

Optimization of Andalas Endophytic Fungi Fermentation Conditions (*Morus macroura* Miq.) Isolate CEB 6 to Produce Antibacterial Compounds

Optimasi Kondisi Fermentasi Cendawan Endofit Andalas (*Morus macroura* Miq.) Isolasi CEB 6 untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri

Putri Yolanda ^{1*}, Dezi Handayani ^{1*}

^{1*} Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Corresponding author: ptrylnd18@gmail.com

Abstract

Fermentation optimization is an effort to obtain optimum fermentation conditions. The factors that influence the success of the fermentation process in producing secondary metabolites are temperature, pH, and the fermentation medium. The fermentation factors create the optimum conditions for the production of secondary metabolites by microorganisms. isolate CEB 6 isolated from the stem of the andalas plant was an isolate that had the ability to inhibit *E.coli* and *S.aureus*. CEB 6 is one of the isolates that has a large enough potential. This study aims to determine the optimum fermentation time, the optimum pH of fermentation and the optimum temperature of fermentation. This research is a descriptive study, which was conducted from September 2020 - April 2021 at the Research Laboratory of the Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, UNP. There were CEB 6 isolates with 3 observation groups, namely the optimum fermentation time, the optimum fermentation pH and the optimum fermentation temperature. The results showed that the optimization of the fermentation time of the endophytic fungi *M. macroura* Miq. CEB 6 isolates on the 6th day with the highest average inhibition zone against *S. aureus* that is 9,9 mm and the highest average inhibition zone against *E. coli* is 8,8 mm. In the optimization of optimal fermentation pH at pH 8 with an average of the highest inhibition zone against *S. aureus* that is 7,4 mm and an average of the highest inhibition zone against *E. coli* is 7,5 mm. Meanwhile, the optimal fermentation temperature optimization in an air-conditioned room (26°C) with the highest average inhibition zone against *S. aureus* is 7,0 mm and the highest average inhibition zone against *E. coli* is 8,1 mm.

Key words: *Optimum fermentation, antimicrobial compounds, endophytic fungi*

Abstrak

Optimasi fermentasi merupakan suatu upaya untuk mendapatkan kondisi fermentasi yang optimum. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan pada proses fermentasi dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder adalah suhu, pH, dan medium fermentasi. Faktor-faktor fermentasi menciptakan kondisi optimum untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder oleh mikroorganisme. Isolasi CEB 6 diisolasi dari batang tumbuhan Andalas merupakan isolasi yang memiliki kemampuan menghambat *E. coli* dan *S. aureus*. Isolasi CEB 6 merupakan salah satu isolasi yang memiliki potensi yang cukup besar. Penelitian ini bertujuan untuk melihat waktu optimum fermentasi, pH optimum fermentasi dan suhu optimum fermentasi. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, yang dilaksanakan dari bulan September 2020 - April 2021 di Laboratorium Penelitian Jurusan Biologi FMIPA UNP. Terdapat isolasi CEB 6 dengan 3 kelompok pengamatan yaitu waktu optimum fermentasi, pH optimum fermentasi dan suhu optimum fermentasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa optimasi waktu fermentasi cendawan endofit *M. macroura* Miq. isolasi CEB 6 pada hari ke-6 dengan rata-rata zona hambat tertinggi terhadap *S. aureus* yaitu 9,9 mm dan rata-rata zona hambat tertinggi terhadap *E. coli* yaitu 8,8 mm. Pada optimasi pH fermentasi optimal pada pH 8 dengan rata-rata zona

hambat tertinggi terhadap *S. aureus* yaitu 7,4 mm dan rata-rata zona hambat tertinggi terhadap *E. coli* yaitu 7,5 mm. Sedangkan, optimasi suhu fermentasi optimal pada suhu (26°C) dengan rata-rata zona hambat tertinggi terhadap *S. aureus* yaitu 7,0 mm dan rata-rata zona hambat tertinggi terhadap *E. coli* yaitu 8,1 mm.

Kata kunci: *Optimasi fermentasi, aktivitas antibakteri, jamur endofit*

Pendahuluan

Mikroorganisme yang paling banyak ditemukan yaitu jamur dan mikroorganisme ini mempunyai hubungan simbiosis mutualisme, yaitu sebuah bentuk hubungan yang saling menguntungkan. Mikroba endofit dapat memperoleh nutrisi untuk melengkapi siklus hidupnya dari tumbuhan inangnya, sebaliknya tumbuhan inang memperoleh proteksi terhadap patogen tumbuhan dari senyawa yang dihasilkan mikroba endofit (Prihatiningtyas *et al*, 2007). Umumnya fungi endofit menghasilkan senyawa bioaktif yang berbeda dengan inangnya namun khasiatnya sama, bahkan aktivitas yang dihasilkan terkadang lebih besar dari inangnya (Strobel *et al*, 2004). Cendawan endofit dilaporkan memicu pertumbuhan tanaman sehingga meningkatkan hasil tanam. Metabolit yang dihasilkan merupakan senyawa hasil sintesis untuk mempertahankan eksistensinya dalam berinteraksi dengan lingkungan. Metabolit cendawan endofit yaitu senyawa antibiotik yang mampu melindungi tanaman dari serangan mikroorganisme patogen (Wang *et al*, 2002).

Tumbuhan Andalus (*Morus macroura* Miq.) merupakan salah satu tumbuhan asli Sumatera Barat. Tumbuhan andalus memiliki kualitas kayu yang sangat baik untuk bahan perabotan (Dahlan, 1994). Semenjak diketahui bahwa mikroba endofit (termasuk cendawan endofit) memiliki kemampuan menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya, maka penggunaan biomassa tumbuhan andalus sebagai sumber senyawa antibakteri dapat digantikan oleh mikroba endofit tersebut. Beberapa peneliti telah berhasil mengisolasi mikroba endofit dari tumbuhan Andalus. Yandila *et al.*, (2018), berhasil mengisolasi 16 isolat bakteri endofit dari akar tumbuhan Andalus. Afifah *et al.*, (2018) mendapatkan 11 isolat bakteri endofit dari batang tumbuhan andalus. Bakteri ini mempunyai kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Sementara itu Handayani *et al.*, (2020) melaporkan bahwa 7 isolat cendawan endofit yang diisolasi dari batang tumbuhan Andalus memiliki kemampuan menghambat *E. coli* dan *S. aureus*. Isolat CEB 6 merupakan salah satu isolat yang memiliki potensi yang cukup besar karena mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan rata-rata zona hambat sebesar 5,29 cm dan zona hambat terhadap *S. aureus* adalah sebesar 4,23 cm.

Cendawan endofit CEB 6 ini merupakan cendawan yang potensial untuk digunakan dalam produksi senyawa antibakteri melalui proses fermentasi. Proses produksi senyawa antibakteri melalui fermentasi membutuhkan berbagai kondisi optimum agar produk yang dihasilkan maksimal. Kondisi optimum fermentasi dipengaruhi oleh faktor eksternal dan internal. Kondisi lingkungan yang mempengaruhi diantaranya adalah suhu, pH, konsentrasi starter, komposisi medium, dan waktu fermentasi merupakan faktor eksternal yang juga berperan dalam menentukan kondisi optimum proses fermentasi (Hidayat *et al.*, 2007). Sedangkan faktor internal yang mempengaruhi proses fermentasi yaitu jenis bakteri. Perbedaan jenis bakteri akan mempengaruhi jalur metabolisme dan jenis senyawa aktif yang dihasilkan (Sulistyaningrum, 2008). Kondisi optimum fermentasi isolat CEB 6 untuk menghasilkan senyawa antimikroba belum diketahui. Waktu fermentasi, suhu dan pH merupakan kondisi awal fermentasi yang perlu segera diketahui sebelum melangkah ke tahap selanjutnya. Oleh karena itu peneliti tertarik melakukan penelitian dengan judul Optimasi Kondisi Fermentasi Cendawan Endofit Andalus (*M. macroura* Miq.) Isolat CEB 6 untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri.

Metode

Peremajaan Isolat CEB 6

Sampel cendawan endofit yang digunakan adalah isolat CEB 6 yang diisolasi dari batang tumbuhan Andalus (Koleksi Dezi Handayani). Sebanyak 1 potong miselium CEB 6 dari koleksi diletakkan pada medium PDA dalam *petridish*. Selanjutnya cendawan diinkubasi pada suhu ruang untuk keperluan selanjutnya.

Peremajaan Bakteri Uji

Peremajaan mikroba uji dilakukan dengan cara menginokulasi 1 ose biakan murni bakteri *E. coli* dan *S. aureus* ke dalam medium NA miring untuk bakteri. Kultur bakteri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Optimasi Waktu Fermentasi

Sebanyak 3 potong miselium cendawan endofit isolat CEB 6 (diameter 0,5 cm) dimasukkan ke dalam 50 mL Kaldu Dextrosa Kentang dalam erlenmeyer 100 mL (duplo). Kultur diinkubasi di suhu ruang di atas shaker dengan kecepatan 150 rpm. Sebanyak 5 mL kultur diambil setiap hari sampai hari ke-7 setelah inkubasi. Masing-masing kultur yang diambil disaring menggunakan kertas saring steril untuk memisahkan miselium dengan larutan. Larutan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar senyawa antimikroba. Sebanyak 20 μ L ekstrak diteteskan pada kertas cakram. Selanjutnya, kertas cakram diletakkan di atas medium NA yang sebelumnya sudah diinokulasi dengan bakteri uji (duplo). Cawan petri diinkubasi pada suhu ruang dengan kondisi cawan petri dibalikkan selama 24 jam. Zona hambat yang dihasilkan setiap waktu fermentasi diukur menggunakan jangka sorong. Diameter zona bening disekitar cakram diukur dari beberapa sisi yang berbeda.

Optimasi pH Fermentasi

Sebanyak 3 potong miselium cendawan endofit isolat CEB 6 (diameter 0,5 cm) dimasukkan ke dalam 25 mL Kaldu Dextrosa Kentang dalam erlenmeyer 100 mL dengan uji duplo pada pH yang berbeda (5, 6, 7, dan 8). Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan sedikit demi sedikit HCl/NaOH sampai pH yang diinginkan. Kultur diinkubasi di suhu ruang di atas shaker dengan kecepatan 150 rpm. Kultur pada masing-masing pH dipanen pada hari optimum sesuai pekerjaan sebelumnya. Masing-masing kultur yang diambil disaring menggunakan kertas saring steril untuk memisahkan miselium dengan larutan. Larutan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar senyawa antimikroba. Sebanyak 20 μ L ekstrak diteteskan pada kertas cakram. Selanjutnya, kertas cakram diletakkan di atas medium NA yang sebelumnya sudah diinokulasi dengan bakteri uji (duplo). Cawan petri diinkubasi pada suhu ruang dengan kondisi cawan petri dibalikkan selama 24 jam. Zona hambat yang dihasilkan setiap pH fermentasi diukur menggunakan jangka sorong. Diameter zona bening disekitar cakram diukur dari beberapa sisi yang berbeda.

Optimasi Suhu Fermentasi

Sebanyak 3 potong miselium cendawan endofit isolat CEB 6 (diameter 0,5 cm) dimasukkan ke dalam 25 mL Kaldu Dextrosa Kentang (pH medium disesuaikan dengan pH optimum yang telah didapatkan) dalam erlenmeyer 100 mL dengan uji duplo dengan suhu ruang dan suhu 26°C dalam shaker inkubator. Kultur diinkubasi di atas shaker dengan kecepatan 150 rpm. Kultur dipanen sesuai waktu optimum kemudian disaring menggunakan kertas saring steril untuk memisahkan miselium dengan larutan. Larutan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar senyawa antimikroba. Sebanyak 20 μ L ekstrak diteteskan pada kertas cakram. Selanjutnya, kertas cakram diletakkan di atas medium NA yang sebelumnya sudah diinokulasi dengan bakteri uji. Cawan petri diinkubasi pada suhu ruang dengan kondisi cawan petri dibalikkan selama 24 jam. Zona hambat yang dihasilkan setiap suhu fermentasi diukur menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat disekitar cakram diukur dari beberapa sisi yang berbeda.

Hasil dan Pembahasan

Fermentasi merupakan suatu proses perubahan komponen kimiawi pada suatu substrat organik akibat aktivitas enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme (Suprihatin *et al.*, 2010). Pada optimasi kondisi fermentasi cendawan endofit (*M. macroua* Miq.) dengan menentukan waktu optimum fermentasi, pH optimum fermentasi dan suhu optimum fermentasi untuk menghasilkan senyawa antibakteri. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa, Pada hari 1-7 melakukan fermentasi, isolat CEB 6 mampu menghambat *E. coli* dan *S. aureus*.

Tabel 1. Hasil Optimasi Waktu Fermentasi Cendawan Endofit (*M. macroua* Miq.) untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri

Hari ke-	Rata-Rata Zona Hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	8,1	8,4
2	-	8,1
3	-	8,1
4	8,8	8,6
5	-	8,7
6	9,9	8,8
7	9,3	8,3

Ket. (-) = Tidak terbentuk zona hambat.

Pada optimasi waktu fermentasi menghasilkan waktu terbaik pada hari ke-6 dengan rata-rata zona hambat tertinggi terhadap *S. aureus* yaitu 9,9 mm dan rata-rata zona hambat tertinggi terhadap *E. coli* yaitu 8,8 mm. Sedangkan, rata-rata zona hambat terendah terhadap *S. aureus* yaitu 8,1 mm dan rata-rata zona hambat terendah terhadap *E. coli* yaitu 8,4 mm pada hari ke-1. Menurut Perez *et al.*, (2002) menyatakan

bahwa setiap mikrofungi memiliki kemampuan yang berbeda dalam mendekomposisi substrat. Semakin lama masa inkubasi, maka semakin kompleks senyawa-senyawa yang diurai oleh mikroba menjadi senyawa yang lebih sederhana yang dapat terakumulasi menjadi energi.

Batang tumbuhan Andalas mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, morusin, fenol dan sebagainya. Flavonoid bekerja dengan menghambat pembelahan atau proliferasi sel bakteri. Senyawa ini mengikat protein pada mikrotubulus dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis sehingga menimbulkan penghambatan pertumbuhan bakteri. Senyawa fenol sebagai antibakteri adalah dengan mendenaturasi ikatan protein pada membran sel sehingga membran sel lisis dan memungkinkan fenol menembus ke dalam sitoplasma yang menyebabkan bakteri tidak berkembang (Haerazi *et al.*, 2016).

Optimasi pH menggunakan pH (5, 6, 7, dan 8) dengan melakukan penambahan HCL/NaOH sedikit demi sedikit sesuai pH yang diinginkan. Pada optimasi pH fermentasi menghasilkan pH terbaik pada pH 8 dengan rata-rata zona hambat tertinggi terhadap *S. aureus* yaitu 7,4 mm dan rata-rata zona hambat tertinggi terhadap *E. coli* yaitu 7,5 mm. Sedangkan, rata-rata zona hambat terendah terhadap *S. aureus* yaitu 0,66 cm dan rata-rata zona hambat terendah terhadap *E. coli* yaitu 0,72cm pada pH 5 dengan waktu shaker selama 6 hari.

Tabel 2. Hasil Optimasi pH Fermentasi Cendawan Endofit (*M. macroura* Miq.) untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri

pH	Rata-Rata Zona Hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
5	6,6	7,2
6	6,9	6,7
7	-	7,3
8	7,4	7,5

Ket. (-) = Tidak terbentuk zona hambat.

Optimasi suhu menggunakan suhu ruang biasa (28°C - 30°C) dan suhu (26°C). Optimasi suhu fermentasi dilakukan dengan medium kaldu dextrose kentang dengan pH medium 8 dengan waktu shaker selama 6 hari. Pada optimasi suhu fermentasi menghasilkan suhu terbaik pada suhu (26°C) dengan rata-rata zona hambat tertinggi terhadap *S. aureus* yaitu 7,0 mm dan rata-rata zona hambat tertinggi terhadap *E. coli* yaitu 8,1 mm.

Tabel 4. Hasil Optimasi Suhu Fermentasi Cendawan Endofit (*M. macroura* Miq.) untuk Menghasilkan Senyawa Antibakteri

Suhu	Rata-Rata Zona Hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Suhu (28°C - 30°C)	-	7,6
Suhu (26°C)	7,0	8,1

Ket. (-) = Tidak terbentuk zona hambat.

Pada tiga parameter pengamatan, medium dextrose kentang optimal tumbuh terhadap *E. coli* daripada *S. aureus*, hal ini disebabkan ada beberapa komponen medium fermentasi yang tidak terdapat pada medium dextrose kentang tersebut. Hal tersebut didukung oleh penelitian Zambare *et al.*, (2010) bahwa adanya penggunaan sumber nitrogen dalam bentuk pepton pada medium fermentasi jamur aspergillus. Dalam penelitian tersebut pepton dipilih sebagai sumber nitrogen terbaik. Hal ini sebanding dengan data dari literatur bahwa golongan jamur aspergillus cocok tumbuh pada medium yang mengandung pepton (Khrisna *et al.*, 2010). Penelitian Gallardo *et al.*, (2004) juga memproduksi jenis senyawa antijamur *tenuazonic acid* dengan menggunakan pepton di dalam komposisi mediumnya.

Penelitian sebelumnya, Handayani *et al.*, (2020) melaporkan bahwa 7 isolat cendawan endofit yang diisolasi dari batang tumbuhan Andalas memiliki kemampuan menghambat *E. coli* dan *S. aureus*. Isolat CEB 6 merupakan salah satu isolat yang memiliki potensi yang cukup besar karena mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan rata-rata zona hambat sebesar 5,29 cm dan zona hambat terhadap *S. aureus* adalah sebesar 4,23 cm. Menurut Ratu *et al.*, (2011) menyatakan bahwa mikroorganisme yang ditempatkan pada lingkungan baru memerlukan waktu untuk terbiasa (adaptasi) pada lingkungan tersebut sebelum sel-selnya memperbanyak diri, maka jamur tersebut memerlukan waktu untuk membentuk enzim baru guna

memecah substrat yang baru tersebut. Selama 48 jam menunjukkan peningkatan jumlah jamur yang disebabkan jamur mulai tumbuh setelah menyesuaikan diri. Kandungan nutrisi dan pH pada substrat sangat mempengaruhi proses pertumbuhan jamur.

Menurut Brooks *et al.*, (2008) faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan cendawan dalam menghasilkan senyawa antibakteri adalah keadaan lingkungan yaitu, fisik (pengaruh suhu), kimia (kebutuhan zat-zat makanan dan pengaruh zat racun) dan biologi (pengaruh pertumbuhan spesies mikroba lainnya). Pengaruh dari keadaan lingkungan dapat berupa suhu dan pH dalam suasana asam. Menurut Suprihatin *et al.*, (2010), khamir menyukai pH 4-5 dan tumbuh pada kisaran pH 2,5-8,5, sedangkan kapang mempunyai pH optimum antara 5-7 dan dapat tumbuh pada kisaran pH 3-8,5. Nilai pH untuk pertumbuhan mikroba mempunyai hubungan dengan suhu pertumbuhannya, jika suhu pertumbuhannya naik maka pH optimum untuk pertumbuhannya juga naik.

Daftar Pustaka

- Afifah, N. (2018). Isolasi Bakteri Endofit dari Batang Tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.) dan Uji Potensinya Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. *Skripsi*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., and Morse, S. A. (2008), Jawetz, Melnick and Adelberg. *Mikrobiologi Kedokteran (terj.)*. Jakarta: EGC.
- Dahlan, S. (1994). Mengenal *Morus macroura* Miq. Maskot Flora Sumatera Barat. *Jurnal Penelitian Andalas*. 4(15): 17-20.
- Gallardo, G.L., Pena, N.I., Chacana, P., Terzolo, H.R. dan Cabrera, G.M. (2004). L-Tenuazonic acid, a new inhibitor of *Paenibacillus larvae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 20: 609-612.
- Haerazi, A., Dwi S. D. J., dan Yayuk A. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kencur (*Kaempferia galangal* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus viridans*. Mataram : *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi "Bioscientist"* Vol. 2 No. 1 Hal. 75- 82.
- Handayani, D., Putri, D. H., Farma, S. A., Annisa, N., Oktaviani, M., dan Rahwani. (2020). Isolation of Endophytic Fungi from Stem of Andaleh (*Morus macroura* Miq.) That Produce Antimicrobial Compound. *Advances in Biological Sciences Research*. Volume 10. Hal 43-45.
- Hidayat, N., dan Suhartini, S. (2007). *Mikrobiologi Industri*. Malang : Departemen Tek. Industri Pertanian FTP Univ. Brawijaya.
- Khrisna, C.M., Sasidhar, P. dan Suresh, C. (2010). Production of extracellular amylase from agricultural residues by a newly isolated *Aspergillus* species in solid state fermentation. *African Journal of Biotechnology*. 9: 5162-5169.
- Perez, L. M., Munos, D. J., Rubia, T., Martinez, J. 2002. Biodegradation and Biological Treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin. *J Int Microbiol*. 5: 53-63.
- Prihatiningtias, W. (2007). Prospek Mikroba Endofit sebagai Sumber Senyawa Bioaktif. *Majalah Obat Tradisional*, 12(42).
- Ratu, S., N.A. Fauzana dan P.N. Fauziah. 2011. Pembuatan Starter Inokulum Jamur *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oligosporus* dan *Trichoderma viridae* untuk Bibit Fermentasi Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana* Colla). *Prosiding Seminar Nasional Pemanfaatan Sumber Daya Genetik Lokal Mendukung Industri Perbenihan Indonesia*, Program Studi Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U. and Harper, J. (2004). Natural Products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products*. 67. 2. 257-268
- Sulistyaningrum, S. L. (2008). Optimasi Fermentasi Asam Kojat oleh Galur Mutan *Aspergillus flavus* NTGA7A4UVE10. *Skripsi*. Depok : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Suprihatin, (2010). *Teknologi Fermentasi*. Surabaya: Unesa.
- Wang SL, Yen YH, Tsiao WJ, Chang WT, Wang CL. 2002. Production of antimicrobial compounds by *Monascus purpureus* CCRC31499 using shrimp and crab shell powder as a carbon source. *Enzyme Microb Technol*. 31:337-344. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00135-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00135-7)
- Yandila, S dan Putri, D. H. (2018). Isolasi Bakteri Endofit dari Akar Tumbuhan Andalas (*Morus macroura* Miq.) dan Uji Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. [*Skripsi*]. Padang : Universitas Negeri Padang.
- Zambare, V. (2010). Solid state fermentation of *Aspergillus oryzae* for glucoamylase production on agro residues. *International Journal of Life Sciences*. 3: 16-25.