

OPTIMASI PENAMBAHAN NUTRIEN TERHADAP KADAR PROTEIN PADA FERMENTASI PADAT KULIT UMBI UBI KAYU MENGGUNAKAN *RESPONSE SURFACE METHODS* (RSM)

Erna Juliarti dan Iis Alfaizah

Jurusan Teknik Kimia, Fak. Teknik, Universitas Diponegoro
Jln. Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang, 50239, Telp/Fax: (024)7460058
Email : alf_sweety@yahoo.co.id

Abstract

Cassava is tropic and subtropic tree from Euphorbiaceae family and Manihot esculenta as binomial name. The aims of fermentation of cassava peel to decrease of agroindustry waste and used for animal feed. The waste from agroindustry contain carbohydrate and little protein. To reduce the waste needed fermentation process to enriched protein content using saacharomyces cereviceae. This experimental using cassava peel was drying at the first. The experimental design used was 2^3 full factorial central composite design with 18 run was consist of 8 run on second level (-1/+1), 6 run star points (-1.68/+1,68), and 4 run replication on centre points (0). The data was obtain analyzed using Respons Surface Methods (RSM) to know optimum condition such as: vitamin B₁ total, water content, and C/N ratio on solid state fermentation of cassava peel. The result shown that maximum yield of protein reached at 36.40 % with vitamin B₁ at 0.0100 %, water content at 65 %, and C/N ratio at 15. The value of cyanide acid also decrease from 0.024 % to 0.009 % after 6 days fermentation process.

Keywords: *Cassava Peel, Yield of Protein, Response Surface Methodology*

Ubi kayu (cassava) merupakan pohon tahunan tropika dan subtropika dari keluarga Euphorbiaceae dengan nama binomial Manihot esculenta. Kulit umbi ubi kayu yang diperoleh dari produk tanaman ubi kayu merupakan limbah agroindustri yang dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Fermentasi padat dengan substrat kulit umbi ubi kayu dilakukan untuk meningkatkan kandungan protein dan mengurangi masalah limbah pertanian. Pada penelitian ini akan dilakukan percobaan dengan memanfaatkan kulit umbi ubi kayu sebagai substrat yang terlebih dahulu dikeringkan kemudian digiling menjadi tepung dalam proses fermentasi padat menggunakan ragi tape sebagai inokulum. Metode penelitian menggunakan rancangan percobaan 2^3 full factorial central composite design dengan 18 run yang terdiri dari 8 run pada level dua (-1/+1), 6 run star points (-1.68/+1,68), dan 4 run replikasi pada centre points (0). Pengolahan data hasil penelitian menggunakan Response Surface Methods (RSM) untuk mengetahui kondisi optimum yang meliputi: jumlah vitamin B₁, rasio C/N, dan kadar air dalam proses fermentasi padat kulit umbi ubi kayu menggunakan inokulum ragi tape. Hasil penelitian menunjukkan bahwa yield persentase kadar protein maksimal sebesar 36,40 % dengan komposisi vitamin B₁ 0,0100%, kadar air 65 %, dan rasio C/N 15. Hasil analisa asam sianida menunjukkan bahwa kadar asam sianida kulit umbi ubi kayu mengalami penurunan dari 0,024% menjadi 0,009% setelah proses fermentasi selama 6 hari.

Kata Kunci : *Umbi Ubi Kayu, Kadar Protein, Response Surface Methodology*

1. Pendahuluan

Tanaman ubi kayu merupakan tanaman yang banyak dijumpai di Indonesia terutama di pedesaan. Ubi kayu dikenal sebagai tanaman rakyat yang mudah di dapat dan harganya murah. Tanaman ini berasal dari Brazil Amerika Selatan dan masuk ke Indonesia pada tahun 1852. Di Indonesia, ubi kayu merupakan makanan pokok nomor 3 setelah padi dan jagung, sehingga ubi kayu mempunyai potensi nilai ekonomi dan sosial yang tinggi. Selain sebagai makanan pokok, ubi kayu telah dikembangkan menjadi komoditas agro industri seperti tepung tapioka, industri fermentasi, dan industri makanan (www.wikipedia.com).

Produksi ubi kayu dunia diperkirakan mencapai 184 juta ton pada tahun 2002. Sebagian besar produksi dihasilkan di Afrika sebanyak 99,1 juta ton dan 33,2 juta ton di Amerika Latin dan Kepulauan Karibia. Ubi kayu ditanam secara komersial di wilayah Indonesia (waktu itu Hindia Belanda) pada sekitar tahun 1810, setelah sebelumnya diperkenalkan oleh orang Portugis pada abad ke-16 di Indonesia dari Brazil. Indonesia termasuk Negara penghasil ubi kayu terbesar ketiga (13.300.000 ton/tahun) setelah Brazil (25.554.000 ton/tahun), Thailand (13.500.000 ton/tahun) serta disusul negara – Negara seperti Nigeria (11.000.000 ton/tahun), India (6.500.000 ton/tahun) dari total produksi dunia sebesar 122.134.000 ton/tahun. Luas areal penanaman dan

produksi ubi kayu meningkat dari 1,3 juta hektar dengan produksi 13,3 juta ton pada tahun 1990 menjadi 1,8 juta hektar dengan produksi 19,4 juta ton pada tahun 1995 (www.wikipedia.com).

Kulit umbi ubi kayu termasuk salah satu bahan pakan ternak yang mempunyai energi (*Total Digestible Nutrient* = TDN) tinggi dan masih mengandung bahan-bahan organik seperti karbohidrat, protein, lemak, dan mineral. Bahan-bahan organik ini dapat digunakan sebagai bahan dasar potensial untuk proses biokonversi oleh mikroba, antara lain dengan memanfaatkan kulit umbi ubi kayu sebagai substrat pertumbuhan mikroba untuk memproduksi protein sel tunggal melalui proses fermentasi (Rukmana, 1997).

Proses fermentasi dapat meningkatkan kandungan energi dan protein, serta dapat menurunkan kandungan sianida dan kandungan serat kasar yang dapat meningkatkan daya cerna bahan makanan berkualitas rendah. Dalam proses fermentasi, mikroba yang digunakan akan menghasilkan enzim yang akan mendegradasi senyawa-senyawa kompleks menjadi lebih sederhana dan mikroba akan mensintesis protein yang merupakan proses *protein enrichment* yaitu pengkayaan protein bahan (Darmawan, 2006).

Fermentasi padat dengan substrat kulit umbi ubi kayu dilakukan untuk meningkatkan kandungan protein dan mengurangi masalah limbah pertanian. Produk fermentasi selanjutnya dapat digunakan sebagai bahan pakan atau suplemen produk pangan alternatif (Muhiddin, 2001). Pada penelitian ini akan dilakukan percobaan dengan memanfaatkan kulit umbi ubi kayu sebagai substrat yang terlebih dahulu dikeringkan kemudian digiling menjadi tepung dalam proses fermentasi padat menggunakan ragi tape sebagai inokulum.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji karakteristik substrat kulit umbi ubi kayu dan menentukan kondisi optimum nutrisi substrat pada fermentasi padat kulit umbi ubi kayu menggunakan *Response Surface Methods* (RSM).

2. Metodologi

2.1 Bahan dan Alat yang Digunakan

Bahan dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit umbi ubi kayu dengan menggunakan inokulum ragi tape. Sedangkan bahan pembantu yang digunakan adalah : vitamin B₁, aquadest, alkohol, (NH₄)₂SO₄, (NH₄)NO₃, (NH₄)₂HPO₄, Urea (NH₂)₂CO, H₃BO₃, HCl, CuSO₄.5H₂O, H₂SO₄, NaOH, K₂SO₄.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah : labu Erlenmeyer 250 ml, bunsen, gelas kimia (50, 100, 250, 500, 1000 ml), buret, oven, corong, batang pengaduk, timbangan elektrik, kompor, labu takar (50, 100, 1000 ml), tabung reaksi, pipet hisap (5 ml, 10 ml), beaker glass, inkubator, neraca analitis.

2.2 Metode Penelitian

Pada penelitian ini digunakan *central composite design* (CCD) untuk mengetahui kondisi optimum dari variabel bebas yang termasuk dalam metode RSM untuk menentukan rentang dan level masing-masing variabel serta rancangan percobaan. Variabel bebas yang dipilih dalam penelitian ini adalah : jumlah vitamin B₁, kadar air dan rasio C/N. Rancangan percobaan serta batasan level yang digunakan untuk tiap variabel bebas ditunjukkan dalam Tabel 1, Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 1. Rancangan Percobaan 2³ Full factorial central composite design

Run	Kode Variabel		
	X ₁	X ₂	X ₃
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	+1
3	-1	+1	-1
4	-1	+1	+1
5	+1	-1	-1
6	+1	-1	+1
7	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1
9	-1,68	0	0
10	+1,68	0	0
11	0	-1,68	0
12	0	+1,68	0
13	0	0	-1,68
14	0	0	+1,68
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0

Keterangan : (-1) = level bawah (-1,68) = star point pada level bawah
(+1) = level atas (+1,68) = star point pada level atas (0) = centre point

Tabel 2. Range dan level percobaan dari variabel bebas

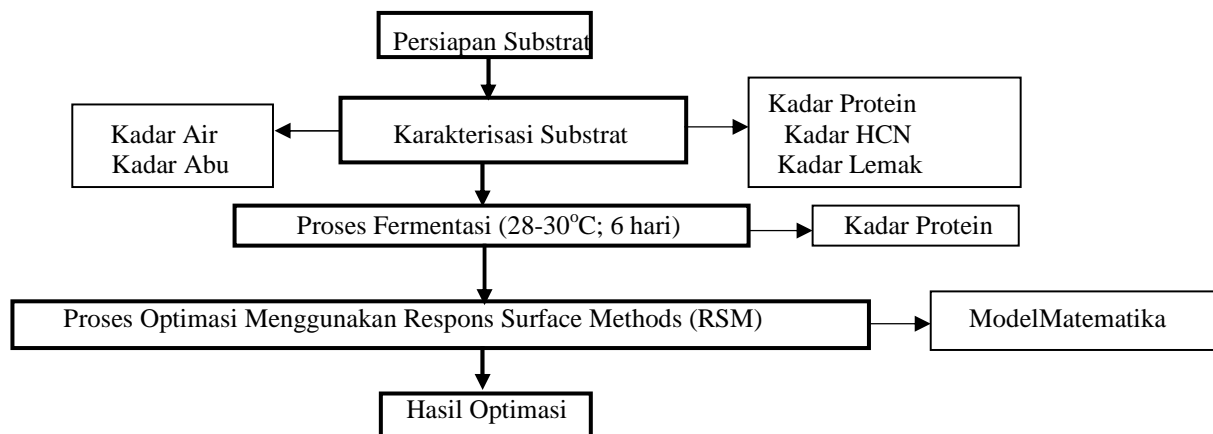
X, Variabel	Level Variabel				
	-1,68	-1	0	+1	+1,68
X ₁ , Vitamin B (%)	0,0079	0,0087	0,0100	0,0112	0,0121
X ₂ , Kadar air	56,6	60	65	70	73,4
X ₃ , Rasio C/N	6,6/1	10/1	15/1	20/1	23,4/1

Tabel 3. Matriks Rancangan percobaan 2³ full factorial central composite design

Run	Variabel Bebas		
	Berat Vitamin B ₁ (%)	Kadar Air (%)	Rasio C/N
1	0,0087	60,0	10,0
2	0,0087	60,0	20,0
3	0,0087	70,0	10,0
4	0,0087	70,0	20,0
5	0,0112	60,0	10,0
6	0,0112	60,0	20,0
7	0,0112	70,0	10,0
8	0,0112	70,0	20,0
9	0,0079	65,0	15,0
10	0,0121	65,0	15,0
11	0,0100	56,6	15,0
12	0,0100	73,4	15,0
13	0,0100	65,0	6,6
14	0,0100	65,0	23,4
15	0,0100	65,0	15,0
16	0,0100	65,0	15,0
17	0,0100	65,0	15,0
18	0,0100	65,0	15,0

Penelitian dilakukan pada suhu kamar (28-30°C), waktu fermentasi 6 hari dengan berat substrat 17,1 gr dan ragi tape 0,3 gr. Tahap pertama dari penelitian ini adalah persiapan substrat dengan mengambil bagian dalam kulit umbi ubi kayu kemudian dicuci bersih dan dipotong – potong kecil kemudian dijemur sampai kering dan digiling menjadi tepung. Sedangkan ragi tape sebelum digunakan digerus sampai halus. Sebelum proses fermentasi dilakukan, karakterisasi substrat meliputi: kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar HCN, dan kadar lemak. Adapun langkah-langkah dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 1.

Tahap optimasi yang dilakukan meliputi : sterilisasi, fermentasi dan analisa kadar protein. Sterilisasi dilakukan dengan disiapkan erlenmeyer sejumlah 18 buah, ditimbang substrat sebanyak 17,1 g, ditentukan rasio C:N dan kadar air berdasarkan Tabel 3 kemudian dimasukkan bahan-bahan kedalam masing-masing erlenmeyer, serta ditutup dengan kapas dan aluminium foil pada masing-masing erlenmeyer. Erlenmeyer yang berisi bahan kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Fermentasi dilakukan dengan ditambahkan vitamin B₁ (Tabel 3) dan ragi tape sebanyak 0,3 g. Fermentasi dilakukan selama 6 hari secara aerob. Analisa kadar protein dilakukan dengan pengambilan sampel setiap 24 jam pada setiap erlenmeyer sebanyak dua kali.



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian

3. Hasil dan Pembahasan

Tahap percobaan ini bertujuan untuk mengetahui nilai optimum dari tiga peubah bebas, yaitu: jumlah vitamin B₁, rasio C/N, kadar air substrat yang memberikan *yield* persentase kadar protein tertinggi. Proses optimasi variabel dilakukan berdasarkan rancangan percobaan 2^3 full factorial central composite design, ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rancangan percobaan 2^3 full factorial central composite design dan hasil percobaan

Run	Variabel Bebas			Yield Kadar Protein (%)
	Berat Vitamin B ₁ (%)	Kadar Air (%)	Rasio C/N	
1	0,0087	60,0	10,0	24,73
2	0,0087	60,0	20,0	26,12
3	0,0087	70,0	10,0	28,56
4	0,0087	70,0	20,0	33,22
5	0,0112	60,0	10,0	25,93
6	0,0112	60,0	20,0	26,50
7	0,0112	70,0	10,0	32,23
8	0,0112	70,0	20,0	32,23
9	0,0079	65,0	15,0	28,01
10	0,0121	65,0	15,0	32,99
11	0,0100	56,6	15,0	25,72
12	0,0100	73,4	15,0	29,12
13	0,0100	65,0	6,6	28,28
14	0,0100	65,0	23,4	27,43
15	0,0100	65,0	15,0	36,40
16	0,0100	65,0	15,0	35,96
17	0,0100	65,0	15,0	35,41
18	0,0100	65,0	15,0	35,00

Model matematika *second order (quadratic) polynomial* untuk tiga faktor dari persentase yield kadar protein pada percobaan ini diperoleh melalui analisa regresi menggunakan program Statistika 6 seperti ditunjukkan pada persamaan (1) :

$$Y = 35,6026 + 0,9761 X_1 + 2,0996 X_2 + 0,3921 X_3 - 1,6906 X_1^2 - 2,7998 X_2^2 - 2,6457 X_3^2 - 0,1067 X_1X_2 - 0,7024 X_1X_3 + 0,3375 X_2X_3 \dots\dots\dots (Persamaan 1)$$

Dimana :

- Y : yield kadar protein X₂: kadar air (%)
- X₁ : berat vitamin B1 X₃ : rasio C/ N

Keakuratan model ini dapat diketahui dari harga efisien determinasi, R², yang mencapai 0,912974. Dari harga R² ini dapat disimpulkan bahwa nilai yang diperkirakan dengan model mendekati nilai yang diperoleh dari hasil percobaan. Ini menandakan bahwa 91,297 % dari total variasi pada hasil yang diperoleh terwakili dalam model. Keakuratan model ini juga dapat diketahui dari hasil ANOVA seperti ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Tabel ANOVA untuk fermentasi kulit umbi ubi kayu

Sumber Variasi	SS	Df	MS	F-value
SS regresi	283,3598	9	31,4844	10,9003
SS error	23,1070	8	2,8884	
SS total	265,5168	17		
R ²	0,91297			

$$F_{\text{value}} = \frac{MS_{\text{regresi}}}{MS_{\text{error}}} = \frac{31,4844}{2,8884} = 10,9003$$

Nilai F hasil perhitungan sebesar 10,9003 lebih besar dibandingkan nilai F tabel ($F_{0.05; 9,8} = 3,39$). Nilai F ini secara statistik menunjukkan regresi yang signifikan pada level 5 %. Signifikansi koefisien regresi terhadap model disajikan dalam Tabel 4.3, dimana suku yang terdiri dari satu faktor menunjukkan efek linier, sedangkan suku yang terdiri dari dua faktor menunjukkan efek interaksi antara dua faktor (variabel). Suku yang berpangkat dua menunjukkan efek kuadratik terhadap hasil. Nilai p dan t digunakan untuk mengetahui signifikan atau tidaknya masing – masing suku. Semakin kecil nilai p, semakin signifikan harga koefisiennya, dan semakin berperan terhadap hasil yang diperoleh.

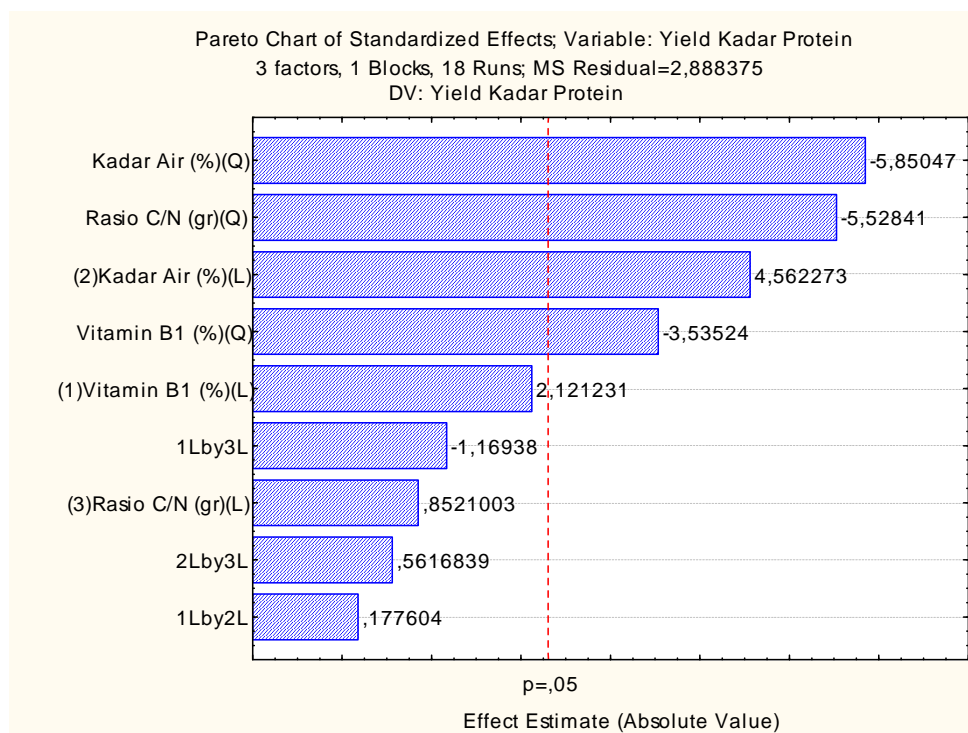
Tabel 6. Efek Koefisien Regresi terhadap model

Faktor	Koefisien	t-value	p-value
X_1	0,9761	2,1212	0,0667
X_1^2	-1,6906	-3,5352	0,0077
X_2	2,0996	4,5623	0,0018
X_2^2	-2,7998	-5,8505	0,0004
X_3	0,3921	0,8521	0,4189
X_3^2	-2,6457	-5,5284	0,0006
$X_1 \times X_2$	0,1067	0,1776	0,8634
$X_1 \times X_3$	-0,7024	-1,1694	0,2759
$X_2 \times X_3$	0,3375	0,5617	0,5897

Pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa suku kuadratik % kadar air (X_2^2) memberikan efek terbesar pada proses fermentasi dengan tingkat kepercayaan 99 % yang ditandai dengan nilai p terkecil ($0,0004 < 0,01$) dan nilai absolut t terbesar (5,8505). Suku rasio C/N kuadratik (X_3^2) menunjukkan efek yang lebih kecil diketahui dari nilai p yang lebih besar dan nilai absolut t yang lebih kecil dari suku kuadratik % kadar air dengan tingkat kepercayaan 99 %. Berikutnya yaitu suku % kadar air linier (X_2) kemudian diikuti suku berat vitamin B₁ kuadratik (X_1^2) dengan tingkat kepercayaan 99 % dimana nilai p < 0,01 dan suku berat vitamin B₁ (X_1) dengan nilai p < 0,07 dengan tingkat kepercayaan 93 %.

Secara umum pengaruh variabel bebas terhadap persentase yield (% kadar protein) dari tinggi ke rendah berdasarkan nilai t dan p adalah persen kadar air, rasio C/N dan berat vitamin B₁.

Hasil persentase yield (% kadar protein) sebesar 36,40 % yang merupakan persentase maksimal yang dapat dicapai dengan variabel proses yang optimum yaitu berat vitamin B₁ (X_1) 0,0100 %; kadar air (X_2) 65 %; rasio C/N (X_3) 15.



Gambar 2. Diagram pareto untuk menentukan variabel yang paling berpengaruh dalam fermentasi kulit umbi ubi kayu.

Hasil analisa kadar asam sianida dalam kulit umbi ubi kayu ditunjukkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Analisa kadar asam sianida pada produk fermentasi tahap verifikasi

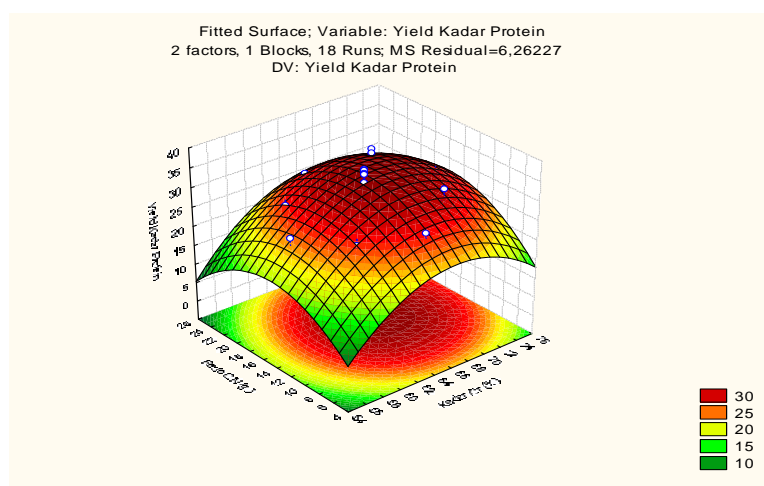
No	Bahan	Kadar HCN (%)
1	Tepung kulit umbi ubi kayu	0,024
2	Hasil fermentasi tepung kulit umbi ubi kayu	0,009

Hasil analisa asam sianida pada Tabel 7 menunjukkan bahwa proses fermentasi dapat menurunkan kadar asam sianida bahan (substrat). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ofuya dan Obilor (1993) dan Darmawan (2006) yang menyatakan bahwa proses fermentasi dapat mendetoksifikasi racun sianida. Adapun klasifikasi kandungan asam sianida pada umbi ubi kayu adalah sebagai berikut:

- Kandungan Asam Sianida 0,025 % : tidak berbahaya
- Kandungan Asam Sianida 0,025 – 0,040 % : sedikit beracun
- Kandungan Asam Sianida 0,040 – 0,050 % : beracun
- Kandungan Asam Sianida > 0,050 % : amat beracun

3.1 Pengaruh Kadar Air dan Rasio C/N Terhadap Yield

Pengaruh kadar air dan rasio C/N terhadap *yield* (% kadar protein) pada proses fermentasi kulit umbi ubi kayu ditampilkan pada grafik optimasi tiga dimensi serta grafik kontur permukaan pada Gambar 3.



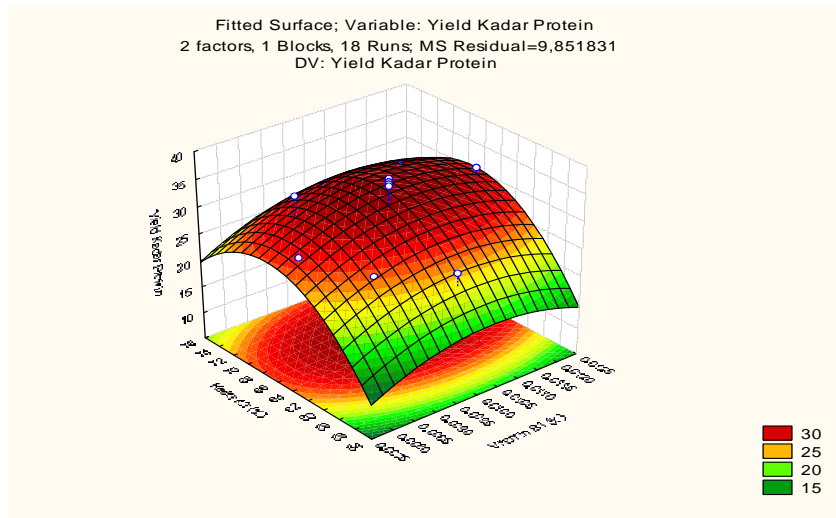
Gambar 3. Grafik pengaruh kadar air dan rasio C/N terhadap yield

Gambar 3 menunjukkan % *yield* dengan variasi % kadar air dan rasio C/N. Kedua gambar tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar air maka % *yield* kadar protein semakin besar. Hal ini dikarenakan air merupakan komponen yang sangat penting bagi pertumbuhan mikroba, namun pada kadar air di atas 65 % persentase *yield* menurun. Hal ini dikarenakan pada sistem fermentasi padat, kadar air yang tinggi akan menurunkan porositas substrat yang mengakibatkan penurunan pertukaran oksigen, penurunan difusi oksigen, dan penurunan volume oksigen dalam substrat; serta dapat meningkatkan resiko kontaminasi dengan bakteri. Kisaran kadar air optimal sistem fermentasi padat adalah 50 – 75 %.

Peppler dan Perlman (1979) menyatakan bahwa agar dihasilkan kadar protein yang tinggi, rasio C/N pada pertumbuhan *yeast* adalah 7 sampai 10 dan pada pertumbuhan *mold* dan *fungi* adalah 20. Hasil percobaan menunjukkan bahwa *yield* % kadar protein optimum dicapai pada nilai rasio C/N 15. Hal ini disebabkan karena ragi tape yang digunakan mengandung multi kultur mikroba yaitu *Saccharomyces cereviceae*, *Rhizopus*, *Aspergillus terreus*, dan *Aspergillus fumigatus*. Peppler dan Perlman (1979) juga menyatakan bahwa rasio C/N substrat antara 5 – 15 lebih banyak digunakan.

3.2. Pengaruh Kadar Air dan Berat Vitamin B₁ Terhadap Yield

Pengaruh kadar air dan berat vitamin B₁ terhadap *yield* (% kadar protein) pada proses fermentasi kulit umbi ubi kayu ditampilkan pada grafik optimasi tiga dimensi serta grafik kontur permukaan yang tertera pada Gambar 4.

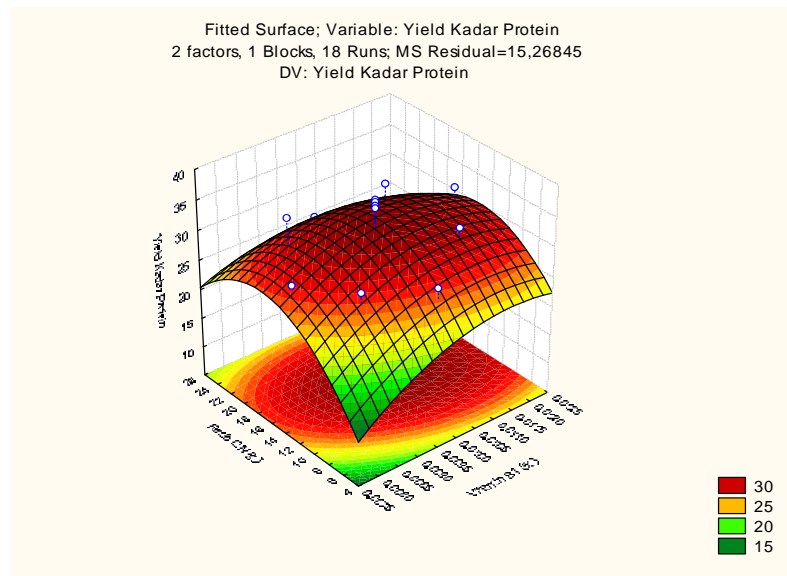


Gambar 4. Grafik pengaruh kadar air dan berat vitamin B₁ terhadap *yield*

Penambahan vitamin B₁ dalam substrat fermentasi dapat mendorong pertumbuhan mikroba, sehingga berpengaruh terhadap % kadar protein substrat. Gambar 4 menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah vitamin B₁ maka *yield* yang dihasilkan juga semakin besar, namun pada jumlah vitamin B₁ lebih dari 0,0100 % persentase *yield* menurun. Hal ini dikarenakan vitamin B₁ merupakan koenzim yang diperlukan dalam metabolisme energi, namun pemakaian vitamin B₁ yang berlebihan dapat mengganggu proses metabolisme pada makhluk hidup.

3.3. Pengaruh Rasio C/N dan Berat Vitamin B₁ Terhadap Yield

Pengaruh rasio C/N dan berat vitamin B₁ terhadap *yield* (% kadar protein) pada proses fermentasi kulit umbi ubi kayu ditampilkan pada grafik optimasi tiga dimensi serta grafik kontur permukaan yang ditunjukkan pada Gambar 5. *Yield* persentase kadar protein maksimal dicapai pada harga rasio C/N 15 dan berat vitamin B₁ 0,0100 %.



Gambar 5. Grafik pengaruh rasio C/N dan berat vitamin B₁ terhadap *yield*



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur atas limpahan rahmat, hidayah dan karunia Allah SWT, sehingga Penyusun dapat menyelesaikan Laporan Penelitian dengan judul “Optimasi Penambahan Nutrien Terhadap Kadar Protein Pada Fermentasi Padat Kulit Umbi Ubi Kayu Menggunakan *Response Surface Methods* (RSM)”. Penyusun mengucapkan banyak terima kasih kepada Dr. Ir. Abdullah, MS selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang dan Dosen Pembimbing, Ir. Hantoro Satriadi, MT selaku Dosen wali, Dr. Ir. Didi Dwi Anggoro, M.Eng selaku koordinator Penelitian, Staf Pengajar dan Staf Laboratorium Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu kelancaran administrasi dalam pelaksanaan Penelitian, Bapak dan Ibu tercinta atas doa, kasih sayang dan dukungannya baik secara moril maupun materiil, Teman – teman seangkatan 2008 Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang, serta Semua pihak yang telah membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- Biles WE. and Swain JJ. *Optimization and Industrial Experimentation*. New York : John Wiley and Sons.
- Buchta K. *Lactic acid*. in Rehm HJ. *Biotechnology*. Germany : VCH. Verlag, 1983; 3 : 409-417.
- Burtis CA. Bostick WD. Overton JB. and Mrocheek JE “ *Optimisation of a Kinetic by Response Surface Methodology and Centrifugal Analysis and Application to the Enzymatic Measurement of Ethanol*”, *Analytical Chemistry*, 1981; 53 : 1154 – 1159.
- Buyukgungor H. Akzu Z. Kutzal T. and Caglar A. *The Production of Lactic Acid by Free and Immobilized Lactobacillus delbrueckii in Stirrer and Column Reactor*, in Thirds European Congress on Biochemistry. Germany : VHC. Verlag Weinheim, 1984; 2 ; 163-169.
- Fardiaz S. *Fisiologi Fermentasi*. Pusat antar universitas Institut Pertanian Bogor, 1988 : 171-183.
- Fardiaz S. *Mikrobiologi Pangan*. Lembaga Sumberdaya Informasi Institut Pertanian Bogor, 1987 : 49-57.
- Haaland PD. *Experimental Design in Biotechnology*. New York : Marcel Dekker Inc., 1989.
- Judoamidjojo RM. Sa'id EG. dan Hartoto L. *Biokonversi*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor, 1989 : 1-241.
- Karthikeyan RS. Rakshit SK. and Baradorajan A. *Optimisation of Batch Fermentation conditions for Dextran Production*”, *Bioprocess Engineering*, 1996; 15 : 247-251.
- Machuca A. and Duran N. “*Optimisation of Some Parameters Influencing Thermoascus Aurantiacus Growth*”, *Journal of Industrial Microbiology*, 1996; 16 : 224-229.
- Myers RH. *Response surface Methodology*. Bustoan : Allyn and Bacon, 1971.
- Peppler HJ. and Perlman D. *Microbial Technology*. 2nd ed. Vol. 1. New York : Academic Press, 1979 : 93-146.
- Posten CH. and Cooney CL. *Growth Microorganism*. in Rehm HJ. And Reed G. *Biotechnology : Biological Fundamentals*. New York : VHC. Verlag Weinheim, 1993; 1 : 127-145.
- Purnama H. dan Adiono . *Ilmu Pangan*. Jakarta : UI Press, 1987 : 106-109.
- Rachman A. *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor, 1989 : 88-92.
- Rukmana R. *Ubi Kayu Budi Daya dan Pascapanen*. Yogyakarta: Kanisius, 1997 : 11-35.
- Sen R. “*Response Surface Optimisation of The Critical Media Components for The Production of Surfactin*”, *Enzyme Microb. Technology*, 1997; 68 : 263-270.
- Suliantari dan Rahayu WP. *Teknologi Fermentasi Umbi-Umbian dan Biji-Bijian*. Depdikbud Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB, 1990:46-55.
- Stanbury PF. and Whitaker A. *Principles of Fermentation Technology*. New York : Pergamon Press, 1989:11-86.