 5 g/L yang menghasilkan nilai aktivitas selulase 12,581 U/ml dan biomassa 0,069 gr dengan nilai *desirability* 0,787.

Keywords: Optimasi Produksi Enzim, Enzim Selulase, *Colletotrichum* sp., *Response Surface Methodology*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
SUMMARY.....	ix
RINGKASAN.....	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. <i>Colletotrichum</i> sp.....	7
2.2. Selulosa	7
2.3. Enzim Selulase.....	9
2.4. Sumber Nutrisi Fungi.....	11
2.5. Metabolisme Fungi	13
2.5.1. Metabolisme Karbohidrat	14
2.5.2. Metabolisme Nitrogen	15
2.6. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim	16
2.6.1. pH	16
2.6.2. Konsentrasi Substrat dan Enzim	16

2.6.3. Aktivator dan Inhibitor	17
2.6.4. Suhu.....	17
2.7. Optimasi Produksi Enzim.....	18
2.8. <i>Response Surface Methodology (RSM)</i>	18
BAB III METODE PENELITIAN.....	21
3.1. Waktu dan Tempat	21
3.2. Alat dan Bahan.....	21
3.3. Cara Kerja.....	22
3.3.1. Pembuatan Medium.....	22
3.3.2. Pembuatan Reagen DNS.....	22
3.3.3. Peremajaan Fungi <i>Colletotrichum</i> sp.	22
3.3.4. Kultivasi Fungi untuk Produksi Enzim Selulase.....	23
3.3.4.1. Pemilihan Sumber Karbon Terbaik	23
3.3.4.2. Pemilihan Sumber Nitrogen Terbaik	23
3.3.5. Pengukuran Biomassa Fungi.....	24
3.3.6. Pembuatan Kurva Standar Glukosa Menggunakan Metode DNS	25
3.3.7. Uji Aktivitas Selulase Secara Kuantitatif dengan Metode DNS	25
3.3.8. Optimasi Media Kultivasi Menggunakan <i>Response Surface</i> <i>Methodology (RSM)</i>	27
3.3.8.1. Tahap Perancangan.....	27
3.3.8.2. Analisis Model Respon.....	28
3.3.8.3. Proses Optimasi.....	28
3.3.8.4. Tahap Verifikasi.....	29
3.3.9. Variabel Penelitian	29
3.3.10. Penyajian Data	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1. Sumber Karbon Terbaik Fungi <i>Colletotrichum</i> sp.....	31
4.2. Sumber Nitrogen Terbaik Fungi <i>Colletotrichum</i> sp.	33
4.3. Hasil Optimasi Kultivasi Fungi <i>Colletotrichum</i> sp.....	34
4.3.1. Respon Aktivitas Enzim Selulase dan Biomassa Hail Optimasi	34

4.3.2. Model Respon dan Hasil Analisis Ragam (ANOVA) Fungi <i>Colletotrichum</i> sp. terhadap Aktivitas Enzim Selulase.....	36
4.3.3. Model Respon dan Hasil Analisis Ragam (ANOVA) Fungi <i>Colletotrichum</i> sp. terhadap Biomassa.....	37
4.3.4. Pemodelan Kontur dan 3D Surface	39
4.3.5. Formulasi Medium Optimasi Fungi <i>Colletotrichum</i> sp.....	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1. Kesimpulan.....	44
5.2. Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN	52

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Ringkasan Komposisi Optimasi dan Taraf Faktor Optimasi	36
Tabel 4.2. Respon Aktivitas Selulase dan Biomassa dengan Berbagai Komposisi Faktor Menggunakan <i>Response Surface Methodology</i>	36
Tabel 4.3. Rekomendasi Formula Medium Optimasi Fungi <i>Colletotrichum</i> sp...	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Karakteristik Makroskopi dan Mikroskopi <i>Colletotrichum</i> sp.....	8
Gambar 2.2.	Stuktur Selulosa	9
Gambar 2.3.	Skema Hidrolisis Enzimatik Selulosa.....	10
Gambar 4.1.	Nilai aktivitas selulase dan biomassa fungi <i>Colletotrichum</i> sp. dalam berbagai sumber karbon dengan waktu kultivasi selama 7 hari.....	31
Gambar 4.2.	Nilai aktivitas selulase dan biomassa fungi <i>Colletotrichum</i> sp. dalam berbagai sumber nitrogen dengan waktu kultivasi selama 7 hari.....	34
Gambar 4.3.	Kontur dan 3D Surface untuk Respon Aktivitas Selulase Berdasarkan Interaksi Antar Faktor	40
Gambar 4.4.	Kontur dan 3D Surface untuk Respon Biomassa Berdasarkan Interaksi Antar Faktor.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Komposisi Medium	52
Lampiran 2.	Pembuatan Kurva Standar Glukosa	52
Lampiran 3.	Tabel Nilai Absorbansi Kurva Standar Glukosa	54
Lampiran 4.	Grafik Kurva Standar Glukosa.....	54
Lampiran 5.	Hasil Uji Kuantitatif Aktivitas Selulase dengan Interaksi Antar Faktor Percobaan	55
Lampiran 6.	Tabel Hasil Pengukuran Nilai Absorbansi Sampel	55
Lampiran 7.	Perhitungan Nilai Aktivitas Selulase	56
Lampiran 8.	Jumlah Kuadrat Beberapa Model yang Dirancang untuk Proses Optimasi Aktivitas Enzim Selulase	59
Lampiran 9.	Fit Statistic yang Cocok untuk Proses Optimasi Medium Kultivasi Aktivitas Selulase	59
Lampiran 10.	Analisis Keragaman (ANOVA) untuk Model Kuadratik	59
Lampiran 11.	Jumlah Kuadrat Beberapa Model yang Dirancang untuk Proses Optimasi Biomassa	60
Lampiran 12.	Fit Statistic yang Cocok untuk Proses Optimasi Medium Kultivasi Biomassa	60
Lampiran 13.	Analisis Keragaman (ANOVA) untuk Model Kubik	60
Lampiran 14.	Model Matematik untuk Respon Aktivitas Selulase	61
Lampiran 15.	Model Matematik untuk Respon Biomassa Fungi	61
Lampiran 16.	Penentuan Komponen-Komponen Optimasi, Batas Minimum, Batas Maksimum, dan Tingkat Kepentingannya	61
Lampiran 17.	Hasil Kultivasi <i>Colletotrichum</i> sp. Selama 7 Hari dengan Variansi Sumber Karbon	62
Lampiran 18.	Hasil Kultivasi <i>Colletotrichum</i> sp. Selama 7 Hari dengan Variansi Sumber Nitrogen	62

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Enzim selulase merupakan enzim kompleks yang tersusun dari tiga jenis enzim yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase (Putri, 2016). Selulosa akan dihidrolisis secara acak pada daerah amorf oleh endoglukanase dan menghasilkan rantai oligosakarida. Oligosakarida akan dihidrolisis menjadi selobiosa disakarida oleh eksoglukanase, dan β -glukosidase menghidrolisis selobiosa disakarida menjadi dua monomer glukosa (Iqbal *et al.*, 2010).

Enzim selulase banyak digunakan di berbagai bidang industri. Banyaknya industri yang mulai beralih menggunakan enzim untuk mempercepat suatu reaksi kimia menyebabkan enzim semakin banyak dibutuhkan, termasuk enzim selulase. Industri *pulp* dan kertas membutuhkan selulase untuk menghilangkan zat warna dari kertas bekas dan mampu menghemat energi sekitar 20 – 40 % dalam proses penyulingan (Kunamneni, 2016). Selulase juga digunakan pada industri tekstil, contohnya pada proses pencucian (*biowashing*) kain denim (Oktariani *et al.*, 2019) dan proses *biopolishing* pada kain kapas (Purnama *et al.*, 2021).

Selulase dapat diproduksi oleh mikroorganisme selulolitik pada kelompok aktinomiset, bakteri, dan fungi. Fungi menghasilkan enzim ini dihasilkan secara

ekstraseluler, fungi memproduksi enzim di dalam sel lalu dikeluarkan ke media pertumbuhannya untuk mendegradasi senyawa polimer. Rohmah *et al.* (2019) telah berhasil mengisolasi fungi selulolitik yang berasal dari serasah daun salak (*Salacca edulis*). Fungi yang memiliki aktivitas selulolitik cukup tinggi berhasil teridentifikasi sebagai *Thielaviopsis ethacetica SLL10*. Penelitian yang dilakukan oleh Talantan *et al.* (2018) menemukan adanya fungi selulolitik dari tanah danau Kalimpa'a Sulawesi Tengah yang teridentifikasi sebagai fungi dari genus *Aspergillus*.

Fungi penghasil enzim selulase juga berhasil ditemukan oleh Rizkiana (2021) yang diisolasi dari serasah akasia (*Acacia mangium*). Sebanyak 12 isolat berhasil diisolasi, 9 isolat memiliki aktivitas enzim selulase, 3 isolat mempunyai indeks selulolitik yang tinggi ($>0,2$) yaitu isolat SL5A2, SL3A2, dan SL2A1, sedangkan 6 isolat yang lain mempunyai indeks selulolitik yang rendah ($<0,2$) yaitu isolat SL5A1, SL2B1, SL2B2, SL4B1, SL4B2, dan SL5B1. Isolat SL5A1 termasuk isolat yang memiliki indeks selulolitik kecil dengan nilai aktivitas enzim selulase sebesar 10,45 U/ml dan teridentifikasi sebagai *Colletotrichum* sp.

Fungi membutuhkan makanan sebagai nutrisi untuk bertahan hidup. Faktor nutrisi berpengaruh sangat signifikan terhadap produksi selulase (Maan *et al.*, 2016) yang diperoleh dari medium pertumbuhan atau medium produksi enzim. Media pertumbuhan harus mengandung unsur-unsur penting seperti oksigen, karbon, nitrogen, dan kalsium yang termasuk ke dalam nutrisi penting pada medium produksi enzim (Septiani *et al.*, 2017). Karbon berperan sebagai unsur utama pada pembentukan sel, sedangkan nitrogen dapat membentuk asam

amino, DNA, RNA, dan ATP (Roosheroë *et al.*, 2014). Dengan demikian, optimasi produksi enzim selulase dengan memerhatikan faktor sumber karbon dan nitrogen penting dilakukan untuk mencapai hasil yang maksimal.

Sumber karbon adalah nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan fungi yang memiliki peran penting pada proses metabolisme sel karena berfungsi sebagai sumber energi dan berperan penting dalam pembentukan sel fungi (Purba *et al.*, 2020). Sumber karbon yang sering digunakan di dalam media pertumbuhan fungi antara lain glukosa, maltosa, laktosa, fruktosa, galaktosa, CMC, jerami padi, sekam padi, serbuk gergaji, dan ampas tebu. Pemilihan sumber karbon seperti laktosa, maltosa, CMC dan jerami perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas enzim selulase dari *Colletotrichum* sp.

Penggunaan sumber karbon seperti laktosa 0,5% (w/v) mampu mengoptimalkan produksi selulase dari *Apergillus hortai* (El-Hadi *et al.*, 2014). Sumber karbon berupa CMC dan maltosa juga dinilai mampu meningkatkan produksi selulase dari *Colletotrichum gloeosporioides* (Shubha dan Srinivas, 2021). Limbah berlignoselulosa seperti jerami dapat dimanfaatkan sebagai media tumbuh penghasil enzim karena memiliki kandungan nutrisi seperti karbohidrat, protein, serat, dan lemak. Selain itu, limbah ini bisa didapatkan dengan harga yang murah dan ramah lingkungan (Agustini *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Singh *et al.* (2021) menyebutkan bahwa penambahan jerami padi bisa meningkatkan produksi selulase dari fungi *Aspergillus flavus*.

Sumber nitrogen merupakan nutrisi penting yang dapat digunakan untuk mendukung pertumbuhan fungi, baik itu sumber nitrogen organik maupun sumber

nitrogen anorganik. Sumber nitrogen anorganik yang biasanya digunakan antara lain ammonium sulfat, NaNO_3 , NaNO_2 , KNO_3 , dan NH_4Cl , sedangkan sumber nitrogen organik yang sering digunakan antara lain *yeast extract*, pepton, *meat extract*, dan tripton (Waites *et al.*, 2014). Pemilihan sumber nitrogen terbaik seperti ammonium sulfat, *yeast extract*, urea, dan pepton perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas enzim selulase dair *Colletotrichum* sp.

Penggunaan *yeast extract* berpengaruh pada peningkatan aktivitas enzim selulase dari *Colletotrichum gloeosporioides* (Shubha dan Srinivas, 2021) karena *yeast extract* merupakan substrat yang mengandung peptida dan asam amino, vitamin larut air dan karbohidrat (Sunaryanto *et al.*, 2018). Penambahan pepton sebanyak 0,25% (w/v) mempengaruhi produksi enzim selulase dari *Aspergillus hortai* (El-Hadi *et al.*, 2014). Urea juga dapat meningkatkan produksi enzim selulase pada media bagas tebu dari *Aspergillus* spp.1 (Agustini, 2017). Produksi enzim selulase dari *Penicillium oxalicum* juga menunjukkan peningkatan dengan penambahan ammonium sulfat pada medium pertumbuhan (Li *et al.*, 2021).

Optimasi aktivitas enzim dapat dilakukan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM). Interaksi beberapa variabel dalam suatu sistem dengan efek kuadrat dapat ditentukan dengan rsm sehingga respon yang dihasilkan menjadi optimal (Hasan *et al.*, 2012). Metode ini dapat membantu mengetahui pengaruh variabel bebas kepada respon, mendapatkan model yang menggambarkan hubungan antara variabel bebas dengan respon, serta memperoleh kondisi proses untuk menghasilkan respon paling baik. RSM dipilih karena memiliki beberapa keunggulan antara lain tidak membutuhkan banyak

data-data percobaan dan dapat menghemat waktu percobaan (Iriawan dan Astuti, 2021).

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Jenis sumber karbon dan nitrogen apakah yang paling baik untuk meningkatkan produksi enzim selulase dari *Colletotrichum* sp. yang ditunjukkan dengan aktivitas enzim paling tinggi?
2. Berapakah nilai optimum aktivitas enzim selulase dengan menggunakan sumber karbon dan nitrogen yang berbeda berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM)?
3. Bagaimanakah formula medium untuk optimasi produksi enzim selulase dari *Colletotrichum* sp. berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM)?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui sumber karbon dan sumber nitrogen terbaik yang dapat meningkatkan produksi enzim selulase dari *Colletotrichum* sp. yang ditunjukkan dengan aktivitas enzim paling tinggi.
2. Mengetahui nilai optimum aktivitas enzim selulase dengan menggunakan sumber karbon dan nitrogen yang berbeda berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM).

3. Mengetahui formula medium untuk optimasi produksi enzim selulase dari *Colletotrichum* sp. berdasarkan *Response Surface Methodology* (RSM).

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai sumber karbon dan sumber nitrogen terbaik yang dapat meningkatkan produksi enzim selulase dari *Colletotrichum* sp., serta memberikan informasi mengenai formula medium untuk optimasi produksi enzim selulase dari *Colletotrichum* sp. berdasarkan *Response Surface Methodology* sehingga dapat menekan biaya produksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adri, W., Mardiah, E., dan Afrizal. 2013. Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan Kemampuannya Menghidrolisis Jerami Padi. *Jurnal Kimia Unand.* 2(2) :103-108.
- Agustini, L., Irianto, R. S., Turjaman, M., Faulina, S. A., Arianteri, R., Stephandra, S., Yuniar, H., Aryanto, dan Yani, A. 2017. Pengaruh Kondisi Jultur pada Aktivitas Selulase Isolat *Pycnoporus* sp. dan *Phlebiopsis* sp. *Jurnal Selulosa.* 7(2) : 79 - 90.
- Ahmad, I., Ptobowo, W. C., Nur, Y., Ardana, M., Puji, B., Rahayu, dan Herman. 2020. Optimasi Metode Ekstraksi Berbantu Mikrowave dengan Pelarut Hijau (Asam Sitrat-Glukosa) terhadap Kadar Polifenol Total dari Daun Kadamba (*Mitragyna speciosa* Korth. Havil) Menggunakan Response Surface Methodology. *Majalah Farmasi dan Famakologi.* 24 (1) : 11 – 16.
- Ahmad, T., Rana, M.R., 2021. Optimization of Substrate Composition for Pectinase Production from Satkara (*Citrus macroptera*) Peel Using *Aspergillus niger*-ATCC 1640 in Solid-state Fermentation. *Heliyon.* (7).
- Alexopoulos, C.W., Mimms, dan Blackwell. 2002. *Introductory Mycology, 5th Edition.* New York : John Willey & Sons, INC.
- Amadi, O. C., Egong, E. J. 2020. Process Optimizatiom for Simultaneous Production of Cellulase, xylanase, and Ligninase by *Saccharomyces cerevisiae* SCPW 17 Under Solid State Fermentation Using Box-Bhenken Experimental Design. *Heliyon.* (6).
- Andlar, M., Rezic, T., Mardetko, N., Kracher, D., Ludwig, R., dan Santek, B. 2018. Lignocellulose Degradation : An Overview of Fungi and Fungal Enzymes Involved in Lignocellulose Degradation. *Engineering in Life Sciences.* 1 (1) : 1 – 40.
- Ardiyanti, C. A. P., dan Guntoro. 2019. Produksi *Yeast Extract* dari *Spent Brewer's Yeast*. *Bioedukasi : Jurnal Penddikan Biologi.* 12 (1) : 52 – 60.
- Cahyani, P., Wijanarka., dan Raharjo, B. 2017. Aktivitas Spesifik Selulase *Serratia marcescens* dengan Variasi Konsentrasi Amonium Sulfat ((NH₄)₂SO₄) dan pH. *Jurnal Biologi.* 6 (2) : 41 – 49.
- Devitria, R dan Harni S. 2018. Isolasi Dan Karakterisasi Fungi Selulolitik Dari Tanah Gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu, Riau. *Jurnal Akademika Kimia.* 7 (4): 200-205

- El-Hadi, A., El-Nour, S.A., Hammad, A., Kamel, Z., dan Anwar, M. 2014. Optimization of Cultural and Nutritional Condition for Carboxymethylcellulase Production by *Apergillus hortai*. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 7(1): 23-28.
- Elihasridas, Jamarun, N., Zain, M., dan Marlida, Y. 2012. Suplementasi Mineral Sulfur pada Ransum Tongkol Jagung Amoniasi dan Pengaruhnya Terhadap Kecernaan Secara In Vitro. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 14 (2) : 349 – 354.
- Fatriasari, W., Masruchin, N., dan Hermiati, E. 2019. *Selulosa: Karakteristik dan Pemanfaatannya*. Jakarta : LIPI Press.
- Gautam, S.P., Bundela, P.S, Pandey, A.K., Khan J., Awasthi M.K., dan Sarsaiya, S. 2011. Optimization for The Production of Cellulase Enzyme from Municipal Solid Waste Residue by Two Novel Cellulolytic Fungi. *Biotechnol Res Intl*. 1-8
- Gunam, I. B. W., Aryanta, W. R., dan Darma, I. B. 2011. Produksi Selulase Kasar dari Kapang *Trichoderma viride* dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebu dan Lama Fermentasi. *Jurnal Biologi Udayana*. 15(2).
- Hajrin, W., Windah A. S., Yohanes J., dan Dyke G. W. 2021. Application of Simplex Lattice Design Method on The Optimisation of Deodorant Rollon Formula of Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Jurnal Biologi Tropis*. 21 (2): 501-209.
- Hakim, L., Kurniatuhadi, R., dan Rahmawati. 2020. Karakteristik Fisiologis Jamur Halofilik berdasarkan Faktor Lingkungan dari Sumur Air Asin di Desa Suak, Sintang, Kalimantan Barat. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*. 5 (2) : 227 – 232.
- Hapsari, R. B., Pranoto, Y., Murdiati, A., dan Supriyanto, S. 2022. Optimasi Proses Nanopresipitasi pada Nanoenkapsulasi Ekstrak Kasar Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) Menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). *agriTech*. 42 (1) : 75 – 85.
- Hasan, A. E. Z., Nashrianto H. dan Juhaeni R. N. 2012. Optimasi Kondisi untuk Rendemen Hasil Ekstraksi Kulit Manggis (*Garcina mangostana* L.). *Fitofarmaka*. 2: 153-159.
- Hoa, B. T. dan P. V. Hung. 2013. Optimization of Nutrional Composition and Fermentation Conditions for Cellulase and Pectinase Production for Cellulase and Pectinase Production by *Aspergillus oryzae* using Respons Surface Methodology. *International Food Research Journal*. 20(6):3269 – 3274.

- Iriawan, N., dan Astuti, S. P. 2021. *Mengolah Data Statistik dengan Mudah Menggunakan Minitab 14*. Yogyakarta : Penerbit Andi.
- Iqbal, H. M. N., Asgher, M., Ahmed, I. And S. Hussain. 2010. Media Optimization for Hyper-production of Carboxymethyl Cellulase using Proximally Analyzed Agro-Industrial Residu with *Trichoderma harzianum* under SSF. *IJAVMS*. 4(2): 46-55.
- Jasman, dan Ahmad, R. M. 2021. Pengaruh Jenis Perlakuan Awal terhadap Konsentrasi Bioetanol Hasil Hidrolisis dan Fermentasi Tongkol Jagung menggunakan *Trichoderma reseei* dan *Saccharomyce cerevisiae*. *Jurnal Beta Kimia*. 1(2) : 25 – 34.
- Kaseke, Z.M., Okaiyeto, K., Nwodo U.U., Mabinya LV., dan Okoh AI. 2016. Optimization of cellulase and xylanase production by *Micrococcus* species under submerged fermentation. *Sustainability*. 8 (1168): 1-15.
- Kulkarni, N., Vaidya, T., dan Rathi, G. 2018. Optimization of cellulase production by *Aspergillus* species under solid state fermentation. *The Pharma Innovation*. 7(1):193-196.
- Kunamneni, A. 2016. Cellulase in Biomedical Research. *Elsevier*. 7(1) : 267 – 275.
- Kusuma, H, A., Kumalaningsih, S., dan Pranowo, D. 2019. Optimasi Suhu dan Konsentrasi Maltodekstrin pada Proses Pembuatan Serbuk Lobak dengan Metode *Foam Mat Drying*. *Industria: Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*. 8 (3) : 171 – 182.
- Li, H., Dou, M., Wang, X., Gou, N., Kou, P., Jiao, J., dan Fu, Y. 2021. Optimization of Cellulase Production by a Novel Endophytic Fungus *Penicillium oxalicum* R4 Isolated from *Taxus cuspidata*. *Sustainability*. 13 (1): 1 – 14.
- Limkar, M., B., Pawar, S. V., dan Rathod, V. K. 2019. Statistical Optimization of Xylanase and Alkaline Protease co-production by *Bacillus* spp using Box-Behnken Design Under Submerged Fermentation Using Wheat Bran as a Substrate. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*.
- Maan, P, Bharti, AK, Gautam, S, dan Dutt, D. 2016. Screening of Important factors for xylanase and cellulase production from the fungus *C. cinerea* RM-1 NFCCI-3086 through Plackett-Burman experimental design. *BioResources*. 11 (4): 1869-1974.

- Madigan, M. T., Bander, K. S., Buckley, D. H., Sattley, M., dan Stahl, D. A. 2018. *Brock Biology of Microorganisms*. Pearson : Boston.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 31(3) : 426–428.
- Montgomery, D.C. 2016. *Design and Analysis of Experiments 8th Edition*. John Wiley and Sons: New York.
- Mulyadi, I. 2019. Isolasi dan Karakterisasi Selulosa : Review. *Jurnal Santika UNPAM*. 1 (2) : 177 – 182.
- Mulyasari, Melati, I., dan Sunarno, T. D. 2015. Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Rumput Laur *Turbinaria* sp. dan *Sargassum* sp. Sebagai Kandidat Pendegradasi Serat Kasar Pakan Ikan. *Jurnal Riset Akuakultur*. 10 (1) : 51 – 60.
- Murad, H. A., dan Azzaz, H. E. 2013. Cellulase Production from Rice Straw by *Aspergillus flavus* NRRL 5521. *Science International*. 1 (4) : 103 – 107.
- Nehad, E. A., Yonnes, M. F., dan Reem, A.A. 2019. Optimization and Purification of Cellulase Produced by *Penicillium decumbens* and Its Application. *Egyptian Pharmaceutical Journal*. 18 (4) : 391 – 402.
- Nurmiah, S., Syarieff, R., Sukarno, Peranginangin, R., dan Nurtama, B. 2019. Aplikasi Response Surface Methodology pada Optimalisasi Kondisi Proses Pengolahan *Alkali Treated Cottonii* (ATC). *JPB Kelautan dan Perikanan*. 8 (1) : 9 – 22.
- Oktariani, E., Maulisa, I. N., dan Muslim, I. 2019. Morfologi Dan Sifat Fisik Kain Kapas Berwarna Hasil Proses Biowashing Menggunakan Enzim Selulase Hasil Fermentasi Jerami Dan Sekam Padi Oleh Bakteri *Aspergillus niger*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 4 (2) : 98 – 104.
- Onofre, S. B., Steilmnn, P., Bertolini, J., Rotta, D., Sartori, A., Kagimura, F.Y., Groff, S., dan Mazzali, L. 2011. Amylolytic enzymes produced by the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* in rice semi-solid fermentation. *Journal of Yeast and Fungal Research*. 2(3) : 28 – 32.
- Prasanna, H. N., Ramanjaneyulu, G., dan Reddy, B. R. 2016. Optimization of Cellulase Production by *Penicillium* sp.. *Biotech*. 6(3) : 162.
- Pratiwi, R., Rahayu, D., dan Berliana. 2016. Pemanfaatan Selulosa dari Limbah Jerami Padi (*Oryza sativa*) sebagai Bahan Bioplastik. *IJPST*. 3 (3) : 83 – 91.

- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga : Jakarta.
- Purba, N., Gunam, I. B., dan Wijaya, I. M. 2020. Produksi Enzim Selulase Kasar dari Isolat Bakteri B2S8 menggunakan Substrat Brangkasan Jagung dengan Perlakuan Konsentrasi Inokulum dan Komposisi Media yang berbeda. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 8 (2) : 267 – 278.
- Purkan., Purnama, dan Sunarsih. 2015. Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* Menggunakan Sekam Padi dan Ampas Tebu sebagai Induser. *Jurnal Ilmu Dasar*. 16 (2) : 95-102.
- Purnama, I., Komalasari, M., Adhyaksa, G., dan Azhari, M. 2021. Pengaruh Penggunaan Konsentrasi Enzim Selulase dan Batu Apung pada Proses Biopolishing Kain Kapas. *Texere*. 19 (2) : 94 – 103.
- Putri S, 2016. Karakterisasi enzim selulase yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* pada variasi suhu, ph dan konsentrasi substrat. *Disertasi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Qiu, J.J., Chen, W., Ding, M., Zhang M.L., dan Zhoa, F.K. 2012. Optimization Of *Penicilin* G Acylase Production By Recombinat *Bacillus subtilis* Via Response Surface Analysis. *Journal Zhejiang Sci Tech Univ.* 29(9): 10281037.
- Rahmawaty, F. dan Sutanto, H. 2014. Penerapan Metode Permukaan Respon Untuk Optimalisasi Proses Sealing Pada Pengemasan Produk Makanan Jelly. *Mathunesa: Jurnal Ilmiah Matematika*. 3 (1): 1-6.
- Ramadhan, R. F., Montesqirit., dan Marlinda, Y. 2020. Produksi Enzim Selulase Termostabil Dari Bakteri NG2 Menggunakan Berbagai Sumber Selulosa Asal Limbah Pertanian Dan Perkebunan. *JITP*. 8(2) : 64-72.
- Rangkuti, E. E., Wiyono, S., dan Widodo. 2017. Identifikasi *Colletotrichum* spp. Asal Tanaman Pepaya. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 13 (5) : 175 – 183.
- Ray, A. K., A. Bairagi, K. S. Ghosh., dan S. K. Sen. 2007. Optimization of fermentation conditions for cellulose production by *Bacillus subtilis* CY5 and *Bacillus circulans* TP3 isolated from fish gut. *Acta Ichthyol. Piscat.* 37(1): 47–53.
- Rizkiana, V. 2021. *Aktivitas Enzim Selulase Fungi dari Serasah Akasia (Acacia mangium Willd.)*. Skripsi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya. Tidak dipublikasikan.
- Rohmah, H. F., Setyaningsih, R., Pangastuti, A., dan Sari, S. L. 2019. Optimasi produksi selulase dari fungi selulolitik *Thielaviopsis ethacetica* SLL10

- yang diisolasi dari serasah daun salak (*Salacca edulis*). *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon.* 5(2) : 150 – 154.
- Rohmi, Fikri, Z., Pujasari, N. K. 2019. Ubi Jalar Putih (*Ipomea batatas* L.) Media Alternatif Pertumbuhan *Aspergillus niger*. *Jurnal Kesehatan Prima.* 13 (2) : 143 – 150.
- Roosheroe, I. G., Jamsuridzal, W., Oetari, A., dan Sjamsuridzal, W. 2014. *Mikologi : Dasar dan Terapan.* Jakarta : Yayasan Pustaka Obor Indonesia.
- Sari, R. F. 2010. Optimasi Aktivitas Selulase Ekstraseluler dari Isolat Bakteri RF-10. *Skripsi.* Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Saropah, A., Jannah, A., dan Maunatin, A. 2012. Kinetika Reaksi Enzimatik Ekstrak Kasar Enzim Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. *Alchemy.* 2 (1): 34-45.
- Septiani, A., Wijanarka, dan Rukmi, MG. I., 2017. Produksi Enzim Selulase Dari Bakteri *Serratia marcescens* KE-B6 Dengan Penambahan Sumber Karbon, Nitrogen dan Kalsium Pada Medium Produksi. *Bioma.* 19 (2) : 159 – 163.
- Sholeha, R., dan Agustini, R. 2021. Lipase Biji-Bijian dan Karakteristiknya. *UNESA Journal of Chemistry.* 10 (2) : 168 – 183.
- Shubha, J., dan Srinivas, C. 2021. Optimization of Culture Parameters for Production of Carboxymethyl Cellulase from *Colletotrichum gloeosporioides*, An Orchid Endophytic Fungus. *Journal of Cytology and Genetics.* 22 (1) : 56 – 61.
- Singh, A., Bajar, S., Devi, A., dan Bishnoi, N.A. 2021. Adding Value Agro-industrial Waste For Cellulase and Xylanase Production Via Solid-state Bioconversion. *Biomass Conversion and Biorefinery.* 1(1) : 1 – 10.
- Sood, S., Bhat, S., Shinghai, R., dan A. Kumar. 2011. Upstream Processing Inoculum Preparation in: Murray Moo-Young (ed.), *Comprehensive Biotechnology*, second edition. *Elsivier.* 2: 151-164.
- Sopandi, T. S. 2021. *Mikologi Dasar dan Aplikasi.* Yogyakarta : Penerbit Andi.
- Srivastava, N., Srivastava M, Manikanta A, Singh P, Ramteke PW, Mishra PK, Malhotra BD. 2017. Production and optimization of physicochemical parameters of cellulase using untreated orange waste by newly isolated *Emericella variecolor* NS. *Appl Biochem Biotechnol* 183 (2): 601-612.

- Sudirga, S. K. 2016. Isolasi dan Identifikasi Jamur *Colletotrichum* spp. Isolat PCS Penyebab Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai Besar (*Capsicum annum* L.) di Bali. *Jurnal Metamorfosa*. 3 (1) : 23 – 30.
- Sunaryonto, R., Diana N., Asep R., Siti N. dan Khaswar S. 2018. Optimasi Media Kultivasi Senyawa Aktif *Penicillium lagena* sebagai Antifungi Patogen *Phellinus lamaoensis* dengan Menggunakan Respon Surface Methodology. Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal 2018, Palembang.
- Sunaryanto, R., dan Handayani, B. 2015. Penentuan Kombinas Medium Terbaik Galaktosa dan Sumber Nitrogen pada Proses Produksi Etanol. *Jurnal Biosains Indonesia*. 2 (1) : 20 – 26.
- Talantan, V. M., Marina, Lambui, O., dan Suwastika, I. N. 2018. Uji Aktivitas Selulase dari Jamur Selulolitik Asal Tanah Danau Klimpa'a Sulawesi Tengah. *Natural Science: Journal of Science and Technology*. 7 (3) : 323 – 333.
- Taurisia, P. P., Probiorini, M. W., dan Nuhantiri, I. 2015. Pengaruh Media Terhadap Pertumbuhan dan Biomassa Cendawan *Alternaria alternata* (Fires) Keissler. *Jurnal Biologi*. 19 (1) : 30 – 33.
- Trejo-Lopez, J. A., Rangel-Vargaz, E., Gomez- Aldapa, C. A., Villagomez, Ibarra, J. R., Falfan-Cortes, R., Acevedo-Sandoval, O. A., dan Castro-Rosas, J. 2022. Isolation and Molecular Identification of Serratia Strains Producing Chitinases, Glucanases, Cellulases, and Prodigiosin and Determination of Their Antifungal Effect against *Colletotrichum siamense* and *Alternaria alternata* In Vitro and on Mango Fruit. *International Journal of Plant Biology*. 13 : 281 – 297.
- Trihaditia, R. 2015. Penentuan Formulasi Optimum pada Pembuatan Minuman Fungsional Rambut Jagung dengan Penambahan Madu dan Jeruk Nipis Menggunakan Metode RSM (*Response Surface Method*). Tesis. Fakultas Teknologi Pangan Universitas Pasundan. Bandung.
- Waites, M. J., Morgan, N. L., Rockey, J. S., dan Higton, G. 2001. *Industrial Microbiology An Introduction*. United States : Blackwell Science.
- Wardani, R. Y., dan Agustini, R. 2017. Pengaruh Konsentrasi Yeast Hydrolysate Enzimatic (YHE) Sebagai Suplemen Media Kultur untuk Pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus*. *UNESA Journal of Chemistry*. 6 (1) : 25 – 31.