

# Prosiding

## SEMINAR NASIONAL MIKOLOGI dan PEMBENTUKAN PERHIMPUNAN MIKOLOGI INDONESIA

Editor :

Dr. Nuniek Ina Ratnaningtyas, M.S.

Drs. Aris Mumpuni, M.Phil.

Drs. Uki Dwiputranto, M.Sc.

Dra. Nuraeni Ekowati, M.S.

Juni Safitri, S.Si., M.Si.

Dra. Gratiana E W, M.rep.Sc.,Ph.D.

Dr. Agus Nuryanto, S.Si., M.Si.

Ratna Stia Dewi, S.Si., M.P.

Drs. Untung Susilo, M.S

*"Biodiversitas dan Bioteknologi Sumberdaya  
Hayati Fungi"*



Purwokerto, 15 – 16 Mei 2012

**FAKULTAS BIOLOGI  
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDERMAN**

Jl. Dr. Suparno No. 63 Grendeng

Purwokerto 53122

Telp. (0281) 631700

# Prosiding

## SEMINAR NASIONAL MIKOLOGI *"Biodiversitas dan Bioteknologi Sumberdaya Hayati Fungi"*

Editor :

Dr. Nuniek Ina Ratnaningtyas, M.S.

Drs. Aris Mumpuni, M.Phil.

Drs. Uki Dwiputranto, M.Sc.

Dra. Nuraeni Ekowati, M.S.

Juni Safitri, S.Si., M.Si.

Dra. Gratiana E W, M.rep.Sc.,Ph.D.

Dr. Agus Nuryanto, S.Si., M.Si.

Ratna Stia Dewi, S.Si., M.P.

Drs. Untung Susilo, M.S



FAKULTAS BIOLOGI  
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDERMAN  
Jl. Dr. Suparno No. 63 Grendeng  
Purwokerto 53122  
Telp. (0281) 631700  
Fax. (0281) 631700

**Katalog Dalam Terbitan (KDT) Perpustakaan Nasional  
Jakarta**

**PROSIDING**  
**SEMINAR NASIONAL MIKOLOGI**  
*Biodeversitas dan Bioteknologi Sumberdaya  
Hayati Fungi*

Editor :

Dr. Nuniek Ina Ratnaningtyas, M.S.

Drs. Aris Mumpuni, M.Phil.

Drs. Uki Dwiputranto, M.Sc.

Dra. Nuraeni Ekowati, M.S.

Juni Safitri, S.Si., M.Si.

Dra. Gratiana E W, M.rep.Sc., Ph.D.

Dr. Agus Nuryanto, S.Si., M.Si.

Ratna Stia Dewi, S.Si., M.P.

Drs. Untung Susilo, M.S

ISBN : 978-979-16109-5-7

Diterbitkan pertama kali : Agustus 2012

Oleh :

FAKULTAS BIOLOGI

UNIVERSITAS JENDERAL SOEDERMAN

Jl. Dr. Suparno No. 63 Grendeng

Purwokerto 53122

Telp. (0281) 631700

Fax. (0281) 631700

Dicetak di Percetakan Kanisius, Yogyakarta  
Isi di luar tanggung jawab percetakan

## KATA PENGANTAR

Assalamu'alaykumwrwb.,

Segala puji hanya milik Allah SWT, Tuhan semesta alam, atas nikmat dan karuniaNYA yang terlimpah, sehingga prosiding Seminar Nasional Mikologi yang telah terselenggara pada tanggal 15-16 Mei 2012 telah tersusun. Salawat serta salam tercurah untuk Nabi Muhammad, SAW. Salam sejahtera untuk kita semua.

Seminar nasional semacam ini merupakan kegiatan reguler yang diselenggarakan setiap tahun oleh Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto; pada kali ini yang mendapat tugas adalah Laboratorium Mikologi-Fitopatologi, sehingga tema yang diambil khusus tentang jamur (*fungi*), yaitu "Biodiversitas dan Bioteknologi Sumber daya Hayati Fungi". Seminar ini diharapkan menjadi ajang untuk saling tukar informasi antarpeleliti dalam bidang Mikologi.

Jamur sebagai organism dalam dunia tersendiri, terpisah dari dunia hewan dan tumbuhan, sudah selayaknya mendapat perhatian khusus dari para mikologiwan. Sehubungan dengan itu pula maka bersamaan dengan seminar ini telah terbentuk Perhimpunan Mikologi Indonesia, disingkat Mikoina pada tanggal 16 Mei 2012. Pembentukan perhimpunan ini dianggap sangat penting guna mewadahi para peneliti, praktisi dan pemerhati jamur, sehingga aktivitas jamur yang menguntungkan dan merugikan dapat tergali lebih mendalam.

Seminar yang terbagi dalam 4 (empat) bidang Mikologi, yakni kesehatan, pangan, pertanian dan ekologi fungi ini diikuti oleh 88 pemakalah, 88 peserta yang datang dari berbagai daerah di Indonesia berkontribusi dalam seminar ini. Seminar ini diharapkan dapat digunakan sebagai titik awal untuk memacu lebih bergairahnya meneliti jamur dari segala aspek, untuk kemudian didiseminasikan kepada masyarakat melalui pendidikan dan pengabdian masyarakat serta bekerjasama dengan pemerintah dan swasta. Pada gilirannya, diharapkan gaung biodiversitas dan bioteknologi sumberdaya hayati jamur di Indonesia tidak hanya bergema secara nasional, namun juga internasional.

Meskipun penyusunan prosiding telah direncanakan selesai dalam waktu yang tidak terlalu lama yaitu satu bulan, namun ada saja kendala, sehingga tidak dapat tepat waktu, sesuai target. Atas kekurangan tersebut kami mohon maaf, dan permohonan maaf juga disampaikan untuk ketidaksempurnaan penyusunan, kiranya dapat menjadikan maklum adanya. Atas maaf yang diberikan serta kritik dan saran yang membangun untuk penyempurnaan dalam pelaksanaan selanjutnya disampaikan penghargaan dan terimakasih.

Terimakasih juga disampaikan kepada parodonatur, sponsor, dan semua pihak yang telah mendukung terselenggaranya seminar dan terbitnya prosiding ini. Tak lupa kepada Fakultas Biologi Unsoed dan Universitas Jenderal Soedirman yang telah mendukung penuh. Semoga prosiding ini bermanfaat.

Wa'alaykumsalamwrwb,

Purwokerto, 16 Juni 2012  
Ketua Panitia,  
Dr. Nuniek Ina Ratnaningtyas, M.S

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>Kata Pengantar</b> .....	iii
<b>Daftar Isi</b> .....	iv
<b>Makalah “Key Note Speakers” dan Pembicara Sesi Pleno :</b>	
1. Dr. Ir. Yul H. Bahar .....	1
2. Prof. Dr. Ir. S.M. Widyastuti, M.Sc.....	10
3. Dr.Ir.Lisdar I Sudirman .....	19
4. Iman Hidayat Ph.D. ....	28
5. Dr. I Nyoman P. Aryantha.....	36
6. Ir. H. Triyono Untung Priyadi .....	52
<b>Makalah Sesi Paralel :</b>	
1. Tema 1 Ekologi Fungi .....	61
2. Tema 2 Mikologi Pangan .....	142
3. Tema 3 Mikologi Kesehatan .....	248
4. Tema 4 Mikologi Pertanian .....	487
<b>Makalah Poster</b> .....	655

**Makalah Sesi Paralel Tema I : Mikologi Ekologi**

No.	Judul dan Author	Halaman
1.	“Eksplorasi dan Identifikasi Khamir-Khamir dari Tumbuhan <i>Tectona grandis</i> “ ( <b>Dalia Sukmawati, Yoswita Rustam, Muzajjanah, Ernawati Santoso, Suci, and Yudapati</b> )	61
2.	“Potensi Mikolarvasida dari Kapang Saprofitik Pada Sampel Seresah Daun Nipah ( <i>Nypah fruiticans L.</i> ) dan Daun <i>Rhizophora</i> sp. di Kawasan Mangrove Baros, Kabupaten Bantul, Yogyakarta” ( <b>Nur Fathurahman Ridwan, Kurnia Ahmadin, Muhamad Nur Ruwandani dan M. Fajar H</b> )	72
3.	“Fungal symbionts of corals as a sustainable sources of marine natural products” ( <b>Ocky Karna Radjasa</b> )	82
4.	“Pengaruh Bobot Massa limbah medium Tanam jamur <i>Pleurotus ostreatus</i> terhadap daya dekolonisasi limbah batik” ( <b>Romsiyah, Nuniek Ina Ratnaningtyas dan Ratna Stia Dewi</b> )	89
5.	“Fungi of Papua : a preliminary study” ( <b>Supeni Sufaati, Verena Agustini, Suharno</b> )	99
6.	“Pengaruh Media dan Lingkungan Terhadap Pertumbuhan Miselium Jamur Pelapuk Putih Serta Potensinya Sebagai Pendegradasi Lignin Pada Bagas Tebu” ( <b>Vita Taufika Rosyida, Cici Darsih, Satriyo K. Wahono</b> )	106
7.	“Pengaruh Konsentrasi Biosida Terhadap Inhibisi Pertumbuhan Kapang Hasil Isolasi dari Avtur” ( <b>Zulkifliani, Analekta Tiara Perdana dan Nita Noriko</b> )	114
8.	“Kekerabatan <i>Ganoderma</i> sp. Isolat kampus Universitas Gadjah Mada ( <b>Indira Riastiwi, S.M. Widyastuti dan Harjono</b> )	124

**Makalah Sesi Paralel Tema II : Mikologi Pangan**

No.	Judul dan Author	Halaman
1.	“Isolasi dan deteksi Aktivitas Lipase <i>Rhizopus spp.</i> Pada Beberapa Inokulum Tempe” <b>(Ainun Lutfiyanti, Nuniek Ina dan Ratna Stia Dewi)</b>	142
2.	“Isolasi dan Deteksi Amilase <i>Rhizopus spp.</i> Dari beberapa Inokulum Tempe” <b>(Esti Purnawati, Nuniek Ina dan Ratna Stia Dewi)</b>	148
3.	“Ekstraksi Minyak Kelapa Secara Fermentasi Dengan Inokulan <i>Aspergillus oryzae</i> ” <b>(Lestanto Unggul Widodo, Joko Sulisty, Maria hendrati dan Dyah Fitri Kusharyati)</b>	156
4.	“Peran Jamur Dalam Pembiakan Isolat “Imo3” Sebagai Starter Fermentasi Pakan Ternak Kelompok Tani Lereng Slamet” <b>(Nur Lulu Fitriyani, Lestanto Unggul Widodo dan Dyah Fitri Kusharyati)</b>	166
5.	“Studi Komparatif Anggota <i>Aspergillus section flavi</i> Pada Bioproses Kecap Kedelai” <b>(Andri Frediansyah)</b>	175
6.	“Isolasi dan Deteksi Protease <i>Rhizopus spp.</i> Dari Beberapa Inokulum Tempe” <b>(Fitria Dewi Sulistiyono)</b>	184
7.	“Optimasi Produksi Tubuh Buah Jamur Tiram Putih” <b>(I Nyoman P. Aryantha dan Yayan Maryana)</b>	194
8.	“Uji Aktivitas Enzim Lakase, Selulase dan Xilanase pada Masa Pertumbuhan Jamur Tiram ( <i>Pleurotus sp.</i> )” <b>(Iwan Saskiawan dan R. Haryo Bimo S)</b>	202
9.	“Adakah Hubungan Antara Hyphal Growth Unit Filamentous Fungus <i>Acremonium sp.</i> IMI 383068 dengan Tingkat Produksi Glukanase yang Dihasilkan?” <b>(Jayus Sanjaya)</b>	211
10.	“Pendeteksian Jamur Patogen Untuk Uji Kesehatan Benih Simpan Tanaman Pangan” <b>(M. Ace Suhendar)</b>	222
11.	“Analisa Proksimat Tepung Bumbu Penyedap Rasa Alami Berbahan Jamur Tiram ( <i>Pleurotus ostreatus</i> )” <b>(Netty Widyastuti, Donowati Tjokrokusumo, Reni Giarni)</b>	231
12.	“Biodegradasi Aflatoksin B1 oleh <i>Aspergillus oryzae</i> KKB4” <b>(Sardjono, Endang S. Rahayu, Sri Raharjo dan Kapti Rahayu)</b>	239

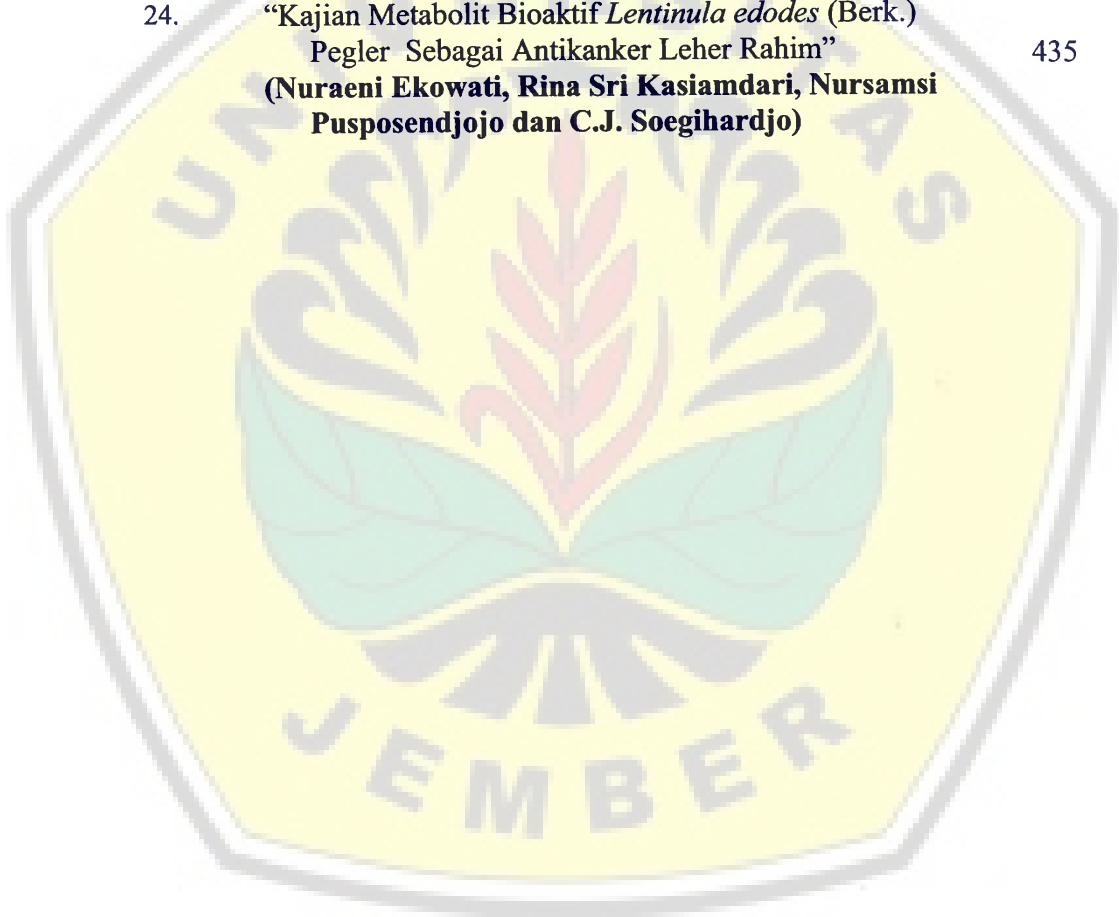
**Makalah Sesi Paralel Tema III : Mikologi Kesehatan**

No.	Judul dan Author	Halaman
1.	<p>“Pembuatan Immunoreagen (Konjugat OTA-HRPO) Untuk Pengembangan Deteksi Okratoksin pada Pakan Ternak secara ELISA”  <b>(Sri Rachmawati dan Hasim Munawar)</b></p>	248
2.	<p>“Tingkat Kontaminasi Aflatoksin Pada Jagung Sebagai Bahan Pakan Ternak”  <b>(Sri Rachmawati dan Hasim Munawar)</b></p>	257
3.	<p>“Efektivitas Sediaan Krim dan Sampo Minyak Atsiri Daun Salam (<i>Syzygium polianthum Wight.</i>) sebagai Antijamur <i>Microsporum canis</i> dan <i>Epidermaphyton floccosum</i>”  <b>(Tri Saptari Haryani, Erni Rustriani dan Jane Andriani)</b></p>	264
4.	<p>“Penapisan Senyawa antitumor ekstrak kasar etanol miselium <i>Grifola frondosa</i> yang ditumbuhkan pada medium berbeda dengan metode brine shrimp lethality test”  <b>(Afifah Nur Shobah, Nuniek Ina Ratnaningtyas dan Slamet Priyanto)</b></p>	273
5.	<p>“Beberapa Jenis cendawan Entomopatogen yang terdapat pada <i>Musca domestica</i> di berbagai tempat”  <b>(Christina Desy Ekoresti, Imam Widhiono MZ dan Eddy Tri Sucianto)</b></p>	282
6.	<p>“Karakteristik Biokimia Jamur Lagenidiales, <i>Lagenidium callinectes</i> yang Menginfeksi Larva Ikan Klon, <i>Amphiprion ocellaris</i> dan <i>A. percula</i> di Hatchery”  <b>(Des Roza)</b></p>	291
7.	<p>“Infeksi Jamur Ordo Lagenidiales, <i>Lagenidium callinectes</i> pada Ikan Klon <i>Amphiprion ocellaris</i> di Hatchery dan penanggulangannya”  <b>(Des Roza, Fris Johnny dan Ketut Maha Setiawati)</b></p>	299
8.	<p>“Respons <i>Aquilaria malaccensis</i> terhadap Isolat <i>Acremonium sp</i> asal Sorong dalam Membentuk Senyawa Terpenoid dalam kultur ganda in vitro”  <b>(Dewi Rahmawati, Anidah dan Ulfah J. Siregar)</b></p>	306
9.	<p>“Kandungan Proksimat dan Pengaruh Pemanasan Terhadap Hasil Analisa Kandungan Beta Glukan pada Nugget Jamur Tiram (<i>Pleurotus Ostreatus</i>)”  <b>(Donowati Tjokrokusumo, Netty Widyastuti, Reni Giarni)</b></p>	315



10. "Kandungan Vitamin C dan Beta-Glukan pada Minuman kesehatan Berbahan Dasar Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)" 321  
**(Donowati Tjokrokusumo, Netty Widyastuti, Reni Giarni, Henky Isnawan)**
11. "Review : Efektivitas Detoksifikasi Mikotoksin Dengan Bakteri Asam Laktat Dan Khamir" 330  
**(Ema Damayanti dan Ahmad Sofyan)**
12. "Kasus kejadian penyakit Infeksi jamur *Lagenidium* pada larva tiram Mutiara (*Pinctada maxima*)" 337  
**(Fris Johnny dan Des Roza)**
13. "Kejadian Dermatomycosis pada Pasien Kucing di Bagian Ilmu Penyakit dalam Fakultas Kedokteran hewan UGM Tahun 2010-2011" 343  
**(Hary Purnamaningsih dan Soedarmanto Indarjulianto)**
14. "Potensi Antibakteri dan antikanker *Ganoderma lucidum* (Fr) Karst Isolat Asal Cianjur Jabar" 348  
**(Ilah Nurlaelah)**
15. "Bio Essay Ekstrak Ling Shi (*Ganoderma lucidum*) dalam Menghambat Jamur dari Kulit Penderita Panu" 364  
**(Meitini W. Proborini, dan Dewi Y)**
16. "Perbandingan Hasil Analisa Kandungan Beta-Glukan Air Rebusan dengan Minuman kesehatan Berbahan Baku Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)" 371  
**(Netty Widyastuti, Donowati Tjokrokusumo, Reni Giarni, Henky Isnawan)**
17. "Pengaruh Pemberian Biomassa *Rhodotorula minuta* UICC Y - 227 Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Plasma Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) Jantan Galur Spraque Dawley" 379  
**(Nova Anita, Rahayu Purwasih)**
18. "Uji Aktivitas dan Identifikasi kapang Endofit yang diisolasi dari tanaman berkhasiat obat" 390  
**(Rani Afifah Nur Hestiyani, Nuniek Ina Ratnaningtyas dan Evita Chrisnayanti)**
19. "Cemaran Cendawan Pada Virgine Coconut Oil (VCO), Kelapa Parut dan Ampas Kelapa" 401  
**(Riza Zainuddin Ahmad dan Edi S. Hartanto)**
20. "Peran Cendawan dalam Bidang Veteriner" 408  
**(Riza Zainuddin Ahmad, Siti Khotiah dan Hardiman)**

21. “Jenis-jenis jamur makroskopis di kawasan pinus dan damar baturraden yang diduga mengandung racun” 416  
**(Slamet Risyanto, Aris Mumpuni dan Endang Sri Purwati)**
22. “Case Report: Diagnosa dan Terapi Dermatokimosi pada Kucing” 420  
**(Soedarmanto Indarjulianto, Yanuartono dan Riani Anggun Mumpuni)**
23. “Bioprospeksi Kapang Laut (Marine Derived Fungi) Dari Beberapa Wilayah Perairan Di Indonesia” 426  
**(Muhammad Nursid, Asri Pratitis, Nurrahmi Dewi Fajarningsih dan Ekowati Chasanah)**
24. “Kajian Metabolit Bioaktif *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler Sebagai Antikanker Leher Rahim” 435  
**(Nuraeni Ekowati, Rina Sri Kasiamdari, Nursamsi Pusposendjojo dan C.J. Soegihardjo)**



**Makalah Sesi Paralel Tema IV : Mikologi Pertanian**

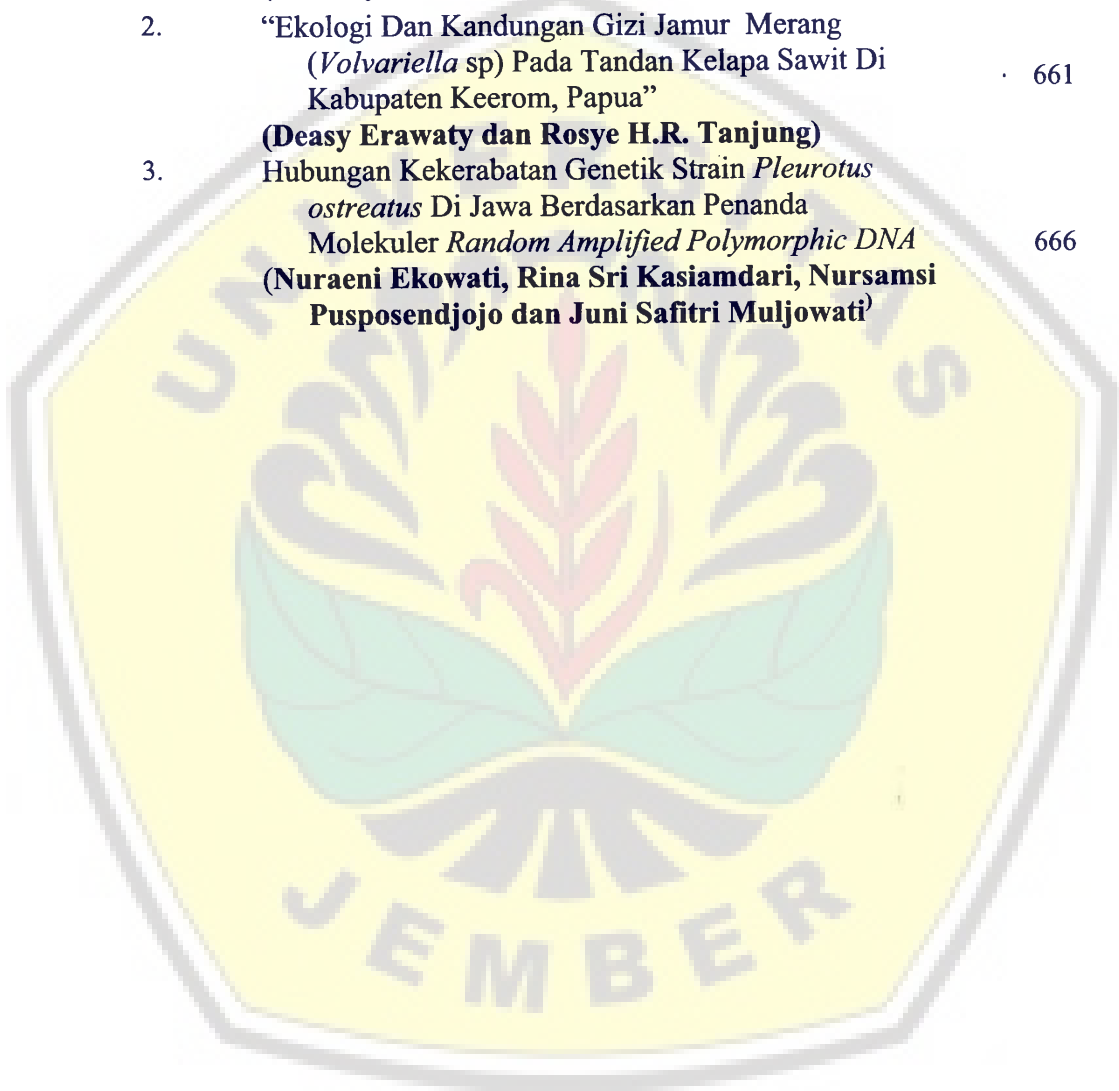
No.	Judul dan Author	Halaman
1.	“Karakteristik <i>Phytophthora palmivora</i> patogen busuk buah dan kanker batang tanaman kakao di Indonesia” <b>(Abu Umayah)</b>	443
2.	“Uji Pertumbuhan Isolat Jamur Kuping ( <i>Auricularia spp</i> ) pada media Agar dan Serelia” <b>(Aris Mumpuni dan Purnomowati)</b>	452
3.	“Pengendalian Penyakit Antraknosa pada Bibit Skubung ( <i>Maccaranga giganttea Muell.Agr.</i> ) di Persemaian Balai Penelitian Teknologi Serat Tanaman Hutan Kuok-Riau” <b>(Avry Pribadi, Ila Anggraeni dan Nina Mindawati)</b>	463
4.	“Keefektifan Asam Humat Dan Bakteri Aktivator Pada Kompos Untuk Pengendalian Rebah Kecambah Oleh <i>Schlerotium rolfsii</i> Sacc. Pada Kacang Tanah” <b>(Bonny P.W. Soekarno, Surono dan Arni Rahmania)</b>	472
5.	“Pemanfaatan Mikroorganisme Antagonis Untuk Mengendalikan Penyakit Penting Pada Tanaman Karet” <b>(Cici Indriani Dalimunthe, Zaida Fairuzah Dan Aidi-Daslin)</b>	482
6.	“Pemanfaatan Bakteri Endofit Untuk Meningkatkan Ketahanan Tanaman Lada ( <i>Piper nigrum L.</i> ) Terhadap Busuk Pangkal Batang (BPB) Serangan <i>Phytophthora capsici</i> Leon Penyebab Penyakit” <b>(Dian Safitri, Bonny BPW Soekarno, Achmad dan Surono)</b>	489
7.	“Identifikasi Molekuler sebagai Metode Tepat untuk Karakterisasi Spesies <i>Trichoderma</i> ” <b>(Elika Joeniarti)</b>	500
8.	“Deteksi Jamur pada Kacang-kacangan di Beberapa Pasar Tradisional Purwokerto dan sekitarnya” <b>(Endang Sri Purwati)</b>	509
9.	“ <i>Vascular Streak Dieback</i> , Ancaman Pengembangan Kakao di Indonesia” <b>(Herry Wirianata)</b>	518
10.	“Pengaruh Ukuran Substrat terhadap Perkembangan Penyakit Busuk Pangkal Batang pada Kelapa sawit” <b>(Herry Wirianata, Elisabeth Nanik K. dan Hana Christine Sinthya)</b>	525

11. "Pencarian Sumber Ketahanan Plasma Nutfah Jagung terhadap Penyakit Bulai (*Perenosclerospora maydis*)" 529  
**(M. Ace Suhendar)**
12. "Aktivitas Antifungi Ekstrak Aseton *Ramalina javanica* Nyl. Terhadap Pertumbuhan *Fusarium solanii*" 536  
**(Masfufa Ningtyas, Suyanto dan Tri S.)**
13. "Kolonisasi Mikoriza *Glomus* dalam Spora Tunggal dan Propagul terhadap pertumbuhan bibit mente (*Anacardium occidentale*) dalam rumah kaca" 545  
**(Meitini W. Proborini, Made Sudana, Wayan Suarna dan N.P. Ristiati)**
14. "Keanekaragaman Kapang Perusak Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) di Pasar Kota Pontianak" 553  
**(Rahmawati, Siti Khotimah dan Mukarlina)**
15. "Serangan Penyakit Busuk Pangkal Batang Pada Bibit Kayu Bawang (*Dysoxylum mollissimum Blume*) dan Teknik Pengendaliannya" 561  
**(Sri Utami dan Agus Ismanto)**
16. "Fungi mikoriza Arbuskula yang Berasosiasi dengan Tanaman Gulma di lahan Pertanian Koya barat Kota Jayapura, Papua" 567  
**(Suharno, Supeni Sufaati, Verena Agustini, dan Cahya Irawan)**
17. "Identifikasi dan Teknik Pengendalian Penyakit (Cendawan) Benih Tanaman Hutan" 575  
**(Tati Suharti dan Naning Yuniarti)**
18. "Pengaruh Teknik Pengendalian Patogen (Cendawan) Terbawa benih Terhadap Daya berkecambah Benih Pinus (*Pinus merkusii Jungh.*) dan Persentase Infeksi Cendawan" 584  
**(Tati Suharti, Naning Yuniarti dan Yulianti Bramasto)**
19. "Efek Biofungisida Ekstrak batang Kembang Sungsang (*Gloriosa superba* L.) terhadap Perkembangan Jamur *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butler & Bisby Pada Buah Cabai Merah (*Capsicum annum* L.)" 593  
**(Yulianty, Eti Ernawati dan Tundjung Tripeni)**
20. "Uji Kemampuan Jamur *Trichoderma* spp. Isolat Jorong untuk Menekan Perkembangan *Fusarium* Penyebab Layu Pisang di Kalimantan Selatan" 602  
**(Yusriadi Marsuni)**
21. "Jamur Patogen pada Larva Udang dan kepiting serta upaya pengendaliannya" 607  
**(Zafran)**

22. 'Efektivitas beberapa fungi antagonis (*Trichoderma sp.*) terhadap Penyakit Jamur Akar Putih di Laboratorium" 614  
**(Zaida Fairuzah, Cici Indriani Dalimunthe, dan Karyudi)**
23. "Alternatif Pemberian Silage Mep Plus Pada Pakan Berbasis Hijauan Dan Jerami Padi Terhadap Pertumbuhan Sapi Simental" 622  
**(Sukanto dan Tri Raharjo)**
24. "Potensi jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* untuk pengendalian *Lepidiotia stigma*" 631  
**(R.R. Rukmowati Brotodjojo dan Chimayatus Solichah)**
25. "Pemanfaatan Ruang di Bawah Tegakan Hutan Rakyat Sengon melalui Penanaman Bawang Merah yang diinokulasi mikoriza *Glomus aggregatum*" 640  
**(Eming Sudiana, Sulistyani, Ani Widyastuti dan Edy Yani)**
26. "Studi Awal Senyawa Pemacu Pertumbuhan Jamur Tiram (*Pleurotus sp.*) Dari Isolat Mikroba di Media Tanam 647  
**(Iwan Saskiawan, Arief Nurkanto, Misbahul Munir)**

**Makalah Poster**

No.	Judul dan Author	Halaman
1.	“Kejadian Penyakit Pada Anakan Tembesu ( <i>Fagraea fragrans</i> ) DI Kabupaten Muara Enim” <b>(Asmaliyah, Nesti Andriani dan Illa Anggraeni)</b>	655
2.	“Ekologi Dan Kandungan Gizi Jamur Merang ( <i>Volvariella</i> sp) Pada Tandan Kelapa Sawit Di Kabupaten Keerom, Papua” <b>(Deasy Erawaty dan Rosye H.R. Tanjung)</b>	661
3.	Hubungan Kekerabatan Genetik Strain <i>Pleurotus ostreatus</i> Di Jawa Berdasarkan Penanda Molekuler <i>Random Amplified Polymorphic DNA</i> <b>(Nuraeni Ekowati, Rina Sri Kasiamdari, Nursamsi Pusposendjojo dan Juni Safitri Muljowati)</b>	666



## ADAKAH HUBUNGAN ANTARA *HYPHAL GROWTH UNIT FILAMENTOUS FUNGUS Acremonium* sp. IMI 383068 DENGAN TINGKAT PRODUKSI GLUKANASE YANG DIHASILKAN?

Jayus

Dosen Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

e-mail: jayus.ftp@unej.ac.id

### ABSTRAK

Aplikasi enzim non sellulolitik  $\beta$ -glukanase telah banyak dikembangkan pada beberapa bidang industri termasuk obat-obatan dan pangan. Walaupun demikian, bagaimana cara meningkatkan produksi enzim sejenis khususnya yang bersumber dari fungi sampai saat ini masih menjadi masalah yang belum jelas cara penanganannya. Oleh karena itu perlu dikaji faktor-faktor yang berpengaruh terhadap produksi enzim termasuk apakah morfologi fungi turut serta berperan dalam penentuan besarnya *yield* produksinya. Dalam penelitian ini dikaji hubungan antara morfologi *Acremonium* sp. IMI 383068 yang dapat berubah akibat perbedaan kondisi lingkungan pertumbuhannya terhadap jumlah enzim glukanase yang dihasilkannya. Penelitian dilakukan dengan cara menumbuhkan fungi tersebut pada kondisi pertumbuhan yang berbeda menggunakan kultur *batch* dan kontinyu yang selanjutnya diamati perubahan morfologinya dan *yield* enzim yang dihasilkannya. Berdasarkan hasil pengukuran *hyphal growth unit* (HGU) fungi tersebut, terdeteksi bahwa HGU mengalami perubahan akibat perbedaan kondisi pertumbuhan termasuk perubahan kecepatan agitasi dan aerasi pada kultur *batch*, dan perubahan HGU ini diikuti dengan perubahan *yield* enzim yang dihasilkan. Hal ini mengindikasikan bahwa produksi glukanase dapat ditingkatkan dengan memperbanyak frekuensi percabangan *hypha* pada fungi. Namun demikian, fakta ini tidak konsisten dengan perubahan HGU *Acremonium* sp. IMI 383068 yang ditumbuhkan pada kultur kontinyu. Enzim yang dihasilkan pada kultur kontinyu menunjukkan terjadinya peningkatan seiring dengan bertambahnya laju pertumbuhan meskipun HGU pada kondisi pertumbuhan tersebut tidak mengalami perubahan. Dari kenyataan ini dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan yang jelas antara HGU *filamentous fungus Acremonium* sp. IMI 383068 dengan tingkat produksi glukanase yang dihasilkan.

**Kata kunci:** *Acremonium* sp., *hyphal growth unit* (HGU), enzim glukanase.

## 1.1 Pendahuluan

Enzim ekstraselluler yang diproduksi oleh jamur memiliki nilai ekonomi yang tinggi dan telah banyak dimanfaatkan secara ekstensif pada industri makanan, minuman dan diterjen (Cowan, 1999; Lowe 2001). Meskipun demikian masih sedikit informasi yang tersedia tentang kondisi pertumbuhan yang mempengaruhi produksi enzim ini. Fermentasi jamur dalam kultur cair (*submerged culture*) termasuk proses yang kompleks karena dalam kultur ini jamur dapat tumbuh dengan bentuk morfologi yang berbeda dan secara langsung dapat mempengaruhi kondisi fisik lingkungan pertumbuhannya (Gibbs et al., 2000). Selain itu pada kultur curah (*batch culture*), morfologi jamur juga dapat berubah selama masa inkubasi (Wongwicharn et al., 1999; Sphor et al., 1997). Selama pertumbuhannya, fungi dapat tumbuh berupa pellet yang kompak atau bentuk miselium lepas terurai yang selanjutnya akan mempengaruhi rheologi media fermentasi, karakteristik proses pencampuran dan transfer massa O<sub>2</sub> (Domingues et al., 2000; Pazouki & Panda, 2000; Olsvik & Kristiansen, 1992; Olsvik et al., 1993). Beberapa bukti ilmiah telah menunjukkan adanya hubungan antara morfologi jamur dan produksi metabolit serta enzim, meskipun apakah hubungan ini terjadi secara langsung atau efek tidak langsung dari morfologi terhadap sifat fisik kultur juga tidak selalu diketahui secara jelas (Queiroz et al., 1997; Kossen, 2000; Znidarsic & Pavko, 2001).

Perbedaan kondisi pertumbuhan juga dapat mempengaruhi frekuensi percabangan individual hifa jamur berfilamen (Wongwicharn et al., 1999a; Wiebe & Trinci, 1991; van Suidjam & Metz, 1981; Justen et al., 1996; Wongwicharn et al., 1999b; Cui et al., 1997; McIntyre & McNeil, 1997; McIntyre et al., 1998). Frekuensi percabangan ini dapat dikuantitatifasi melalui *hyphal growth unit* (HGU). Semakin rendah nilai HGU maka semakin banyak jumlah ujung hifa pada setiap unit sepanjang hifa, demikian juga frekuensi percabangannya. Demikian sebaliknya, semakin tinggi HGU maka semakin rendah jumlah percabangan hifanya (Caldwell & Trinci, 1973). Karena sekresi enzim ekstraselluler dianggap terjadi pada ujung hifa fungi yang sedang tumbuh berkembang (Wosten et al., 1991; Cai et al., 1999), maka ada spekulasi yang menyatakan bahwa aktivitas spesifik enzim (unit aktivitas per satuan biomassa) dapat ditingkatkan dengan menumbuhkan fungi pada kondisi lingkungan yang mendorong terbentuknya percabangan yang sekaligus akan memperbanyak jumlah ujung hifa sebagai titik sekresi (Peberdy, 1994). Oleh karena itu dalam penelitian ini dipelajari bagaimana keterkaitan antara perubahan HGU filamentous fungi akibat perubahan kondisi lingkungan kultur dengan produktivitas enzim yang dihasilkannya untuk memperkuat spekulasi tersebut diatas.

## 2. Metoda Penelitian

### 2.1. Preparasi inokulum untuk percobaan dalam fermenter

Suspensi spore *Acremonium* sp. IMI 383068 disiapkan untuk menginokulasi 50 ml media liquid yang didispersi ke dalam 250 ml tabung Erlenmeyer. Media yang dipakai mengandung skleroglukan sebagai satu-satunya sumber karbon dengan konsentrasi awal 2.5 g l<sup>-1</sup>. Kultur ini diinkubasi pada suhu 28 °C dan 180 rpm menggunakan orbital incubator (Paton Industries, model 461) selama 4 hari. Selnya kemudian dipisahkan dengan sentrifugasi, kemudian dicuci sebanyak 3 kali menggunakan air distilat steril. Media yang digunakan untuk percobaan di fermenter kultur curah sama dengan media untuk menyiapkan inokula, kecuali pada kultur kontinyu yang menggunakan sumber karbon skleroglukan dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 1 g l<sup>-1</sup> untuk mendapat kondisi *carbon limiting*.

### 2.2 Eksperimen kultur curah dan kontinyu



Fermentasi kultur batch dilakukan dalam *continuously stirred tank reactor* (CSTR) dengan volume kerja 1 l (LH Fermentation, Enztech, Sydney) tanpa baffles dilengkapi dengan 2 Rushton 6-blade impellers (sepertiga diameter vessel) dan berjarak satu diameter impeller dari dasar vessel. Sistem fermenter dan media serta peralatan sensor disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 20 min.

Semua proses fermentasi dilakukan pada suhu 28 °C. Airflow rates diukur dan dikontrol menggunakan rotameter. pH kultur dimonitor menggunakan sensor pH Ingold dan dikontrol secara otomatis dengan penambahan 2 M HCl atau 2 M NaOH menggunakan control module pH LH 502. Konsentrasi Dissolved oxygen (DO) diukur menggunakan sensor polarographic Applicon (Enztech, Sydney) dan DO level dikontrol secara otomatis menggunakan oxygen controller Biolab (Braun Biotech International), dengan mengatur rasio gas oxygen dan nitrogen dan laju aliran gas diatur konstan untuk menghindari terjadinya perbedaan shear dan waktu pencampuran pada kondisi fermentasi yang berbeda. Kalibrasi sensor dilakukan sebelum inokulasi pada suhu terpilih. Sampel untuk analisis aktivitas enzim diambil sebanyak 20 ml dengan interval pengambilan 12 jam selama proses fermentasi berlangsung.

### 2.3 Analisis morfologi fungi

Sebelum dianalisis, sampel biomassa yang diambil secara aseptis dari fermenter diencerkan terlebih dahulu menggunakan air distilat untuk mendapatkan frgmen myselia yang secara bebas terdispersi dalam air. Gambar sel ditangkap menggunakan video kamera yang terhubung dengan *inverted* mikroskop (Olympus). Total panjang hypha diukur menggunakan software SigmaScan Pro. Analisis dilakukan palig tidak pada 50 image untuk masing-masing sampel biomassa. Nilai hyphal growth unit (HGU) ditentukan melalui pembagian total panjang hypha dengan total jumlah tips (Caldwell & Trinci, 1973). Nilai HGU diambil dari rata-rata pengukuran pada masing-masing sampel pengukuran.

### 2.4 Eksperimen kultur kontinyu

Semua fermentasi kontinyu dilakukan dalam bioreaktor 1 l Biolab (Braun Biotech Internatioanal) dengan volume kerja 800 ml yang memiliki konfigurasi berbeda dengan sistem fermentasi LH. Impeller yang digunakan dalam fermenter Biolab hanya berjumlah satu, tipe Rushton turbine impeller (diameter 6 cm), sedangkan pada fermenter LH menggunakan dua impeller (diameter 4 cm). Oleh karena itu kedua jenis fermenter ini memiliki perbedaan sistem pengadukan yang menyebabkan shear rate berbeda pada kecepatan agitasi yang sama. Untuk kultur kontinyu digunakan kecepatan agitasi 250 rpm yang menghasilkan tip speed 0.78 m sec<sup>-1</sup> yang kira-kira ekivalen dengan tip speed fermenter LH pada kecepatan agitasi 400 rpm (kondisi optimal untuk produksi enzim).

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1. Pengaruh kecepatan agitasi pada fermentasi kultur curah terhadap aktifitas (1→3)- dan (1→6)- β-glukanase

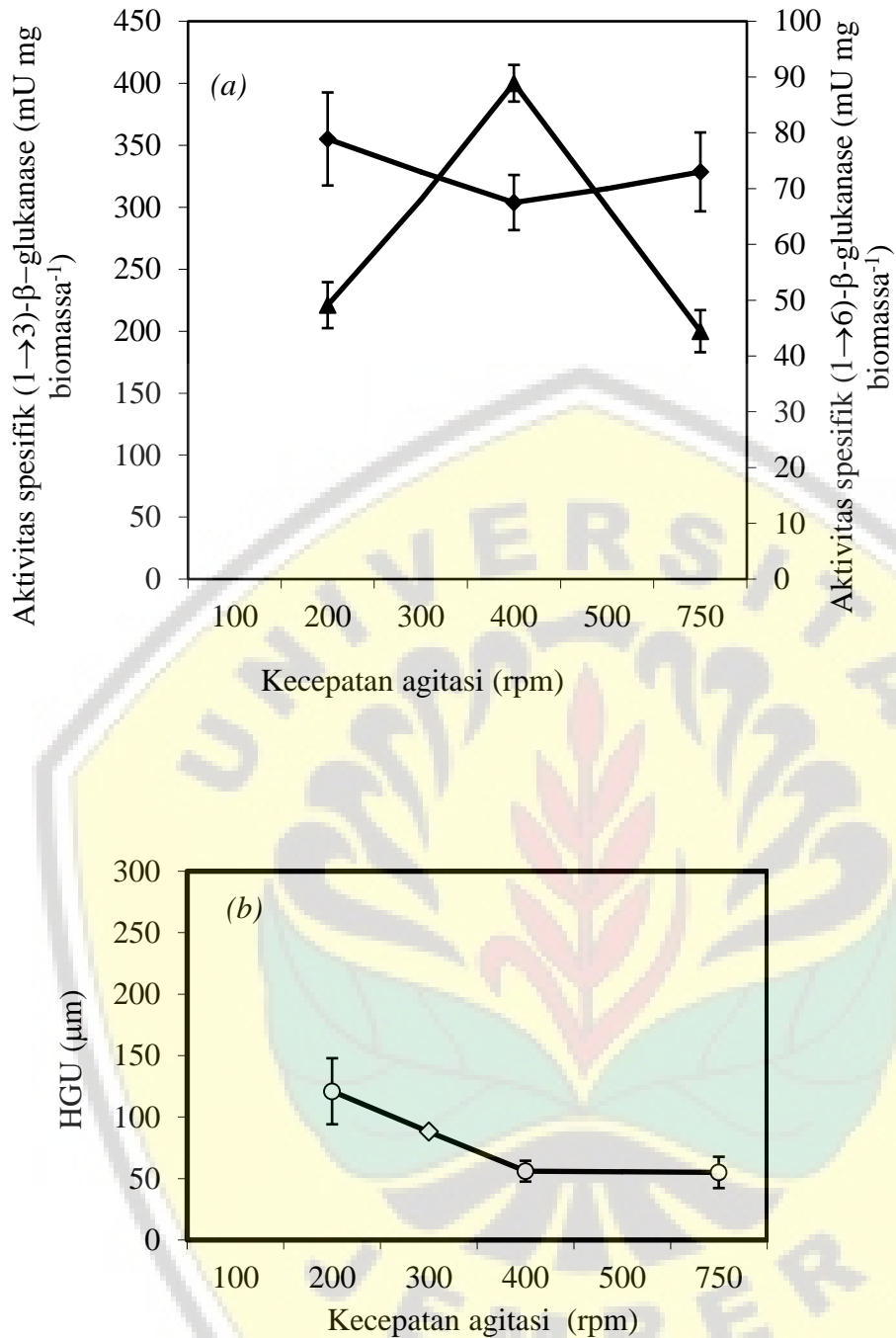
Aktivitas spesifik (mU per mg biomassa) enzim (1→3)- dan (1→6)-β-glukanase yang diproduksi oleh *Acremonium* sp. IMI 383068 pada media yang mengandung skleroglukan sangat dipengaruhi oleh kecepatan agitasi (Gambar 1). dan (1→6)-β- Aktivitas kedua enzim ini meningkat sampai pada kecepatan agitasi 400 rpm tetapi kemudian menurun drastis jika kecepatan agitasinya dinaikkan lagi sampai 750 rpm. Penyebab turunnya aktivitas spesifik ini

bukan karena enzim yang terbentuk ini sensitif pada agitasi karena aktivitas senzim dari filtrat pertumbuhan tidak mengalami perubahan meskipun sudah mengalami pengadukan selama 18 jam dengan kecepatan agitasi 1000 rpm (pengamatan dilakukan secara terpisah).

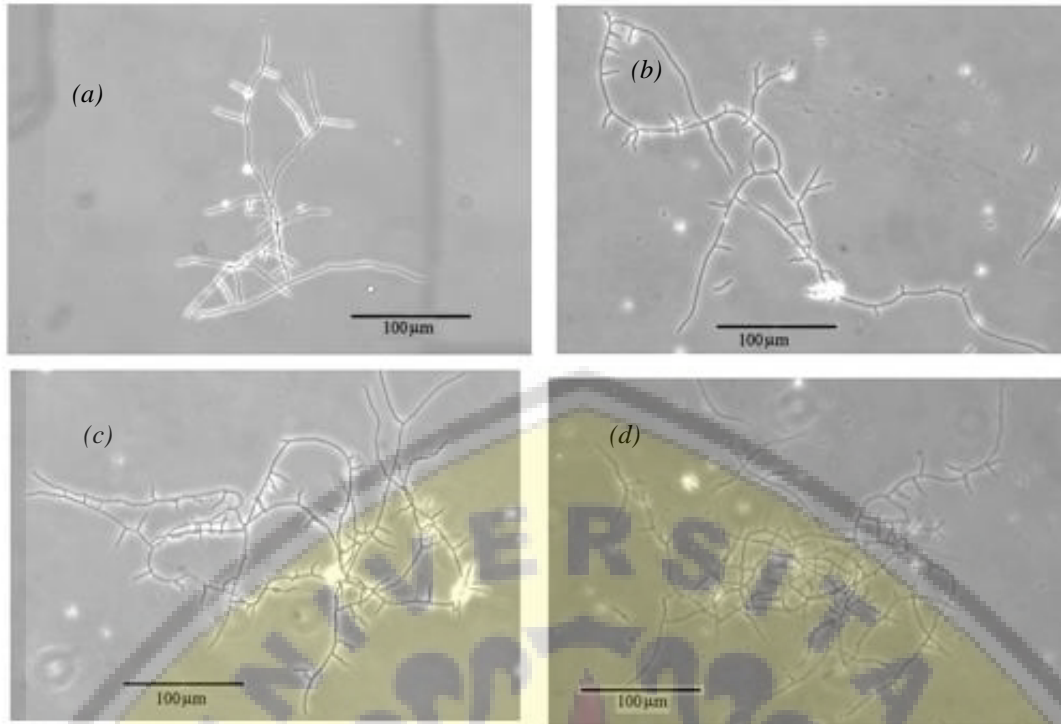
Berbeda dengan (1→3)- $\beta$ -glukanase, (1→6)- $\beta$ -glukanase yang dihasilkan oleh jamur ini tidak secara signifikan dipengaruhi oleh kecepatan agitasi. Meskipun sedikit mengalami penurunan aktivitas jika agitasi dinaikkan menjadi 400 rpm, tetapi jika kecepatan agitasinya dinaikkan terus menjadi 750 rpm, aktivitas enzim yang dihasilkan cenderung mengalami sedikit kenaikan.

Morfologi *Acremonium* sp. IMI 383068 yang ditumbuhkan pada kecepatan agitasi berbeda secara dominan berupa elemen hifa yang terdispersi secara bebas lepas. HGU dari miselium jamur ini mengalami peningkatan jika kecepatan agitasinya dinaikkan menjadi 400 (gambar 1b), hal ini berarti miseliumnya memiliki lebih banyak cabang. Jika kecepatan agitasinya dinaikkan lagi menjadi 750 rpm nilai HGUnya cenderung konstan. Perbedaan frekuensi percabangan hifa yang ditumbuhkan pada perbedaan kecepatan agitasi dapat dilihat pada **Gambar 2**.





**Gambar 1.** Efek kecepatan agitasi terhadap (a) specific activity (1→3)- and (1→6)-β-glukanase dari *Acremonium* sp. IMI 383068 and (b) hubungannya terhadap HGU dan biomassa pada laju aerasi 0.3 vvm dan pH of 6.0 dalam CSTR suhu 28°C. ▲ aktivitas spesifik (1→3)-β-glukanase; ◆ aktivitas spesifik (1→6)-β-glukanase; O HGU.



**Gambar 2.** Tipe morfologi of *Acremonium* sp. IMI 383068 pada kecepatan agitasi berbeda dalam CSTR dengan kecepatan aerasi 0.3 vvm dan pH konstan 6.0 suhu 28°C yang menunjukkan perbedaan frekuensi percabangan.. (a) 200 rpm; (b) 400 rpm; (c) dan (d) 750 rpm;

### 3.2 Efek laju pengenceran ( $D$ ) terhadap produksi (1→3)- dan (1→6)- $\beta$ -glukanase serta morfologi *Acremonium* sp. IMI 383068

Dalam kisaran laju pengenceran yang dicobakan 0.02 - 0.04 h<sup>-1</sup>,  $\mu$  mempengaruhi secara nyata terhadap aktivitas specific terukur kedua enzim (1→3)- dan (1→6)- $\beta$ -glukanases yang diproduksi oleh *Acremonium* sp. IMI 383068 (Gambar 3a). Aktivitas specific enzim (1→3)- $\beta$ -glukanase naik dari awalnya 323 menjadi 726 mU mg biomassa<sup>-1</sup> sebagaimana kenaikan  $\mu$  dari 0.02 sampai 0.04 h<sup>-1</sup>, setelah itu aktivitas spesifiknya tetap hingga  $\mu = 0.08$  h<sup>-1</sup>, tetapi kemudian turun lagi pada  $\mu$  yang lebih tinggi lagi 0.1 h<sup>-1</sup>.

Berbeda dengan (1→3)-β-glukanase, aktivitas specific (1→6)-β-glukanase turun secara cepat dengan meningkatnya  $\mu$ , dan tidak ada aktivitas sama sekali pada  $\mu = 0.1 \text{ h}^{-1}$ . Jika productivitas enzyme specific ( $q_p$ ) kedua enzim dikalkulasi dengan satuan  $\text{mU mg biomass}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ , produksi (1→3)-β-glukanase jelas bersifat *growth related*, tetapi enzim (1→6)-β-glukanase tidak *growth related* (Gambar 3). Nilai  $q_p$  (1→3)-β-glukanases naik dari 6.5 menjadi 63  $\text{mU mg biomass}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ketika  $\mu$  dinaikkan dari 0.02 menjadi 0.08  $\text{h}^{-1}$ . Penurunan drastis nilai  $q_p$  (1→3)-β-glukanase terjadi pada nilai tertinggi D yang diujikan (0.1  $\text{h}^{-1}$ , data tidak ditunjukkan), kejadian ini tidak mudah untuk dijelaskan. Nilai  $q_p$  (1→6)-β-glukanase tetap konstan dengan besaran 1.5  $\text{mU mg biomass}^{-1} \text{ h}^{-1}$  meskipun nilai  $\mu$  dinaikkan dari 0.02 to 0.08  $\text{h}^{-1}$ . Karena tidak ada aktivitas (1→6)-β-glukanase sama sekali pada kondisi  $D = 0.1 \text{ h}^{-1}$ , maka nilai  $q_p$  pada  $\mu$  ini menjadi nol.

Gambar 3b menunjukkan perubahan konsentrasi *steady state* biomassa pada nilai  $\mu$  yang berbeda. Konsentrasi biomassa lebih rendah pada  $\mu = 0.02$  dibanding dengan  $\mu = 0.04$  dan 0.06  $\text{jam}^{-1}$ , yang mungkin disebabkan oleh kebutuhan *cell maintenance* pada D rendah dengan kondisi C-terbatas (Wang *et al.*, 1979). Konsentrasi biomassa juga turun pada  $\mu$  yang lebih tinggi (0.08 dan 0.1  $\text{jam}^{-1}$ ), hal ini dimungkinkan akibat permulaan terjadinya *wash out*.

Nilai HGU *Acremonium* sp. IMI 383068 mengindikasikan bahwa fungi ini tumbuh dengan frekuensi percabangan yang rendah pada  $\mu$  terendah 0.02  $\text{h}^{-1}$  (HGU =  $66 \pm 18 \mu\text{m tip}^{-1}$ ), dan hanya terjadi sedikit perubahan nilai HGU ( $53 \pm 12 \mu\text{m tip}^{-1}$ ) jika  $\mu$  naik antara 0.04 dan 0.1  $\text{jam}^{-1}$  (Gambar 3b).

Berdasarkan pengamatan di kultur kontinyu ini jelas terlihat bahwa perubahan aktivitas β-glukanase, akibat perubahan  $\mu$  *Acremonium* IMI 383068, tidak selalu paralel sama dengan perubahan nilai HGU-nya, dimana pada laju pengenceran diatas 0.02  $\text{h}^{-1}$  nilai HGU cenderung tetap. Dalam kondisi seperti ini dimana frekuensi percabangan tidak berubah akibat perbedaan laju pengenceran, laju perpanjangan hifa dari bagian yang aktif (Agger *et al.*, 1998), *active length* (Wongwicharn *et al.*, 1999) atau ujung aktif (Amanullah *et al.*, 2002) mungkin dapat mempengaruhi perubahan jumlah produksi glukanase oleh fungi *Acremonium* IMI 383068.

Sekresi glukanase oleh *Acremonium* IMI 383068 kemungkinan lebih dipengaruhi oleh laju perpanjangan hifa dan tidak tergantung kepada jumlah ujung hifa yang terbentuk meskipun beberapa peneliti menunjukkan bahwa sekresi enzim terjadi pada ujung hifa. Tenberge *et al.* (1999) dengan cara immunogold labelling dapat menunjukkan bahwa endo-β-glukanase oleh *Claviceps purpurea* disekresi pada ujung hifa, dan glucoamylase oleh *Aspergillus niger* juga terkonsentrasi pada apices hifa (Wosten *et al.*, 1991) yang ditunjukkan dengan cara green fluorescent.

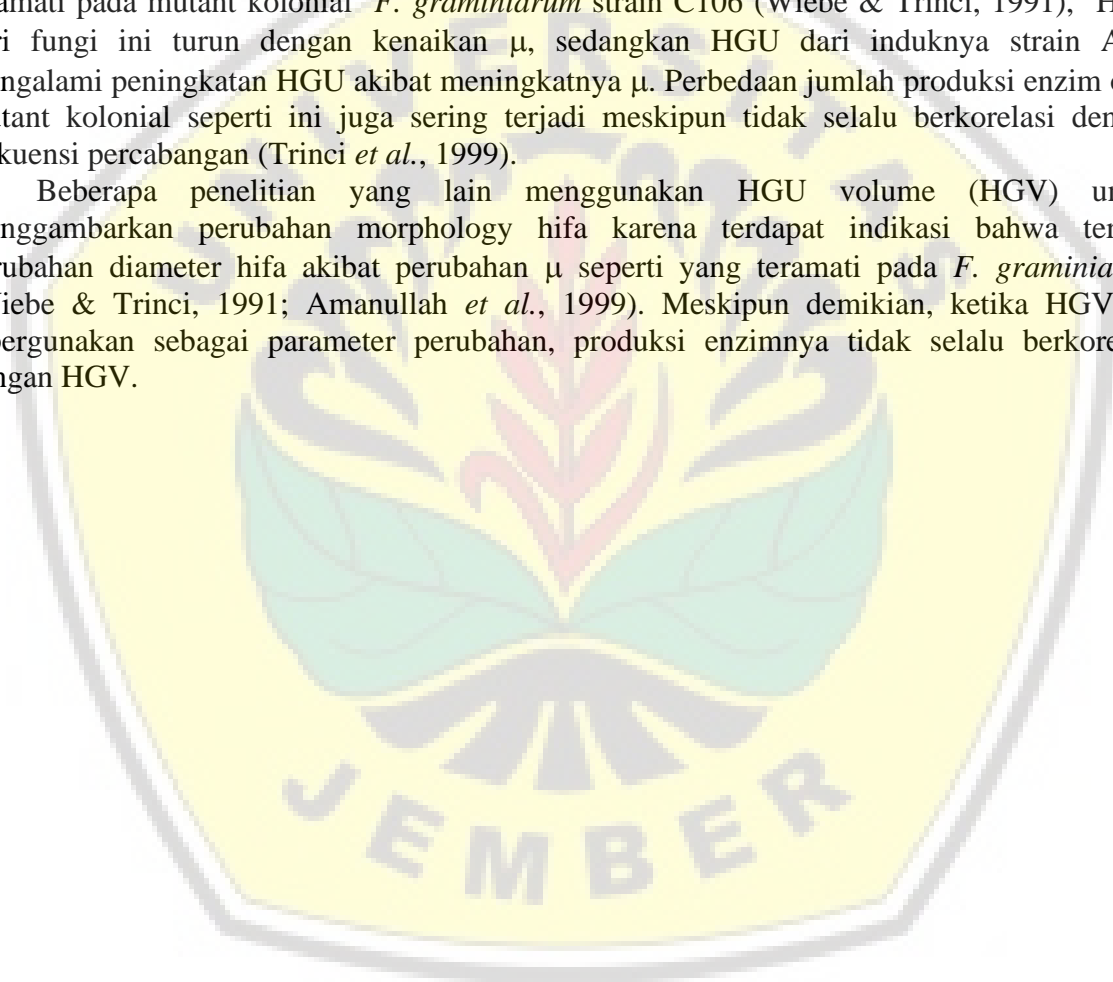
Hasil studi ini menunjukkan bahwa produksi β-glukanase oleh *Acremonium* IMI 383068 tidak selalu berhubungan dengan frekuensi percabangan meskipun hubungan ini sudah banyak ditunjukkan pada produksi enzim oleh jamur yang lain (Johansen *et al.*, 1998; Trinci *et al.*, 1999; Wongwicharn *et al.*, 1999) yang sependapat dengan pendapat Peberdy (1994) bahwa peningkatan rendemen enzim dapat dilakukan dengan meningkatkan frekuensi percabangan dan ujung hifa sebagai tempat pengeluaran enzim.

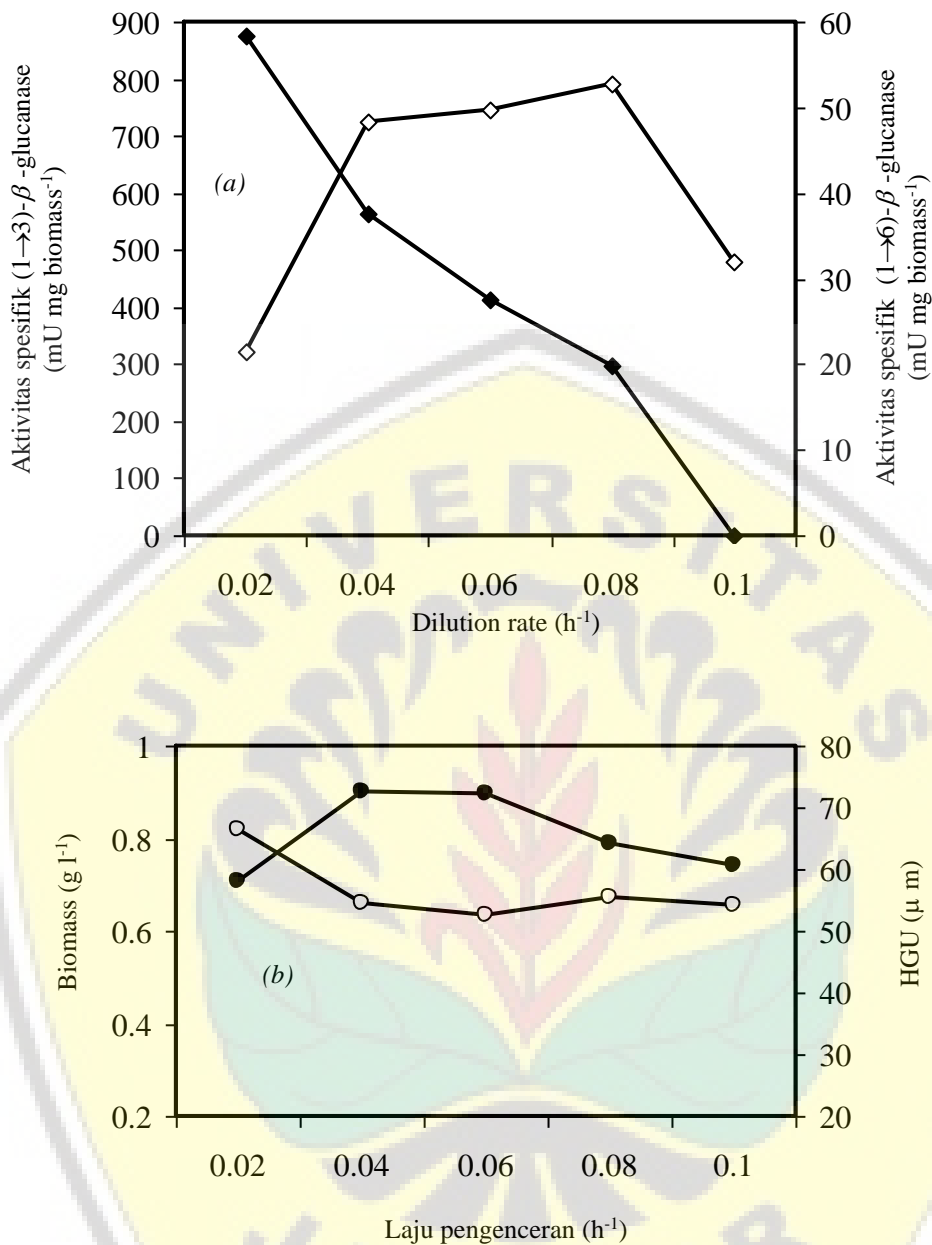
Pada beberapa fungi seperti *Aspergillus nidulans* and *P. chrysogenum*, HGU berubah akibat perubahan  $\mu$ , yang umumnya menurun dengan meningkatnya  $\mu$  yang berarti frekuensi percabangannya meningkat (Morrison & Righaletto, 1974; Wiebe & Trinci, 1991), akan tetapi pada kasus yang lain dilaporkan bahwa  $\mu$  kelihatannya tidak mempengaruhi frekuensi percabangan (Trinci, 1973). Hal ini mengindikasikan bahwa fungi memiliki strategi yang berbeda untuk merespon perubahan kecepatan pertumbuhannya sesuai dengan perbedaan ekologi yang mungkin terjadi.

Pengamatan terhadap morfologi miselia fungi dalam kultur kontinu sebab mutant secara morfologi (kolonial) yang memiliki frekuensi percabangan lebih tinggi dapat muncul setelah fungi dioperasikan secara kontinu dalam waktu yang cukup lama dan mutant ini dapat memproduksi enzim dalam jumlah yang berbeda dibanding dengan fungi aslinya (Withers *et al.*, 1998). Walau demikian dalam kultur kontinu *Acremonium* IMI 383068 tidak ditemukan mutant sejenis ini yang mungkin disebabkan oleh percobaan yang relatif lebih singkat, tidak lebih dari 250 jam.

Contoh kasus lain menunjukkan bahwa produksi  $\alpha$ -amilase yang lebih tinggi ditemukan dalam kultur kontinu mutant *Aspergillus oryzae* yang memiliki diameter hifa lebih kecil dan frekuensi percabangan lebih sedikit dibanding dengan strain induknya dilaporkan oleh Zangirolami *et al.* (2000). Terbentuknya mutant atau varian kolonial dalam kultur fungi relatif sering terjadi (Wiebe *et al.*, 1991) dan fungi yang mengalami mutasi ini memiliki respon yang berbeda terhadap  $\mu$  dan faktor lingkungan lainnya. Sebagaimana teramati pada mutant kolonial *F. graminearum* strain C106 (Wiebe & Trinci, 1991), HGU dari fungi ini turun dengan kenaikan  $\mu$ , sedangkan HGU dari induknya strain A3/5 mengalami peningkatan HGU akibat meningkatnya  $\mu$ . Perbedaan jumlah produksi enzim oleh mutant kolonial seperti ini juga sering terjadi meskipun tidak selalu berkorelasi dengan frekuensi percabangan (Trinci *et al.*, 1999).

Beberapa penelitian yang lain menggunakan HGU volume (HGV) untuk menggambarkan perubahan morphology hifa karena terdapat indikasi bahwa terjadi perubahan diameter hifa akibat perubahan  $\mu$  seperti yang teramati pada *F. graminearum* (Wiebe & Trinci, 1991; Amanullah *et al.*, 1999). Meskipun demikian, ketika HGV ini dipergunakan sebagai parameter perubahan, produksi enzimnya tidak selalu berkorelasi dengan HGV.





**Gambar 3.** Efek laju pengenceran terhadap (a) aktivitas spesifik extraselluler (1→3)- dan (1→6)- $\beta$ -glucanase dari *Acremonium* sp. IMI 383068 dalam kultur kontinyu dengan skleroglukan sebagai sumber carbon pada pH 6.5, kecepatan agitasi 250 rpm dan pO<sub>2</sub> 20 % (b) produksi biomassa (●) dan HGU (○). ◇ (1→3)- $\beta$ -glukanase; ◆ (1→6)- $\beta$ -glukanase.

## 4. Simpulan

Produksi (1→3)-β-glukanase oleh *Acremonium* sp. IMI 383068 bersifat sensitiv terhadap shear. Meskipun HGU *Acremonium* sp. IMI 383068 dapat berubah akibat perubahan kecepatan agitasi dalam fermenter CSTR, namun demikian tidak ada hubungan yang konsisten antara HGU atau frekuensi percabangan dengan produksi enzim yang dihasilkan olehnya.

## Daftar pustaka

Agger, T., Spohr, A.B., Carlsen, M. & Nielsen, J. (1998) Growth and product formation of *Aspergillus oryzae* during submerged cultivations: verification of a morphologically structured model using fluorescent probe. *Biotechnology and Bioengineering* **57**:321-329.

Amanullah, A., Christensen, L.H., Hansen, K. & Nienow, A.W. (2002) Dependence of morphology on agitation intensity in fed-batch cultures of *Aspergillus oryzae* and its implications for recombinant protein production. *Biotechnology and Bioengineering* **77**: 815-826.

Cai YJ, Chapman SJ, Buswell JA, Chang S. Production and distribution of endoglucanase, cellobiohydrolase, and α-glucosidase components of the cellulolytic system of *Volvariella volvacea*, the edible straw mushroom. *Appl Environ Microbiol* 1999;65:553–9.

Caldwell IY, Trinci APJ. The growth unit of mould *Geotrichum candidum*. *Arch Mikrobiol* 1973;88:1–10.

Cowan DA. Industrial enzymes. In: *Biotechnology—the Science and the Business*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 1999. p. 319–50.

Cui YQ, van der Lans RGJM, Luyben KCAM. Effect of agitation on fungal morphology of submerged fermentation. *Biotechnol Bioeng* 1997;55:715–26.

Domingues FC, Queiroz JA, Cabral JMS, Fonseca LP. The influence of culture conditions on mycelial structure and cellulase production by *Trichoderma reesei* Rut C-30. *Enzyme Microb Technol* 2000;26:394–401.

Johansen C.L., Collen L., Hunik J.H. (1998) Influence of morphology on product formation in *Aspergillus Awamori* during submerged fermentations. *Biotechnology Progress* **14**: 233-240.

Justen P, Paul GC, Nienow AW, Thomas CR. Dependence of mycelial morphology on impeller type and agitation intensity. *Biotechnol Bioeng* 1996;52:672–84.

Kossen NWF. The morphology of filamentous fungi. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2000;70:1–33.

Lowe DA. Production of enzymes. In: Ratledge C, Kristiansen B, editors. *Basic Biotechnology*. Cambridge: Cambridge University Press, 2001. p. 391–408.

McIntyre M, McNeil B. Effect of carbon dioxide on morphology and product synthesis in chemostat culture of *Aspergillus niger* A60. *Enzyme Microb Technol* 1997;21:479–83.



McIntyre M, Berry DR, Eade JK, Cox PW, Thomas CR, McNeil B. Manual and semi-automated morphological analysis of *Penicillium chrysogenum* chemostat cultures. *Biotechnol Technol* 1998;12:671–5.

Morrison, K.B. & Righelato, R.C. (1974) The relationship between hyphal branching, specific growth rate and colony radial growth rate in *Penicillium chrysogenum*. *Journal of General Microbiology* **81**: 521-524.

Olsvik E, Kristiansen B. Influence of oxygen tension, biomass concentration and specific growth rate on the rheological properties of a filamentous fermentation broth. *Biotechnol Bioeng* 1992;40:1293–9.

Olsvik E, Tucker KG, Thomas CR, Kristiansen B. Correlation of *Aspergillus niger* broth rheological properties with biomass concentration and the shape of mycelial aggregates. *Biotechnol Bioeng* 1993;42:1046–52.

Pazouki M, Panda T. Understanding the morphology of fungi. *Bioprocess Eng* 2000;22:127–43.

Peberdy JF. Protein secretion in filamentous fungi—trying to understand a highly productive black box. *Trends Biotechnol* 1994;12:50–7.

Queiroz MCR, Facciotti MCR, Schmidell W. Rheological changes of *Aspergillus awamori* broth during amyloglucosidase production. *Biotechnol Lett* 1997;19:167–70.

Sphor A, Carlsen M, Nielson J, Villadsen J. Morphological characterization of recombinant strains of *Aspergillus oryzae* producing amylase during batch variation. *Biotechnol Lett* 1997;19:257–61.

Tenberge K.B., Brockmann, B. Tudzynski, P. (1999) Immunogold localization of an ergot fungus *Claviceps purpurea* during infection of rye. *Mycological Research* **103**: 1103-1118.

Trinci APJ, Bocking S, Swift RJ, Withers JM, Robson GD, Wiebe MG. Growth, branching and enzyme production by filamentous fungi in submerged culture. In: *The Fungal Colony*. Cambridge University Press, Cambridge, 1999. p. 108–25.

van Suidjam JC, Metz B. Influence of engineering variables upon the morphology of filamentous molds. *Biotechnol Bioeng* 1981;23:111–48.

Wiebe MG, Trinci APJ. Dilution rate as a determinant of mycelial morphology in continuous culture. *Biotechnol Bioeng* 1991;38:75–81.

Wongwicharn A, McNeil B, Harvey LM. Heterologous protein secretion and fungal morphology in chemostat cultures of a recombinant *Aspergillus niger* (B1-D). *Enzyme Microb Technol* 1999;24:489–97.

Wongwicharn A, Harvey LM, McNeil B. Secretion of heterologous and native proteins, growth and morphology in batch cultures of *Aspergillus niger* B1-D at varying agitation rates. *J Chem Technol Biotechnol* 1999;74:821–8.

Wosten HAB, Moukha SG, Sietsma JH, Wessels GH. Localization of growth and secretion of protein in *Aspergillus niger*. J Gen Microbiol 1991;137:2017–23.

Znidarsic P, Pavko A. The morphology of filamentous fungi in submerged cultivations as a bioprocess parameter. Food Technol Biotechnol 2001;39:237–52.

