



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN PENGUJIAN KEMAMPUAN  
KAPANG SELULOLITIK DARI MANUSKRIP KUNO  
KERTAS DALUANG ASAL KERATON KASEPUHAN  
CIREBON**

**SKRIPSI**

**EDVAN ARIFSAPUTRA SUHERMAN  
0806453163**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN PENGUJIAN KEMAMPUAN  
KAPANG SELULOLITIK DARI MANUSKRIP KUNO  
KERTAS DALUANG ASAL KERATON KASEPUHAN  
CIREBON**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

**EDVAN ARIFSAPUTRA SUHERMAN  
0806453163**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JUNI 2012**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Edvan Arifsaputra Suherman  
NPM : 0806453163  
Tanda tangan :   
Tanggal : 25 Juni 2012

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Edvan Arifsaputra Suherman  
NPM : 0806453163  
Program Studi : S1 Biologi  
Judul Skripsi : Isolasi, Identifikasi, dan Pengujian Kemampuan Kapang Selulolitik dari Manuskrip Kuno Kertas Daluang asal Keraton Kasepuhan Cirebon

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Pengaji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Ariyanti Oetari, Ph.D. (  )  
Pengaji I : Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D. (  )  
Pengaji II : Dian Hendrayanti, M.Sc. (  )  
Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 25 Juni 2012

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur yang sedalam-dalamnya penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala kasih, kekuatan, penyertaan, dan penghiburan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Ariyanti Oetari, Ph.D. selaku pembimbing penelitian atas bimbingan, ilmu, pikiran, dan waktu yang telah diberikan selama penelitian hingga penulisan skripsi.
2. Hibah Riset Unggulan Bidang Prioritas (RUBP) *Indigenous Studies* Universitas Indonesia tahun 2010 atas nama Ariyanti Oetari, Ph.D. yang telah membiayai penelitian ini.
3. Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D. dan Dian Hendrayanti, M.Sc. selaku penguji atas ilmu dan saran yang telah diberikan.
4. Dr. Abinawanto selaku Penasihat Akademik atas perhatian dan dukungan selama penulis menjalankan perkuliahan.
5. Dr.rer.nat. Mufti Petala Patria, M.Sc. selaku Ketua Departemen Biologi dan Dra. Nining Betawati Prihantini, M.Sc. selaku Sekretaris Departemen Biologi.
6. Dr. Wibowo Mangunwardoyo dan Dra. Setiorini, M.Kes. sebagai koordinator seminar yang telah mengatur registrasi dan pelaksanaan usulan penelitian dan seminar.
7. Dr. Tamara Susetyo-Salim yang telah membantu dalam pemilihan manuskrip kuno kertas daluang sebagai sumber pengambilan sampel kapang di Keraton Kasepuhan Cirebon.
8. Sultan Sepuh Ke-19 (XIX) Kesultanan Keraton Kasepuhan Cirebon atas izin yang telah diberikan kepada penulis untuk melakukan pengambilan sampel kapang dari manuskrip kuno kertas daluang di Keraton Kasepuhan Cirebon.
9. Ahmad Supriadi, S.Ip. atas bantuan dan dukungannya selama penelitian dan Asri Martini, S.Si. atas bantuannya memeriksa kelengkapan usulan penelitian, seminar, dan sidang.

10. Kedua orang tuaku, Tatang Hartono Suherman dan Lina Indahsari Adikarta, serta nenekku, Rusani, atas doa dan kasih sayang yang selalu diberikan.
11. Kakakku, Alex Lukmanto Suherman, dan Adikku, Robby Pranajaya Suherman, atas doa yang telah diberikan.
12. Alvin, Dessy, dan Michelle sebagai teman kelompok penelitian atas kerja sama, semangat, dan canda-tawa selama penelitian hingga penulisan skripsi.
13. Kak Dafina, Kak Irvan, Mbak Dalia, Mbak Reno, dan Bu Retno atas ilmu, saran, motivasi, dan bantuannya selama penelitian.
14. Roni Wongso atas doa dan motivasi yang telah diberikan.
15. Achmad Rizky, Cynthia, Dhian, Fathia, Grand, Hanum, Nur Amalina, Nur El Fadila, Oktarina, Rusli, Savitry, Sentot, Seyla, Kak Bregas, Kak Dachniar, dan Kak Fahreza atas kebersamaan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium CoE IBR-GS.
16. Teman-teman Biosentris atas kebersamaan, perhatian, dan motivasinya.  
Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Depok, 25 Juni 2012

Penulis

## HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Edvan Arifsaputra Suherman  
NPM : 0806453163  
Program Studi : S1  
Departemen : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Isolasi, Identifikasi, dan Pengujian Kemampuan Kapang Selulolitik dari Manuskrip Kuno Kertas Daluang asal Keraton Kasepuhan Cirebon.

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok  
Pada tanggal : 25 Juni 2012

Yang menyatakan



(Edvan Arifsaputra Suherman)

## **ABSTRAK**

Nama : Edvan Arifsaputra Suherman  
Program Studi : Biologi  
Judul : Isolasi, Identifikasi, dan Pengujian Kemampuan Kapang Selulolitik dari Manuskrip Kuno Kertas Daluang asal Keraton Kasepuhan Cirebon

Telah dilakukan penelitian untuk memperoleh, mengidentifikasi, dan menguji kemampuan kapang-kapang selulolitik dari empat manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan di Cirebon. Sebanyak 12 isolat kapang diperoleh dan dapat tumbuh pada potongan kertas daluang. Enam isolat kapang memiliki kemampuan selulolitik karena menghasilkan zona bening pada medium *Czapek's Dox Agar* (CDA) dengan penambahan *Carboxymethyl Cellulose* (CMC). Identifikasi secara konvensional menghasilkan genus *Aspergillus* (4 isolat), genus *Eurotium* (1 isolat), dan genus *Penicillium* (7 isolat). Jumlah isolat paling banyak diperoleh dari manuskrip kuno dengan kondisi paling buruk.

Kata Kunci : *Aspergillus*, daluang, *Eurotium*, fungi selulolitik, manuskrip, *Penicillium*.

xiv + 91 halaman; 45 gambar; 17 tabel; 8 lampiran  
Daftar Acuan : 71 (1966--2012)

## **ABSTRACT**

Name : Edvan Arifsaputra Suherman  
Study Program : Biology  
Title : Isolation, Identification, and Investigation of Cellulolytic Fungi from Old Manuscripts of Daluang Papers from Keraton Kasepuhan Cirebon

This research was to obtain, identify, and investigate cellulolytic fungi from four old manuscripts of daluang papers from Keraton Kasepuhan Cirebon. Twelve mould isolates were obtained and were able to grow on daluang paper. Six mould isolates were able to use Carboxymethyl Cellulose (CMC) as substrate which was indicated by clear zone formed on Czapek's Dox Agar (CDA) medium added with CMC. Conventional identification resulted in the genus *Aspergillus* (4 isolates), *Eurotium* (1 isolate), and *Penicillium* (7 isolates). Highest number of isolates was obtained from the old manuscript with the worst condition.

Keywords : *Aspergillus*, cellulolytic fungi, daluang, *Eurotium*, manuscript, *Penicillium*.

xiv + 91 pages; 45 pictures; 17 tables; 8 attachments

Bibliography : 71 (1966--2012)

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
<b>1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>9</b>
2.1. Fungi.....	9
2.2. Kertas Daluang.....	12
2.3. Koleksi Manuskrip Kuno Kertas Daluang di Keraton Kasepuhan, Cirebon.....	14
2.4. Konservasi dan Preservasi Manuskrip Kuno.....	14
2.5. Selulase.....	16
2.6. Metode Pengujian Kemampuan Mikroorganisme Selulolitik.....	18
2.7. Identifikasi Kapang secara Konvensional.....	19
<b>3. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>22</b>
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	22
3.2. Alat.....	22
3.3. Bahan.....	22
3.3.1. Mikroorganisme .....	22
3.3.2. Medium .....	23
3.3.3. Bahan Kimia.....	23
3.3.4. Bahan Habis Pakai .....	23
3.4. Cara Kerja .....	23
3.4.1. Pembuatan Medium.....	24
3.4.1.1. <i>Dichloran 18% Glycerol (DG18)</i> .....	24
3.4.1.2. <i>Potato Dextrose Agar (PDA)</i> .....	24
3.4.1.3. <i>Plate Count Agar (PCA)</i> .....	24
3.4.1.4. <i>Czapek's Dox Agar (CDA)</i> Tanpa Sumber Karbon.....	25
3.4.1.5. Medium CDA dengan Penambahan <i>Carboxymethyl Cellulose (CMC)</i> .....	25
3.4.2. Pengambilan Sampel Kapang dari Manuskrip Kuno Kertas Daluang.....	25
3.4.3. Isolasi Kapang.....	26
3.4.4. Pemurnian.....	28

3.4.5. Pembuatan <i>Stock Culture</i> dan <i>Working Culture</i> .....	29
3.4.6. Penghitungan Jumlah Sel Kapang dalam Suspensi.....	29
3.4.7. Pengujian Kemampuan Isolat-isolat Kapang Menggunakan Medium CDA dengan Substrat Kertas Daluang.....	30
3.4.8. Pengujian Kemampuan Isolat-isolat Kapang Menggunakan Medium CDA dengan Penambahan <i>Carboxymethyl Cellulose</i> (CMC).....	31
3.4.9. Identifikasi Kapang secara Konvensional Berdasarkan Karakter Morfologi.....	31
3.5. Pengolahan dan Analisis Data.....	32
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>33</b>
4.1. Pengambilan Sampel Kapang dari Manuskrip Kuno Kertas Daluang..	33
4.2. Isolasi Kapang dari Manuskrip Kuno Kertas Daluang.....	34
4.3. Persiapan Inokulum untuk Pengujian Kemampuan Kapang Selulolitik.....	39
4.4. Pengujian Isolat-isolat Kapang Menggunakan Medium CDA dengan Substrat Kertas Daluang.....	39
4.5. Pengujian Isolat-isolat Kapang Menggunakan Medium CDA dengan Penambahan <i>Carboxymethyl Cellulose</i> (CMC).....	41
4.6. Identifikasi Kapang secara Konvensional Berdasarkan Karakter Morfologi.....	46
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>78</b>
5.1. Kesimpulan.....	78
5.2. Saran.....	78
<b>DAFTAR ACUAN.....</b>	<b>79</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.(1).	Keraton Kasepuhan di Cirebon.....	2
Gambar 1.(2).	Kerusakan oleh fungi pada manuskrip kuno kertas daluang Kitab Adabul Muta'alimin asal Keraton Kasepuhan, Cirebon.....	4
Gambar 1.(3).	Kerusakan oleh fungi pada manuskrip kuno kertas daluang Kitab Dusut asal Keraton Kasepuhan, Cirebon.....	4
Gambar 1.(4).	Bercak-bercak cokelat yang dihasilkan fungi pada lembaran Kitab Dusut asal Keraton Kasepuhan, Cirebon.....	5
Gambar 1.(5).	Kerusakan oleh fungi pada manuskrip kuno kertas daluang Kitab Path Rohman asal Keraton Kasepuhan, Cirebon.....	5
Gambar 1.(6).	Spora-spora fungi (A) dan noda cokelat (B) pada lembaran Kitab Path Rohman asal Keraton Kasepuhan, Cirebon.....	6
Gambar 1.(7).	Kerusakan oleh fungi pada manuskrip kuno kertas daluang Kitab Tauhid asal Keraton Kasepuhan, Cirebon.....	6
Gambar 2.5.	Struktur selulosa.....	16
Gambar 2.6.	Struktur <i>carboxymethyl cellulose</i> (CMC).....	19
Gambar 2.7.(1).	Tipe spora pada kapang teleomorf.....	20
Gambar 2.7.(2).	Tipe konidia pada beberapa genus dari fungi.....	20
Gambar 2.7.(3).	Tipe hifa berdasarkan keberadaan septa.....	21
Gambar 3.4.2.	Bagian-bagian manuskrip kuno yang dioleskan <i>cotton bud</i> steril dalam pengambilan sampel kapang.....	26
Gambar 3.4.3.	Ilustrasi peletakan sampel kapas pada cawan Petri.....	28
Gambar 3.4.4.	<i>Quadrant streak</i> .....	29
Gambar 4.2.	Pertumbuhan koloni kapang di sekitar kapas hasil pengambilan sampel di medium PCA setelah 2–6 hari diinkubasi pada suhu 27°C.....	37
Gambar 4.4.	Hasil pengujian (A) suspensi kapang uji, (B) akuades, (C) suspensi <i>Aspergillus niger</i> UICC 371, dan (D) suspensi <i>Rhizopus oryzae</i> UICC 24B pada potongan kertas daluang steril di medium CDA tanpa sumber karbon, pada suhu 27°C, hari ke-6.....	40
Gambar 4.5.	Variasi tingkat kebeningan zona bening dari enam isolat kapang berbeda di medium CDA dengan penambahan CMC pada suhu 27°C.....	45
Gambar 4.6.1.(1).	Tipe seriasi pada <i>Aspergillus</i> .....	47
Gambar 4.6.1.(2).	Struktur <i>Aspergillus</i> sp. KAM8 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	48
Gambar 4.6.1.(3).	Koloni <i>Aspergillus</i> sp. KAM8 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	49
Gambar 4.6.1.(4).	Struktur <i>Aspergillus</i> sp. KD3A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	50
Gambar 4.6.1.(5).	Koloni <i>Aspergillus</i> sp. KD3A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	51

Gambar 4.6.1.(6).	Struktur <i>Aspergillus</i> sp. KD5C umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	52
Gambar 4.6.1.(7).	Koloni <i>Aspergillus</i> sp. KD5C umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	53
Gambar 4.6.1.(8).	Struktur <i>Aspergillus</i> sp. KT5 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	54
Gambar 4.6.1.(9).	Koloni <i>Aspergillus</i> sp. KT5 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	55
Gambar 4.6.2.(1).	<i>Cleistothecium</i> berbentuk semibulat dengan askus-askus di bagian dalam pada <i>Eurotium</i> .....	56
Gambar 4.6.2.(2).	Struktur <i>Eurotium</i> sp. KD5A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	58
Gambar 4.6.2.(3).	Koloni <i>Eurotium</i> sp. KD5A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	58
Gambar 4.6.3.(1).	Struktur dan tipe-tipe percabangan pada <i>Penicillium</i> .....	60
Gambar 4.6.3.(2).	Struktur <i>Penicillium</i> sp. KAM4 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	61
Gambar 4.6.3.(3).	Koloni <i>Penicillium</i> sp. KAM4 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	62
Gambar 4.6.3.(4).	Struktur <i>Penicillium</i> sp. KD1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	63
Gambar 4.6.3.(5).	Koloni <i>Penicillium</i> sp. KD1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	64
Gambar 4.6.3.(6).	Struktur <i>Penicillium</i> sp. KD3B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	65
Gambar 4.6.3.(7).	Koloni <i>Penicillium</i> sp. KD3B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	66
Gambar 4.6.3.(8).	Struktur <i>Penicillium</i> sp. KD5B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	67
Gambar 4.6.3.(9).	Koloni <i>Penicillium</i> sp. KD5B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	68
Gambar 4.6.3.(10).	Struktur <i>Penicillium</i> sp. KD7 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	69
Gambar 4.6.3.(11).	Koloni <i>Penicillium</i> sp. KD7 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	70
Gambar 4.6.3.(12).	Struktur <i>Penicillium</i> sp. KPR1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	71
Gambar 4.6.3.(13).	Koloni <i>Penicillium</i> sp. KPR1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	72
Gambar 4.6.3.(14).	Struktur <i>Penicillium</i> sp. KPR3 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	73
Gambar 4.6.3.(15).	Koloni <i>Penicillium</i> sp. KPR3 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27° C.....	74

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Kondisi fisik dari empat manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon.....	33
Tabel 4.2.	Hasil pengamatan isolasi kapang dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon, di medium PCA pada suhu 27°C.....	38
Tabel 4.4.	Hasil pengujian isolat-isolat kapang pada medium CDA dengan substrat kertas daluang setelah inkubasi pada suhu 27°C selama enam hari.....	41
Tabel 4.5.	Hasil pengujian isolat-isolat kapang menggunakan medium CDA dengan penambahan CMC, inkubasi pada suhu 27°C selama 24 jam.....	43
Tabel 4.6.1.(1).	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Aspergillus</i> sp. KAM8 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	48
Tabel 4.6.1.(2).	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Aspergillus</i> sp. KD3A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	50
Tabel 4.6.1.(3).	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Aspergillus</i> sp. KD5C umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	52
Tabel 4.6.1.(4).	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Aspergillus</i> sp. KT5 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	54
Tabel 4.6.2.	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Eurotium</i> sp. KD5A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	57
Tabel 4.6.3.(1).	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Penicillium</i> sp. KAM4 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	61
Tabel 4.6.3.(2).	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Penicillium</i> sp. KD1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	63
Tabel 4.6.3.(3).	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Penicillium</i> sp. KD3B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	65
Tabel 4.6.3.(4).	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Penicillium</i> sp. KD5B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	67
Tabel 4.6.3.(5).	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Penicillium</i> sp. KD7 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	69
Tabel 4.6.3.(6).	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Penicillium</i> sp. KPR1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	71
Tabel 4.6.3.(7).	Hasil pengamatan karakter morfologi <i>Penicillium</i> sp. KPR3 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C.....	73
Tabel 4.6.4.	Rangkuman mengenai kondisi fisik manuskrip kuno kertas daluang, genus-genus kapang yang diperoleh, dan hasil pengujian kemampuan selulolitik.....	75

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1.	Skema kerja penelitian.....	86
Lampiran 2.	Hasil penghitungan jumlah sel kapang umur 48 jam di medium PCA dengan penambahan <i>rose bengal</i> pada suhu 27° C menggunakan metode TPC.....	87
Lampiran 3.	Skema cara kerja isolasi kapang dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon.....	88
Lampiran 4.	Skema cara kerja penghitungan sel kapang dengan metode TPC.....	88
Lampiran 5.	Skema cara kerja pengujian kemampuan kapang selulolitik pada substrat kertas daluang.....	89
Lampiran 6.	Skema cara kerja pengujian kemampuan kapang selulolitik pada medium CDA dengan penambahan <i>carboxymethyl cellulose</i> (CMC).....	89
Lampiran 7.	Skema cara kerja identifikasi kapang secara konvensional berdasarkan karakter morfologi.....	90
Lampiran 8.	Standar warna Faber Castell.....	91

## **BAB 1**

### **PENDAHULUAN**

Manuskrip merupakan naskah tulisan tangan yang menjadi kajian filologi (Pusat Bahasa Depdiknas 2008: 1). Manuskrip ada yang berbahan daluang. Daluang adalah kertas tradisional yang terbuat dari kulit batang pohon saeh atau *Broussonetia papyrifera* Vent. (Permadi 2010: 6). Tumbuhan *B. papyrifera* di Jawa Barat dikenal dengan nama *saeh*. Di beberapa daerah lain, tumbuhan tersebut dikenal dengan nama yang berbeda, misalnya *sepukau* di Basemah, *glugu/galugu* di Jawa, *dhalubang/dhulubang* di Madura, *kembala/rowa* di Sumba Timur dan Barat, *linggowas* di Banggai, *iwo* di Tembuku, dan *malak* di Seram (Permadi 2007 *lihat* Wirajaya 2009: 1).

Keraton Kasepuhan di Cirebon (Gambar 1.1) memiliki 65 manuskrip kuno, tetapi hanya 15 manuskrip kuno yang berbahan daluang. Beberapa manuskrip kuno kertas daluang koleksi Keraton Kasepuhan adalah Kitab Adabul Muta’alimin, Kitab Dusut, Kitab Path Rohman, dan Kitab Tauhid. Manuskrip-manuskrip kuno kertas daluang koleksi Keraton Kasepuhan berisi pengetahuan dan ajaran agama Islam (Pudjiastuti dkk. 1994: 73).

Keraton Kasepuhan terletak di Jalan Keraton Kasepuhan No. 43, Kelurahan Kasepuhan, Kecamatan Lemahwungkuk, Kota Cirebon, Provinsi Jawa Barat, Indonesia. Keraton Kasepuhan didirikan pada tahun 1529 oleh Pangeran Mas Mochammad Arifin II sebagai pusat pemerintahan dan penyebaran agama Islam di Jawa Barat pada masa tersebut. Keraton Kasepuhan beralih peran sebagai pusat kebudayaan masyarakat Cirebon setelah masa kemerdekaan Indonesia. Sejak tahun 1988, dua ruangan di bagian depan Keraton Kasepuhan menjadi museum yang menyimpan koleksi benda-benda kuno peninggalan sejarah keraton, termasuk koleksi manuskrip kuno (Masrina 2011: 1).

Manuskrip kuno yang disimpan di perpustakaan atau museum rentan terhadap biodeteriorasi dan merupakan masalah yang terjadi di seluruh dunia (Shamsian dkk. 2008: 420). Biodeteriorasi adalah penguraian substrat atau bahan oleh aktivitas organisme dan bersifat merugikan karena menyebabkan kerusakan,

sehingga substrat tersebut tidak dapat dimanfaatkan manusia atau menurunkan kualitas bahan tersebut (Gandjar dkk. 2006: 116--117). Mikroorganisme penyebab biodeteriorasi pada manuskrip dapat berupa fungi atau bakteri (Valentin 2010: 2), tetapi yang paling umum ditemukan adalah fungi (Pinzari dkk. 2006: 58; Sahab dkk. 2007: 741; Valentin 2010: 4).



Gambar 1.(1). Keraton Kasepuhan di Cirebon  
[Sumber: Dokumen pribadi, 17 Desember 2011.]

Beberapa mikroorganisme menggunakan kertas sebagai sumber makanan karena kertas adalah materi organik (Pinzari dkk. 2006: 58). Materi organik kertas terutama adalah selulosa (Sahab dkk. 2007: 741; Arroyo 2009: 43). Selulosa adalah polisakarida linier, tidak bercabang, dan terdiri dari subunit-subunit glukosa yang dihubungkan melalui ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida (Jahangeer dkk. 2005: 739).

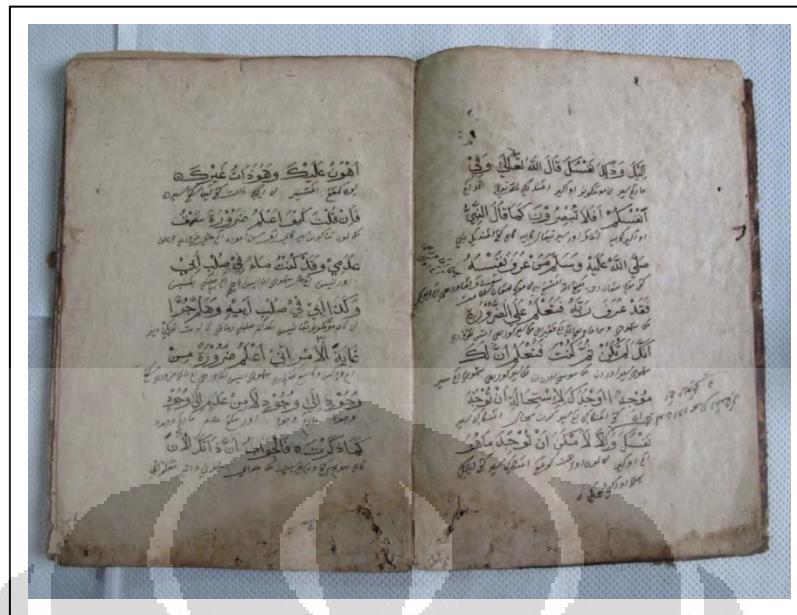
Banyak spesies fungi menggunakan selulosa sebagai sumber karbon, tetapi molekul selulosa terlalu besar untuk masuk secara langsung ke dalam sel. Oleh karena itu, selulosa harus dihidrolisis terlebih dahulu menjadi subunit-subunitnya (Juwaeid dkk. 2010: 109). Fungi yang tumbuh pada kertas dapat menghasilkan selulase yang menghidrolisis selulosa kertas menjadi senyawa yang lebih sederhana untuk kemudian diserap oleh fungi (Arroyo 2009: 41). Selulase merupakan sistem enzim yang tersusun atas tiga komponen, yaitu endoglukanase,

eksoglukanase atau selobiohidrolase, dan  $\beta$ -glukosidase. Selulase bekerja secara sinergis menghidrolisis selulosa secara lengkap untuk menghasilkan glukosa (Kumari dkk. 2011: 2).

Fungi yang tumbuh pada manuskrip dapat menyebabkan kerusakan serius (Sterflinger & Pinzari 2011: 1). Kerusakan tersebut disebabkan oleh kerja enzim selulase dari fungi yang menguraikan serat selulosa kertas, atau pigmen-pigmen atau asam-asam organik dari fungi yang mengotorkan kertas (Michaelsen dkk. 2009: 161; Pinzari dkk. 2011: 576). Selulase dari fungi menguraikan serat selulosa kertas. Serat selulosa kertas yang terurai menyebabkan kekuatan struktur kertas menurun, sehingga kertas mudah sobek (Merritt & Brewer 2007: 2). *Aspergillus terreus* Thom and *Chaetomium globosum* Kunze merupakan fungi selulolitik yang umum menyebabkan kerusakan pada kertas (Pinzari dkk. 2006: 57).

Berdasarkan hasil prapenelitian pada 17 Desember 2011, pengamatan kondisi fisik pada manuskrip kuno kertas daluang Kitab Adabul Muta’alimin, Kitab Dusut, Kitab Path Rohman, dan Kitab Tauhid yang dipilih secara acak, memiliki tanda-tanda kerusakan yang disebabkan oleh fungi, yaitu berupa noda atau bercak berwarna hitam atau cokelat pada halaman kertas (Gambar 1.2). Manuskrip-manuskrip kuno kertas daluang koleksi Keraton Kasepuhan disimpan di dalam lemari kayu di ruangan yang memiliki suhu 30,3°C dan kelembapan relatif 78%. Ruangan tersebut tidak memiliki ventilasi udara yang baik, sehingga pertukaran udara di dalam dan di luar ruangan menjadi sangat rendah. Ruangan tersebut diberikan pencahayaan oleh beberapa lampu berwarna kuning yang tidak terlalu terang (Prapenelitian, 17 Desember 2011).

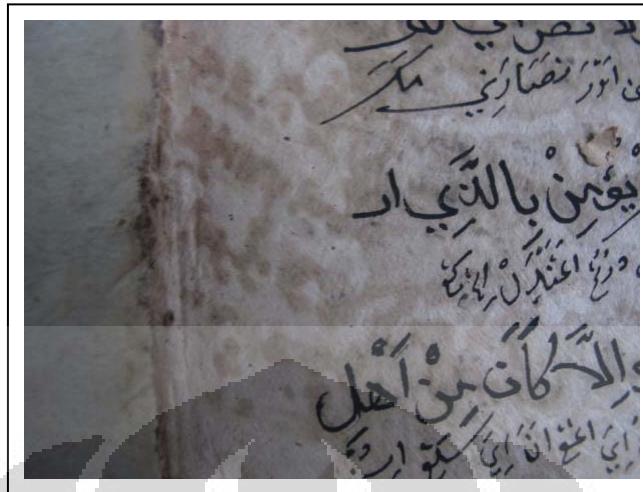
Banyak spesies fungi yang menyebabkan kerusakan pada kertas bersifat xerofilik (Pinzari dkk. 2010: 10). Fungi xerofil dapat hidup pada lingkungan dengan kadar air sangat rendah, yaitu pada  $a_w$  lebih kecil dari 0,85 (Pitt & Hocking 2009: 339). *Water activity* ( $a_w$ ) adalah ketersediaan air dalam suatu materi. Nilai  $a_w$  berkisar antara 0 dan 1. Nilai  $a_w$  dari air murni adalah 1 (Madigan dkk. 2012: 142).



Gambar 1.(2). Kerusakan oleh fungsi pada manuskrip kuno kertas daluang Kitab Adabul Muta'alimin asal Keraton Kasepuhan, Cirebon  
[Sumber: Dokumen pribadi, 17 Desember 2011.]



Gambar 1.(3). Kerusakan oleh fungsi pada manuskrip kuno kertas daluang Kitab Dusut asal Keraton Kasepuhan, Cirebon  
[Sumber: Dokumen pribadi, 17 Desember 2011.]



Gambar 1.(4). Bercak-bercak cokelat yang dihasilkan oleh fungi pada lembaran Kitab Dusut asal Keraton Kasepuhan, Cirebon  
[Sumber: Dokumen pribadi, 17 Desember 2011.]



Gambar 1.(5). Kerusakan oleh fungi pada manuskrip kuno kertas daluung Kitab Path Rohman asal Keraton Kasepuhan, Cirebon  
[Sumber: Dokumen pribadi, 17 Desember 2011.]



Gambar 1.(6). Spora-spora fungi (A) dan noda cokelat (B) pada lembaran Kitab Path Rohman asal Keraton Kasepuhan, Cirebon  
[Sumber: Dokumen pribadi, 17 Desember 2011.]



Gambar 1.(7). Kerusakan oleh fungi pada manuskrip kuno kertas daluang Kitab Tauhid asal Keraton Kasepuhan, Cirebon  
[Sumber: Dokumen pribadi, 17 Desember 2011.]

Ada beberapa metode pengujian untuk mendeteksi mikroorganisme penghasil enzim ekstraseluler, termasuk selulase. Salah satu metode tersebut adalah *plate screening* (Jo dkk. 2011: 129). Beberapa metode *plate screening* dapat digunakan untuk mendeteksi mikroorganisme pendegradasi polisakarida. Prinsip dari metode-metode tersebut adalah berdasarkan pembentukan kompleks

antara pewarna dan polisakarida (Teather & Wood 1982: 777). Metode *plate screening* dengan medium kromogenik umum digunakan untuk mendeteksi fungi pendegradasi polisakarida (Yoon dkk. 2007: 21). Fungi selulolitik dideteksi dengan mengamati zona bening (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar koloni fungi, sebagai hasil reaksi dari enzim yang disekresikan oleh fungi dengan kompleks pewarna-selulosa (Jo dkk. 2011: 129).

Kapang dari manuskrip yang telah diisolasi, perlu diidentifikasi untuk mengetahui identitas dari kapang tersebut. Menurut Pitt dan Hocking (2009: 16), identifikasi kapang dapat dilakukan secara konvensional dengan mengamati karakter morfologi kapang. Gandjar dkk. (1999: 4) menyatakan bahwa pengamatan karakter morfologi kapang secara mikroskopik dan makroskopik diperlukan untuk memperoleh deskripsi kapang tersebut. Deskripsi kapang yang telah diperoleh selanjutnya dibandingkan dengan kunci identifikasi pada monograf untuk mengetahui identitas kapang tersebut.

Beberapa kapang perusak manuskrip kuno telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi. Sahab dkk. (2007: 742) telah mengisolasi kapang dari manuskrip kuno asal *General Egyptian Book Organization* dan teridentifikasi sebagai *Fusarium oxysporum* Schlecht.:Fr. Shamsian dkk. (2008: 421) telah mengisolasi dan mengidentifikasi kapang-kapang dari 79 sampel manuskrip berusia ratusan tahun asal Perpustakaan Museum Astan Quds di Iran, dan diketahui bahwa *Aspergillus* Fr. dan *Penicillium* Link: Fr. merupakan genus kapang yang dominan. Michaelsen dkk. (2009: 165) telah mengisolasi dan mengidentifikasi kapang-kapang yang ditemukan pada buku “Le Stanze del Bandello” dari abad ke-16 asal Perpustakaan Braidense di Italia, yaitu *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries, *Penicillium pinophilum* Thom, *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tiraboschi, *Aspergillus nidulans* (Eidam) G. Winter, *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel, *Epicoccum nigrum* Link, dan *Rhizopus oryzae* Went dan Prinsen Geerlings.

Pengambilan sampel kapang dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan di Cirebon, telah dilakukan pada prapenelitian pada 17 Desember 2011. Namun demikian, belum dilakukan isolasi kapang dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon. Pengujian

kemampuan kapang selulolitik dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon, belum dilakukan. Selain itu, identifikasi konvensional hingga tingkat genus terhadap isolat-isolat kapang selulolitik dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon, juga belum dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh dan mengetahui identitas kapang-kapang selulolitik dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon. Hipotesis dari penelitian ini adalah diperoleh isolat kapang dan identitas kapang-kapang dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon. Apabila identitas kapang-kapang selulolitik dari manuskrip kuno kertas daluang telah diperoleh, maka dapat diketahui karakter pertumbuhannya, sehingga dapat digunakan sebagai informasi dalam melakukan preservasi manuskrip kuno kertas daluang di Keraton Kasepuhan, Cirebon.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Fungi**

Fungi merupakan organisme eukariotik karena memiliki nukleus bermembran dan organel-organel sitoplasmik bermembran (Deacon 2006: 4). Sebagian besar fungi adalah multiseluler dengan membentuk jaringan dari filamen-filamen yang disebut hifa (Madigan dkk. 2012: 601). Kumpulan hifa yang bercabang-cabang membentuk suatu jala atau anyaman disebut miselium (Gandjar dkk. 2006: 10). Beberapa fungi tumbuh sebagai sel tunggal, yang disebut khamir (Madigan dkk. 2012: 601).

Dinding sel fungi mengandung polisakarida sekitar 80--90%, protein, lipid, polifosfat, dan ion-ion anorganik (Madigan dkk. 2012: 602). Dinding sel fungi tersusun terutama oleh kitin dan glukan (Deacon 2006: 5; Webster & Weber 2007: 1). Khamir memiliki dinding sel yang tersusun atas kitin, glukan, dan manan. Kapang memiliki dinding sel yang tersusun atas kitin dan glukan (Gandjar dkk. 2006: 17--18). Cendawan memiliki dinding sel yang tersusun atas kitin dan glukan (Kavanagh 2005: 6). Kitin adalah polisakarida dengan subunit-subunit N-asetil-glukosamin. Kitin bersifat fleksibel, tetapi kuat, dan juga ditemukan dalam eksoskeleton serangga (Hogg 2005: 198). Kitin ditemukan pada scar pertunasan khamir dan dalam jumlah yang sangat sedikit sepanjang bagian dalam dinding sel (Gandjar dkk. 2006: 18). Glukan adalah polisakarida dari molekul-molekul glukosa (Deacon 2006: 5). Glukan terdapat sebagai lapisan paling dalam dari dinding sel khamir (Gandjar dkk. 2006: 18). Manan adalah polisakarida dari manosa (Madigan dkk. 2012: 602). Manan merupakan bagian dinding sel khamir yang paling luar (Gandjar dkk. 2006: 18).

Berdasarkan cara memperoleh sumber energi dan sumber karbon, fungi adalah heterotrof (kemoorganotrof) (Hogg 2005: 81--82; Kavanagh 2005: 13). Kemoorganotrof adalah organisme yang membutuhkan materi organik sebagai sumber energi dan sumber karbon untuk biosintesis (Madigan dkk. 2012: 601).

Fungi memperoleh makanan dengan menyekresikan enzim ekstraseluler dari ujung-ujung hifa untuk mendegradasi materi organik kompleks menjadi nutrien-nutrien sederhana dapat larut, dan kemudian menyerapnya melalui hifa (Deacon 2006: 5).

Fungi dapat ditemukan di darat (terrestrial), perairan tawar, laut, hutan mangrove, di bawah permukaan tanah, kedalaman laut, pegunungan, maupun di udara (Gandjar dkk. 2006: 103). Peran ekologis fungi adalah sebagai saprobik, simbion mutualistik, atau parasit (Webster & Weber 2007: 1). Peran-peran ekologis tersebut dibedakan berdasarkan cara organisme dalam memperoleh nutrien (Deacon 2006: 6). Saprobiik adalah organisme yang memperoleh nutrien dari bahan organik yang sudah mati dan membusuk, seperti pohon yang sudah tumbang, bangkai hewan, atau kotoran organisme hidup (Campbell dkk. 2003: 186; Hogg 2005: 199). Fungi parasit menyerap sebagian atau semua nutrien dari jaringan inangnya yang masih hidup (Campbell dkk. 2003: 186; Deacon 2006: 6). Fungi menyerap nutrien dari inangnya sebagai simbion mutualistik, tetapi fungi tersebut juga memberikan keuntungan bagi inangnya dalam hal tertentu, misalnya membantu suatu tumbuhan dalam proses pengambilan mineral dari tanah (Madigan dkk. 2012: 601).

Berdasarkan morfologi, fungi dikelompokkan ke dalam kapang (*moulds* atau *molds*), khamir (*yeasts*), dan cendawan (*mushrooms*) (Gandjar dkk. 2006: 72; Madigan dkk. 2012: 601). Kapang adalah fungi multiseluler yang memiliki filamen hifa (Hogg 2005: 198). Kapang bereproduksi secara aseksual dengan menghasilkan arthrokonidia, blastokonidia, klamidospora, konidia, atau sporangiospora; dan secara seksual dengan menghasilkan askospora, basidiospora atau zigospora (Gandjar dkk. 1999: 2). Khamir adalah fungi uniseluler yang bereproduksi secara aseksual dengan pertunasan (*budding*), pembelahan (*fission*), atau produksi konidia pada tangkai pendek (*sterigmata*), atau secara seksual dengan pembentukan spora seksual (Hogg 2005: 198; Gandjar dkk. 2006: 14, 65, 66). Cendawan adalah fungi yang membentuk *fruiting bodies*, yaitu struktur reproduktif makroskopik yang memproduksi spora (Madigan dkk. 2012: 602).

Spora dihasilkan sebagai produk dari reproduksi seksual. Spora berkembang dari penggabungan (*fusion*) gamet-gamet uniseluler atau dapat

berasal dari penggabungan dua sel haploid untuk menghasilkan sebuah sel diploid, kemudian mengalami meiosis dan mitosis untuk menghasilkan spora haploid (Madigan dkk. 2012: 603). Spora fungi tidak hanya berfungsi untuk multiplikasi, tetapi juga untuk ketahanan hidup, menghasilkan variasi genetik, dan penyebaran (Talaro & Chess 2012: 138).

Berdasarkan spora seksual, Kingdom *Fungi* (*Eumycota*) dikelompokkan ke dalam lima filum yaitu *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Glomeromycota*, *Ascomycota*, dan *Basidiomycota* (Hogg 2005: 199; Deacon 2006: 16; Madigan dkk. 2012: 603). Spora seksual yang dihasilkan *Chytridiomycota* memiliki flagelum, disebut zoospora. Contoh *Chytridiomycota* adalah *Batrachochytrium dendrobatidis* Longcore, Pessier dan Nichols serta *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Percival. Spora seksual yang dihasilkan *Zygomycota* disebut zigospora. Contoh *Zygomycota* adalah *Rhizopus oryzae* dan *Mucor hiemalis* Wehmer. Spora seksual tidak ditemukan pada *Glomeromycota*. Contoh *Glomeromycota* adalah *Allomyces arbusculus* E.J. Butler dan *Glomus aggregatum* N.C. Schenck dan G.S. Smith. Spora seksual yang dihasilkan *Ascomycota* disebut askospora. Contoh *Ascomycota* adalah khamir *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex Hansen dan *Candida albicans* (Robin) Berkhout, serta kapang *Aspergillus niger* van Tieghem dan *Penicillium chrysogenum* Thom. Spora seksual yang dihasilkan *Basidiomycota* disebut basidiospora. Contoh *Basidiomycota* adalah cendawan *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karsten dan *Amanita phalloide* (Fr.) Link, serta khamir *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuill dan *Sporobolomyces roseus* Kluyver dan C.B. Niel (Deacon 2006: 17--34; Talaro 2008: 141--142; Madigan dkk. 2012: 604--607).

Berdasarkan fase reproduksi, fungi dikelompokkan ke dalam fase anamorf dan fase teleomorf. Fungi yang bereproduksi secara aseksual berada pada fase anamorf, sedangkan fungi yang bereproduksi secara seksual berada pada fase teleomorf. Jika fase seksual berhasil ditemukan dari fungi yang sebelumnya diketahui hanya bereproduksi secara aseksual, maka spesies fungi tersebut akan mendapat nama baru. Sebagai contoh, anamorf *Aspergillus chevalieri* (Mangin) Thom dan Church, teleomorfnya adalah *Eurotium chevalieri* Mangin. Anamorf *Penicillium ochrosalmoneum* Udagawa, teleomorfnya adalah *Eupenicillium*

*ochrosalmoneum* Scott dan Stolk (Deacon 2006: 39; Gandjar dkk. 2006: 47; Pitt & Hocking 2009: 15). Kapang yang tidak memiliki fase seksual dan aseksual disebut *mycelia sterilia*. Kapang tersebut bereproduksi dengan menghasilkan sklerotia (Barnett & Hunter 2003: 196).

Berdasarkan morfologi hifa, fungi dikelompokkan ke dalam *lower fungi* dan *higher fungi*. *Lower fungi* adalah fungi yang memiliki hifa tidak bersepta, sedangkan *higher fungi* adalah fungi yang memiliki hifa bersepta (Kavanagh 2005: 7). Hifa yang bersepta dan memiliki satu inti dalam setiap kompartemen disebut hifa monositik. Hifa yang tidak bersepta, sehingga memiliki banyak inti disebut hifa *coenocytic* (Gandjar dkk. 2006: 12). *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, dan *Glomeromycota* termasuk *lower fungi*, sedangkan *Ascomycota* dan *Basidiomycota* termasuk *higher fungi* (Hogg 2005: 199--200).

## 2.2. Kertas Daluang

Kertas daluang digunakan sebagai media tulis oleh masyarakat di Pulau Jawa pada masa berkembangnya agama Islam (Ekadjati 2005: 1). Kertas daluang memiliki beberapa karakteristik yang berbeda dengan kertas yang terbuat dari kulit batang tumbuhan lain. Ciri-ciri khusus tersebut berupa serat, tekstur, berkas alat dan media pembuatan kertas, warna, dan ketebalan kertas (Permadi 2010: 12). Menurut Ekadjati (2005: 1), kertas daluang memiliki tekstur kasar. Permadi (2010: 14--19) melaporkan bahwa kertas daluang memiliki serat panjang. Kertas daluang memiliki berkas alur alat pemukul, berkas alat pengikat, dan berkas getah pelepas pohon pisang pada lembaran-lembaran daluang yang terbentuk selama proses pembuatannya. Warna kertas daluang dapat ditentukan secara spesifik dengan membandingkan warna kertas daluang dengan standar warna tertentu, misalnya standar warna cat *acrylic*. Selain itu, ketebalan kertas daluang tidak rata, bahkan dalam satu lembar kertas. Hal tersebut menunjukkan bahwa kertas daluang dibuat secara tradisional.

Menurut Ekadjati 1994 (*lihat* Permadi 2010: 8--9), pembuatan kertas daluang adalah sebagai berikut: (1) batang dan dahan pohon saeh dipotong dengan panjang sesuai dengan ukuran kertas yang diinginkan, (2) kulit batang dikuliti, (3)

kulit ari dibuang, (4) kulit batang yang sudah bersih direndam di dalam air selama satu malam agar menjadi lunak, (5) kulit batang dipukuli secara hati-hati di atas bantalan kayu hingga menjadi lebar, jika diinginkan ukuran kertas yang lebih lebar, maka kulit batang tersebut dilipat dan dipukuli kembali sambil disiram dengan air sedikit demi sedikit, (6) lipatan kulit batang dibuka kembali, sehingga menjadi satu lembar, kemudian dibersihkan di dalam air, diperas, dan diurut menggunakan daun Ki Kandel agar menjadi rata, (7) lembaran bahan kertas diperam dengan cara ditumpuk di dalam *dingkul* (wadah besar yang terbuat dari anyaman bambu) yang dialasi dan ditutup daun pisang selama satu malam, (8) bahan kertas dijemur di bawah sinar matahari dengan ditempelkan pada batang pohon pisang, dan (9) kertas yang sudah kering dipotong sesuai dengan ukuran yang diinginkan.

Pengrajin kertas daluang masih ditemukan hingga saat ini. Para pengrajin kertas daluang tersebut adalah Keluarga Abidin dan Deden di Kampung Toenggilis, Desa Cinunuk, Wanaraja, Kabupaten Garut (Wirajaya 2009: 1) dan Bapak Mufid A. Sururi di Desa Tanggulan, Dago, Bandung [Oetari, komunikasi pribadi, 2012]. Kertas daluang masih digunakan hingga saat ini. Masyarakat Hindu di Bali menggunakan kertas daluang untuk upacara Ngaben. Kertas daluang juga digunakan untuk sertifikat atau piagam (Wirajaya 2009: 1).

Serat pada kertas daluang bersifat sangat kuat, sehingga tidak mudah sobek. Hal tersebut menjadi alasan manuskrip-manuskrip kertas daluang yang berusia ratusan tahun masih terlihat utuh (Wirajaya 2009: 1). Saat ini manuskrip-manuskrip kuno kertas daluang disimpan di berbagai museum dan cagar budaya di Pulau Jawa. Sebagai contoh, manuskrip kuno *Babab Pajajaran* serta *Fikih dan Tauhid* koleksi Museum Negeri Jawa Barat, *Khutbah Jum'at* dan *Kitab Fikih* koleksi Cagar Budaya Candi Cangkuang, *Cariosan Prabu Siliwangi* dan *Kitab Waruga Jagat* koleksi Museum Prabu Geusan Ulun Sumedang, *Kitab Dusut* dan *Kumpulan Do'a* koleksi Keraton Kasepuhan Cirebon, *Kitab Al-Qur'an* koleksi Balai Pelestarian Sejarah dan Nilai Tradisional Bandung (Permadi 2010: 12–13).

### **2.3. Koleksi Manuskrip Kuno Kertas Daluang di Keraton Kasepuhan, Cirebon**

Keraton Kasepuhan di Cirebon menyimpan benda-benda kuno peninggalan sejarah, termasuk manuskrip kuno (Masrina 2011: 1). Pudjiastuti dkk. (1994: 10, 11 & 73) melaporkan bahwa Keraton Kasepuhan memiliki 65 manuskrip kuno, tetapi hanya 15 manuskrip kuno yang berbahan daluang. Manuskrip-manuskrip kuno tersebut sebagian besar merupakan manuskrip bernapaskan Islam. Manuskrip-manuskrip kuno kertas daluang yang dikoleksi oleh Keraton Kasepuhan berasal dari Keraton Kasepuhan sendiri sebagai benda peninggalan sejarah keraton dan dari masyarakat sekitar yang telah diserahkan kepada Keraton Kasepuhan. Hampir semua manuskrip kuno kertas daluang koleksi Keraton Kasepuhan berada dalam kondisi rusak.

### **2.4. Konservasi dan Preservasi Manuskrip Kuno**

Manuskrip kuno memiliki nilai sejarah dan budaya yang tidak terhitung, sehingga tidak dapat dinilai dengan uang (Sterflinger & Pinzari 2011: 1). Oleh karena itu, konservasi dan preservasi manuskrip kuno sangat penting dilakukan. Menurut *Word Reference* (2012: 1) konservasi adalah upaya pelestarian dan perbaikan situs dan benda-benda kuno peninggalan sejarah dan budaya manusia, sedangkan preservasi adalah upaya pemeliharaan dan perlindungan suatu benda agar tetap pada kondisi aslinya atau untuk mencegah kerusakan.

Konservasi manuskrip kuno terdiri dari lima komponen yang harus dilakukan dengan tepat. Kelima komponen tersebut adalah: (1) *preventive conservation*, yaitu tindakan pencegahan yang dapat dilakukan melalui pelatihan konservasi manuskrip kuno dan upaya-upaya untuk membangun kesadaran akan pelestarian manuskrip kuno; (2) *passive conservation*, mencakup pengendalian kondisi lingkungan tempat penyimpanan manuskrip kuno dan penggunaan naftalena untuk mencegah biodeteriorasi oleh serangga dan fungi; (3) *active conservation*, yaitu tindakan konservasi yang berhubungan langsung dengan manuskrip kuno, meliputi pembungkusan ulang manuskrip kuno, penggantian

sampul dengan kertas bebas asam, dan pembersihan manuskrip kuno dari debu secara teratur; (4) *restoration*, yaitu tindakan memperbaiki tampilan manuskrip kuno agar mendekati kondisi semula; (5) *transformation*, yaitu tindakan pengalihan media dari bahan konvensional ke bentuk mikrofilm (Razak 1992: 6).

Biodeteriorasi kertas oleh fungi bergantung pada kondisi lingkungan, terutama suhu dan kelembapan relatif. Preservasi manuskrip untuk mencegah pertumbuhan fungi umum dilakukan dengan menyimpan manuskrip dalam lingkungan yang terkontrol, dengan suhu dan kelembapan relatif dipertahankan pada kisaran tertentu (Pinzari dkk. 2004: 1). Merritt dan Brewer (2007: 2) menyatakan bahwa kelembapan relatif 45--55% dapat mengurangi kemungkinan perkecambahan spora, dan suhu 18--20° C dapat menekan pertumbuhan fungi.

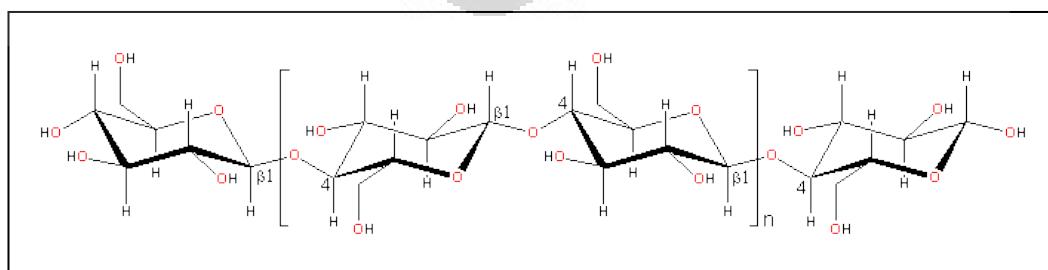
Faktor lingkungan lainnya, yaitu sirkulasi udara yang cukup dapat mengurangi kemungkinan perkecambahan spora dan pertumbuhan kapang. Kipas angin dapat digunakan untuk meningkatkan sirkulasi udara. Sirkulasi udara yang baik dapat menjaga manuskrip tetap kering, mencegah spora-spora kapang jatuh pada permukaan manuskrip, dan mengurangi iklim mikro dengan tingkat kelembapan relatif yang tinggi. *Silica gel* dapat digunakan untuk mengatur kelembapan relatif dalam tempat tertutup, misalnya lemari penyimpanan. *Silica gel* bekerja dengan menyerap atau melepaskan uap lembab ke udara sekitar (Merritt & Brewer 2007: 3). Selain itu, manuskrip harus dibersihkan dari debu secara berkala untuk mencegah pertumbuhan fungi (Pinzari dkk. 2004: 1).

Manuskrip-manuskrip kuno di Cirebon, selain disimpan di Keraton Kasepuhan, juga dimiliki oleh masyarakat. Namun demikian, hanya sebagian kecil masyarakat yang masih melakukan kearifan lokal metode pelestarian manuskrip kuno, yang diturunkan dari satu generasi ke generasi berikutnya sebagai upaya preservasi manuskrip kuno. Kearifan lokal metode pelestarian manuskrip kuno di masyarakat Cirebon yang ditemukan hingga saat ini adalah sebagai berikut: (1) membungkus manuskrip kuno dengan kain putih diasumsikan dapat melindungi manuskrip kuno dari debu, kutu buku, dan perubahan kelembapan udara, (2) menyimpan manuskrip kuno dalam kertas stofmap berwarna cerah diasumsikan dapat menghalau serangga yang akan mendekati manuskrip kuno, (3) menyimpan manuskrip kuno di dalam peti kayu, koper, dan

lemari jati diasumsikan dapat menurunkan perubahan fluktuasi suhu udara yang tidak teratur, (4) membungkus manuskrip kuno dengan kertas koran dan meletakkannya dalam lemari yang pada pagi dan sore hari terkena pantulan halus sinar matahari diasumsikan dapat menghambat perkembangan serangga dan mikroorganisme, (5) membuka lemari tempat penyimpanan manuskrip kuno pada pagi dan sore hari diasumsikan membantu mengurangi kelembapan dalam lemari, (6) membakar kemenyan di ruangan tempat penyimpanan manuskrip kuno diasumsikan dapat menghalau datangnya serangga dan hewan perusak lain, (7) keberadaan pohon-pohon rimbun di sekitar pekarangan rumah diasumsikan dapat menghalau fluktuasi suhu udara (Oetari dkk. 2010: 9--10).

## 2.5. Selulase

Kertas terutama terbuat dari selulosa, meskipun dapat juga mengandung senyawa-senyawa lain bergantung pada proses pembuatannya (Arroyo 2009: 43). Kertas daluung dibuat secara tradisional menggunakan kulit batang pohon saeh (*Broussonetia papyrifera*) dengan cara ditumbuk, diperam, dan dijemur di bawah sinar matahari (Permadi 2010: 6). Komponen utama dinding sel tumbuhan adalah selulosa, hemiselulosa, dan lignin (Brindha dkk. 2011: 92). Selulosa adalah polimer tidak bercabang dari glukosa dengan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida (Gambar 2.5) (Decker dkk. 2003: 689). Selulosa merupakan senyawa paling berlimpah di bumi (Suto & Tomita 2001: 305; Coral dkk. 2002: 209). Beberapa mikroorganisme dapat menggunakan selulosa sebagai sumber karbon melalui kerja enzim selulase (Onsori dkk. 2005: 26).



Gambar 2.5. Struktur selulosa  
[Sumber: Chaplin 2012: 1.]

Selulase adalah enzim sinergistik yang menghidrolisis selulosa menjadi glukosa (Juwaied dkk. 2010: 109; Brindha dkk. 2011: 91). Berbagai enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme untuk mendegradasi materi sel tumbuhan disebut sebagai sistem enzim (Lynd dkk. 2002: 511). Selulase merupakan sistem enzim yang tersusun atas tiga komponen enzimatik, yaitu endoglukanase (EC 3.2.1.4), eksoglukanase atau selobiohidrolase (EC 3.2.1.91), dan  $\beta$ -glukosidase (EC 3.2.1.21) (Karthikeyan dkk. 2010: 4). Ketiga komponen enzimatik tersebut berkerja secara bertahap dalam suatu sistem sinergistik untuk mendegradasi selulosa menjadi glukosa (Beguin & Aubert 1994 *lihat* Kumari dkk. 2011: 1). Endoglukanase memutus ikatan internal  $\beta$ -1,4-glikosida pada rantai polisakarida selulosa secara acak untuk menghasilkan oligosakarida dengan panjang rantai yang bervariasi dan sebagai akibatnya menghasilkan ujung-ujung rantai baru. Eksoglukanase mengurai selulosa dari ujung pereduksi dan nonpereduksi untuk menghasilkan glukosa atau selobiosa.  $\beta$ -glukosidase mengurai selobiosa untuk menghasilkan glukosa (Lynd dkk. 2002: 511).

Arroyo (2009: 43) menyatakan bahwa fungi selulolitik yang umum ditemukan pada kertas adalah *Alternaria* Nees, *Aspergillus*, *Fusarium* Link: Fr., *Humicola* Traaen, *Myrothecium* Tode, *Penicillium*, dan *Stachybotrys* Corda. Banyak mikroorganisme dapat menghasilkan selulase, tetapi hanya beberapa yang memproduksi selulase kompleks untuk menghidrolisis selulosa secara lengkap menjadi glukosa (Ghori dkk. 2011: 5880). *Aspergillus* dan *Trichoderma* Persoon merupakan kapang penghasil selulase kompleks (Onsori dkk. 2005: 27).

*Aspergillus niger* NRRL 567 (Ghori dkk. 2011: 5880) dan *Trichoderma harzianum* Rifai (Ahmed dkk. 2009: 1412) dilaporkan dapat menghasilkan selulase kompleks. Onsori dkk. (2005: 27) melaporkan bahwa *A. niger*, *A. terreus* Thom, dan *A. awamori* Nakaz. dari *Persian Type Culture Collection* (PTCC) dapat menghasilkan endoglukanase. Jahangeer dkk. (2005: 739) melaporkan bahwa sebagian besar kapang *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium*, dan *Rhizopus* Ehrenb. yang diisolasi dari udara, tanah, dan tumbuhan memiliki aktivitas selulase. Lotfi dkk. (2010: 4215) melaporkan bahwa dari 16 kapang *Zygomycetes* yang diisolasi dari tanah pertanian di Iran, *Mucor hiemalis* f. *corticola* Wehmer memiliki aktivitas selulase tertinggi, sedangkan *Mucor*

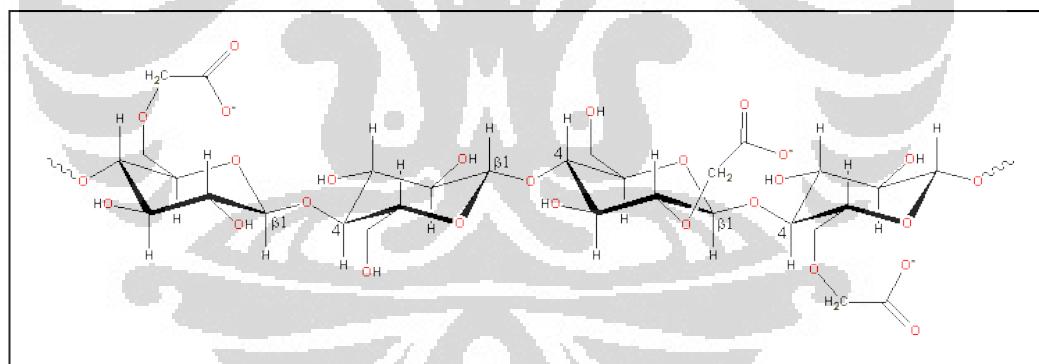
*circinelloides* f. *circinelloides* van Tieghem dan *Rhizomucor pusillus* (Lindt) Schipper menunjukkan aktivitas selulase terendah. Karthikeyan dkk. (2010: 5) melakukan pengujian 14 isolat fungi dari udara dan tanah di India pada medium yang mengandung selulosa dan *Congo red*. *Penicillium* K-P memiliki aktivitas selulase tertinggi. Kumari dkk. (2011: 7) melaporkan bahwa *Aspergillus fumigatus* Fres. yang diisolasi dari tanah di India dapat menghasilkan selulase.

## 2.6. Metode Pengujian Kemampuan Mikroorganisme Selulolitik

Fungi pendegradasi polisakarida dapat dideteksi menggunakan metode yang sederhana, yaitu metode *plate screening* dengan medium kromogenik (Ten dkk. 2004: 376). Medium kromogenik mengandung *yeast nitrogen base* (YNB) 0,1% sebagai sumber nitrogen, salah satu polisakarida (*carboxymethyl cellulose*, *cellobiose*, atau *avicel*) 0,5% sebagai sumber karbon, salah satu pewarna kromogenik (*Congo red*, *phenol red*, *remazol brilliant blue*, atau *tryphan blue*) 0,5%, dan agar 1,5% (Hyun dkk. 2006: 108; Yoon dkk. 2007: 21--22). Evaluasi kemampuan selulolitik dilakukan dengan mengamati zona bening yang terbentuk di sekitar koloni fungi, sebagai hasil dari reaksi antara enzim yang disekresikan oleh koloni dan kompleks pewarna-polisakarida (Jo dkk. 2011: 129--130). *Congo red* dapat mengikat secara kuat pada polisakarida yang memiliki ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida (Teather & Wood 1982: 777). Selulase memutus ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida dari selulosa dan menyebabkan *Congo red* tidak dapat berikatan dengan polimer, sehingga zona bening akan terbentuk pada medium (Yuan dkk. 2001: 324).

Salah satu sumber karbon yang dapat digunakan dalam pengujian kemampuan fungi selulolitik adalah *carboxymethyl cellulose* (CMC) (Hyun dkk. 2006: 108; Yoon dkk. 2007: 21). Substrat CMC (Gambar 2.6) merupakan senyawa turunan selulosa yang terbentuk oleh reaksi selulosa dengan alkali dan asam kloroasetat (Chaplin 2012: 1). Medium campuran CMC-*Congo red* umum digunakan untuk pengujian kemampuan fungi selulolitik. Onsori dkk. (2005) menggunakan CMC yang diteteskan pewarna *Congo red* untuk mendeteksi endoglukanase pada kapang-kapang *Aspergillus*. Hasil penelitian Hyun dkk. (2006: 109) yang membandingkan empat pewarna kromogenik (*Congo red*,

*phenol red, remazol brilliant blue, dan tryphan blue*) dalam pengujian kemampuan selulolitik dari empat spesies *Ophiostoma* dan dua spesies *Leptographium* menunjukkan bahwa jumlah tertinggi deteksi positif ditemukan pada medium yang mengandung CMC-*Congo red*. Yoon dkk. (2007: 22--23) melaporkan bahwa 10 spesies fungi menghasilkan zona bening pada medium CMC-*Congo red*, sedangkan tiga spesies fungi menghasilkan zona bening pada medium CMC-*phenol red*, dan hanya dua spesies fungi menghasilkan zona bening pada medium CMC-*remazol brilliant blue*. Zona bening yang terbentuk juga terlihat lebih jelas pada medium yang mengandung *Congo red* dibandingkan medium yang mengandung tiga pewarna lainnya (*phenol red, remazol brilliant blue*, dan *tryphan blue*). Karthikeyan dkk. (2010: 5) melakukan pengujian 14 isolat fungi dari udara dan tanah di India pada medium CMC-*Congo red*, dan diketahui bahwa *Penicillium K-P* menghasilkan endoglukanase dalam jumlah tinggi. Kumari dkk. (2011: 7) melakukan pengujian isolat fungi dari tanah di India pada medium CMC yang diteteskan pewarna *Congo red*, dan diketahui bahwa *Aspergillus fumigatus* menghasilkan endoglukanase.



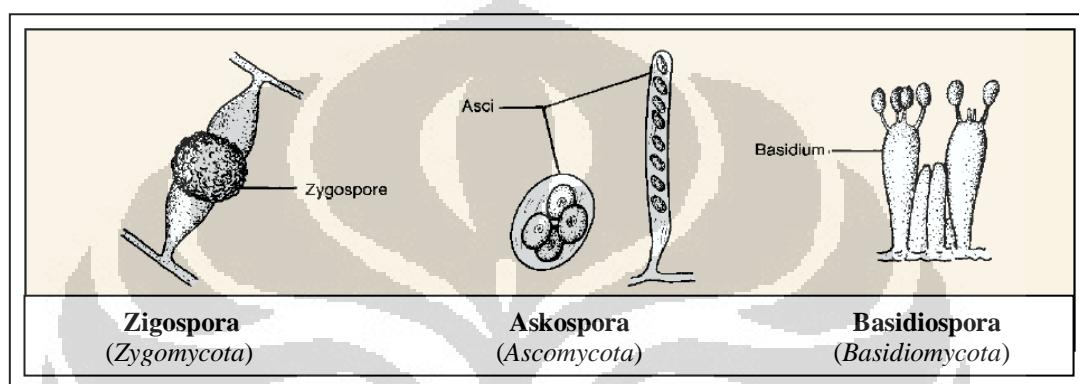
Gambar 2.6. Struktur *carboxymethyl cellulose* (CMC)  
[Sumber: Chaplin 2012: 1.]

## 2.7. Identifikasi Kapang secara Konvensional

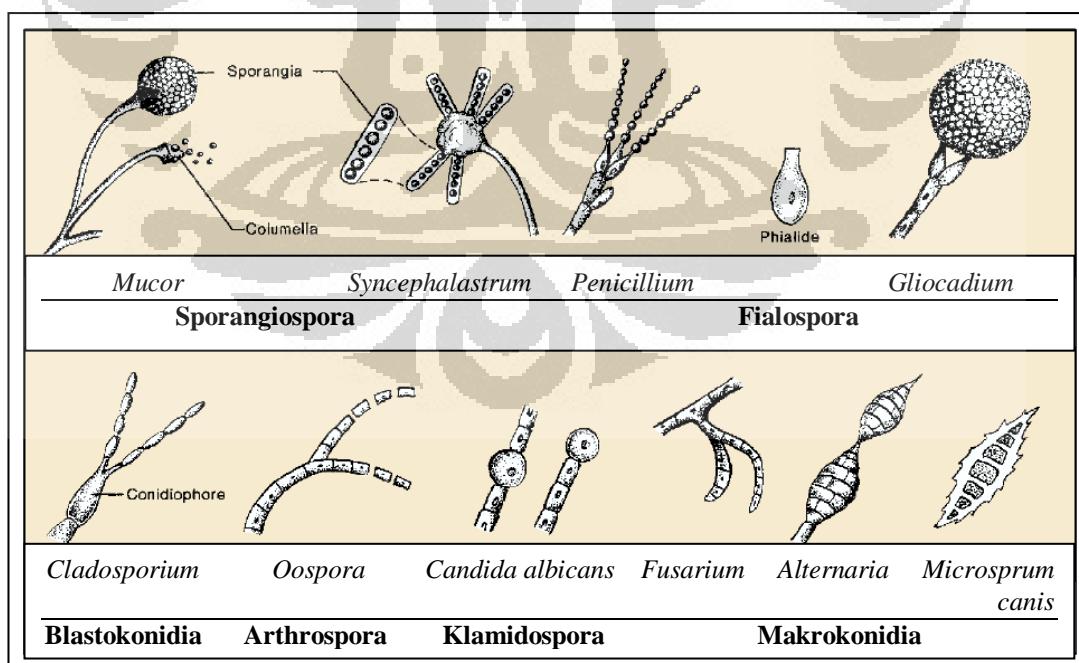
Identifikasi adalah proses membandingkan isolat yang belum diketahui dengan taksa yang ada untuk menetapkan identitasnya (Gandjar dkk. 2006: 68). Identifikasi dapat dilakukan secara konvensional berdasarkan karakter morfologi. Identifikasi kapang secara konvensional dilakukan dengan mengamati karakter

Universitas Indonesia

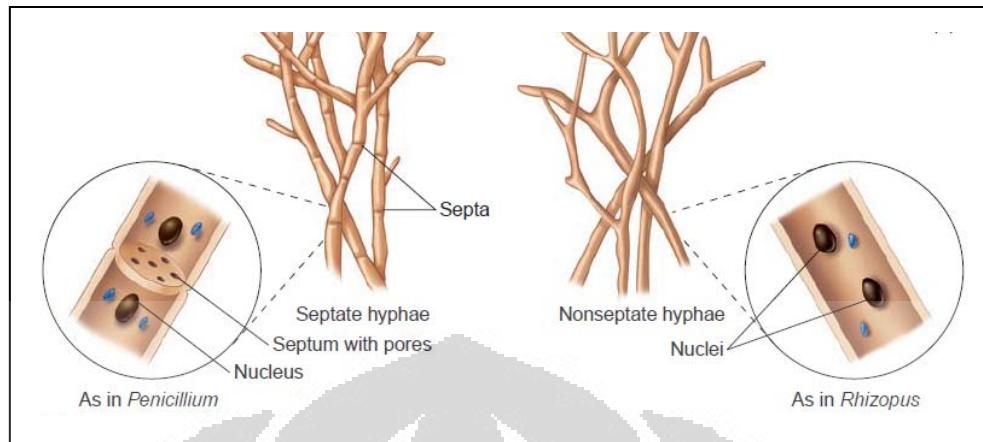
morfologi secara mikroskopik dan makroskopik (Pitt & Hocking 2009: 16). Menurut Gandjar dkk. (1999: 4--6), karakter morfologi kapang secara mikroskopik meliputi keberadaan spora atau konidia, bentuk dan ukuran spora (Gambar 2.7.(1)) atau konidia (Gambar 2.7.(2)), struktur penghasil konidia, dan keberadaan septa pada hifa (Gambar 2.7.(3)). Karakter morfologi kapang secara makroskopik meliputi warna, tekstur, zonasi, *growing zone*, *radial furrow*, dan keberadaan *exudate drops* pada koloni kapang.



Gambar 2.7.(1). Tipe spora pada kapang teleomorf  
[Sumber: Benson 2001: 50, dengan modifikasi.]



Gambar 2.7.(2). Tipe konidia pada beberapa genus dari fungi  
[Sumber: Benson 2001: 49, dengan modifikasi.]



Gambar 2.7.(3). Tipe hifa berdasarkan keberadaan septa  
[Sumber: Talaro & Chess 2012: 137.]

## **BAB 3**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia (FMIPA UI), Depok, dan Laboratorium *Center of Excellence for Indigenous Biological Resources–Genome Studies* (CoE IBR-GS), FMIPA UI, Depok, mulai bulan Februari hingga Mei 2012.

#### **3.2. Alat**

Alat-alat yang digunakan adalah cawan Petri, tabung reaksi, Erlenmeyer 1 L dan 500 ml, gelas ukur, *beaker glass*, *object glass*, *cover glass*, pipet, spatel *Drygalski*, batang pengaduk, botol alkohol, pembakar spiritus, korek api, *transfer box*, *autoclave* [Hirayama], oven [Heraeus], kompor listrik [Sanyo], pemanas air [Sharp], lemari pendingin [Gassio], timbangan digital [And EW-300G], timbangan analitik [Sartorius], vorteks [Bio-Rad], mikropipet 1.000 µl dan 200 µl [Gilson], *tips*, mikroskop cahaya [Boeco], mikroskop trinokular [Carl-ZEISS], mikroskop stereo [Carl-ZEISS], gunting, jarum tanam tajam, jarum tanam bulat (ose), *stainless steel cork borer* berdiameter 0,93 cm, pinset, jangka sorong digital, dan kamera digital [Canon].

#### **3.3. Bahan**

##### **3.3.1. Mikroorganisme**

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian adalah isolat-isolat kapang dari manuskrip kuno kertas daluang Kitab Adabul Muta'alimin, Kitab Dusut, Kitab Path Rohman, dan Kitab Tauhid asal Keraton Kasepuhan, Cirebon.

Mikroorganisme lain yang digunakan dalam penelitian adalah kapang selulolitik *Aspergillus niger* UICC 371 sebagai kontrol positif dan kapang non selulolitik *Rhizopus oryzae* UICC 24B sebagai kontrol negatif.

### 3.3.2. Medium

*Dichloran 18% Glycerol* (DG18) [Oxoid] digunakan untuk isolasi kapang. *Potato Dextrose Agar* (PDA) [BD] digunakan untuk pemeliharaan isolat kapang. *Plate Count Agar* (PCA) [Britania] digunakan untuk penghitungan sel kapang. Medium basal *Czapek's Dox Agar* (CDA) tanpa sukrosa digunakan untuk pengujian isolat-isolat kapang selulolitik dari manuskrip kuno kertas daluung secara kualitatif. Medium basal CDA dengan *carboxymethyl cellulose* (CMC) sebagai sumber karbon digunakan untuk pengujian isolat-isolat kapang selulolitik dari manuskrip kuno kertas daluung secara kuantitatif.

### 3.3.3. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah alkohol 70%, etanol 96% p.a. [Merck], kloramfenikol [Wako], tetrasiklin [Kimia Farma], *rose bengal* [TCI], *carboxymethyl cellulose* (CMC) [BDI], pewarna *Congo red*, *lactophenol cotton blue* [Merck], dan kertas daluung dari Bapak Mufid A. Sururi di Desa Tanggulan, Dago, Bandung.

### 3.3.4. Bahan Habis Pakai

Bahan habis pakai yang digunakan adalah plastik tahan panas [Bell], masker, tisu gulung, *cotton bud*, amplop, *zipper plastic*, kertas label, selotape, dan karet gelang.

## 3.4. Cara Kerja

Skema kerja penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

### 3.4.1. Pembuatan Medium

#### 3.4.1.1. *Dichloran 18% Glycerol* (DG18)

Pembuatan medium DG18 berdasarkan Atlas (2010: 593). Bubuk DG18 sebanyak 15,7 g dilarutkan ke dalam 350 ml akuades, kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Medium didiamkan hingga suhunya mencapai 50°C, kemudian ditambahkan gliserol 87% sebanyak 103 ml dan air hangat hingga volume akhirnya mencapai 500 ml. Kloramfenikol sebanyak 0,05 g dilarutkan dalam 1 ml etanol 96%, kemudian ditambahkan ke dalam medium DG18 yang masih cair dan diaduk hingga homogen. Medium disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 2 atm, selama 15 menit. Medium yang telah steril dituangkan sebanyak 20 ml ke dalam cawan Petri steril.

#### 3.4.1.2. *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Pembuatan PDA mengikuti prosedur pada label kemasan. PDA sebanyak 1.000 ml dibuat dengan melarutkan 39 g bubuk PDA dalam akuades, kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Medium yang telah homogen didiamkan hingga suhunya mencapai 40–50°C, setelah itu ditambahkan 0,2 g kloramfenikol yang telah dilarutkan dalam 1 ml etanol p.a. 96%. Sebanyak 6 ml medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Medium disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 2 atm, selama 15 menit. Tabung reaksi berisi medium steril dimiringkan pada papan untuk mencetak medium pada posisi miring.

#### 3.4.1.3. *Plate Count Agar* (PCA)

Pembuatan PCA mengikuti prosedur pada label kemasan. PCA sebanyak 1.000 ml dibuat dengan melarutkan 23,5 g bubuk PCA dalam akuades, kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Medium yang telah homogen disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 2 atm, selama 15 menit.

Medium yang telah steril didiamkan hingga suhunya turun, kemudian ditambahkan 500 mg tetrasiulin. Sebanyak 20 ml medium dituangkan ke dalam cawan Petri steril.

#### 3.4.1.4. *Czapek's Dox Agar* (CDA) Tanpa Sumber Karbon

Pembuatan CDA berdasarkan Atlas (2010: 480), hanya tidak ditambahkan sukrosa. Sebanyak 0,5 g KCl; 3 g NaNO<sub>3</sub>; 1 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,5 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,01 g FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; dan 15 g agar dilarutkan ke dalam akuades hingga mencapai volume 1.000 ml, kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Medium disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121° C, tekanan 2 atm, selama 15 menit. Medium yang telah steril didiamkan hingga suhunya turun, kemudian ditambahkan 500 mg tetrasiulin. Sebanyak 20 ml medium dituangkan ke dalam cawan Petri steril.

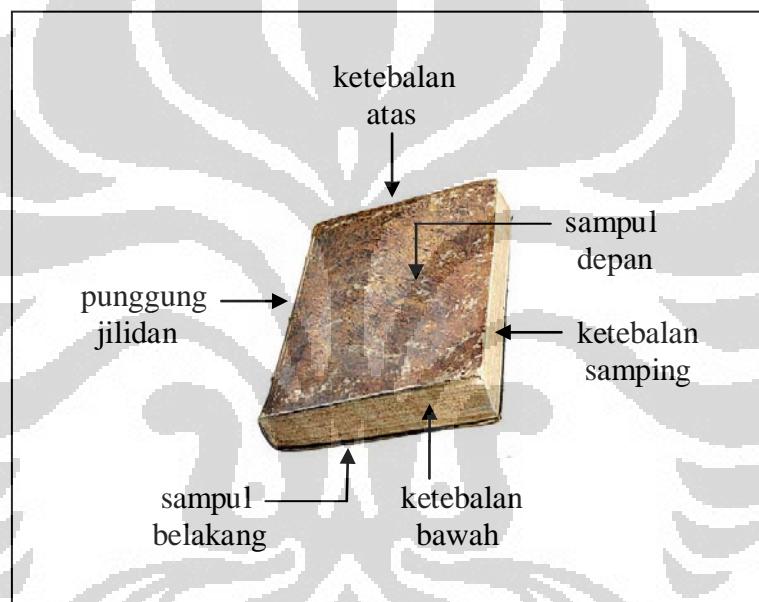
#### 3.4.1.5. Medium CDA dengan Penambahan *Carboxymethyl Cellulose* (CMC)

Medium CDA dengan CMC sebagai sumber karbon dibuat berdasarkan Atlas (2010: 480), tanpa penambahan sukrosa. Sebanyak 0,5 g KCl; 3 g NaNO<sub>3</sub>; 1 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,5 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,01 g FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; dan 15 g agar dilarutkan ke dalam akuades hingga mencapai volume 1.000 ml. Substrat CMC 0,1% (b/v) ditambahkan ke dalam campuran medium, kemudian medium dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Medium disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121° C, tekanan 2 atm, selama 15 menit. Medium yang telah steril didiamkan hingga suhunya turun, kemudian ditambahkan 500 mg tetrasiulin. Sebanyak 20 ml medium dituangkan ke dalam cawan Petri steril.

### 3.4.2. Pengambilan Sampel Kapang dari Manuskrip Kuno Kertas Daluang

Pengambilan sampel kapang dari manuskrip kuno kertas daluang dilakukan dengan metode *non invasive sampling* berdasarkan Pinzari dkk. (2010: 8). Metode tersebut dilakukan dengan mengoleskan *cotton bud* steril pada bagian

ketebalan jilidan, ketebalan atas, ketebalan samping, ketebalan bawah, sampul depan, sampul belakang, dan bagian dalam atau halaman kertas manuskrip kuno kertas daluang. Bagian-bagian manuskrip kuno yang dioleskan *cotton bud* steril dapat dilihat pada Gambar 3.4.2. Pada bagian dalam manuskrip kuno, *cotton bud* steril dioleskan pada permukaan kertas yang memiliki noda atau bercak berwarna hitam atau cokelat. Pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali pada halaman kertas yang berbeda. *Cotton bud* hasil pengambilan sampel kapang dari bagian manuskrip kuno yang berbeda, dimasukkan ke dalam *zipper plastic* steril yang berbeda, kemudian dimasukkan ke dalam satu amplop steril.



Gambar 3.4.2. Bagian-bagian manuskrip kuno yang dioleskan *cotton bud* steril dalam pengambilan sampel kapang

[Sumber: Dreamstime 2012: 1, dengan modifikasi.]

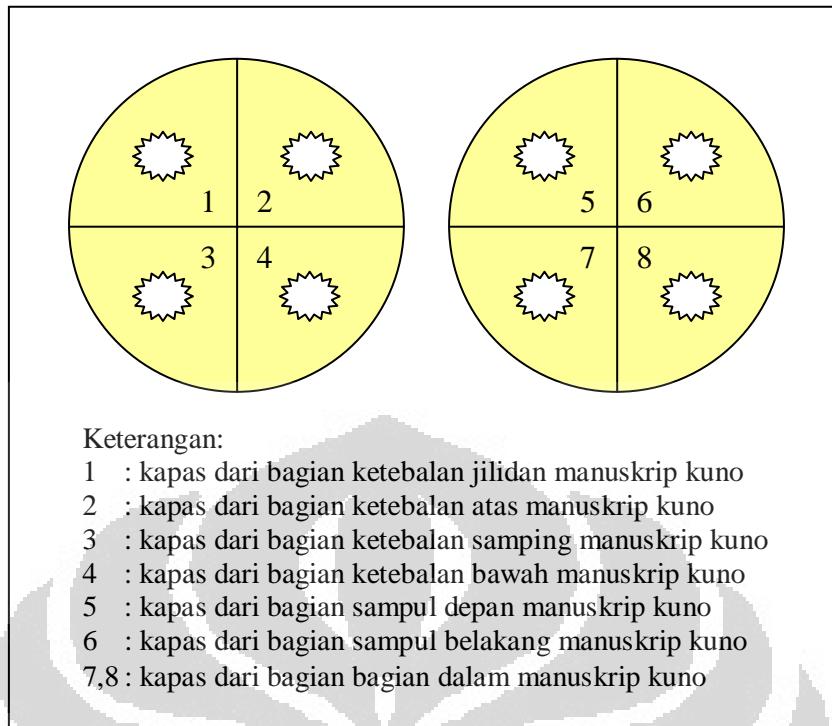
### 3.4.3. Isolasi Kapang

Isolasi kapang dari manuskrip kuno kertas daluang dilakukan berdasarkan Michaelsen dkk. (2009: 162) yang dimodifikasi. Michaelsen dkk. (2009: 162) melakukan isolasi dengan mengoleskan kapas yang dililit pada lidi mirip *cotton bud* dari hasil pengambilan sampel ke permukaan medium dalam cawan Petri

secara langsung. Modifikasi dari metode isolasi tersebut adalah dengan mengambil kapas dari *cotton bud* hasil pengambilan sampel dan meletakkannya pada permukaan medium dalam cawan Petri.

Medium DG18 sebanyak dua cawan Petri digunakan untuk isolasi kapang dari satu manuskrip kuno. Masing-masing cawan Petri diberi tanda menggunakan spidol permanen menjadi empat bagian/kuadran pada bagian bawahnya. Kapas dari setiap *cotton bud* hasil pengambilan sampel diambil menggunakan pinset steril dan diletakkan di tengah masing-masing kuadran. Kapas dari *cotton bud* hasil pengambilan sampel pada bagian ketebalan jilidan diletakkan pada kuadran satu di cawan Petri pertama. Kapas dari *cotton bud* hasil pengambilan sampel pada bagian ketebalan atas diletakkan pada kuadran dua di cawan Petri pertama. Kapas dari *cotton bud* hasil pengambilan sampel pada bagian ketebalan samping diletakkan pada kuadran tiga di cawan Petri pertama. Kapas dari *cotton bud* hasil pengambilan sampel pada bagian ketebalan bawah diletakkan pada kuadran empat di cawan Petri pertama. Kapas dari *cotton bud* hasil pengambilan sampel pada bagian sampul depan diletakkan pada kuadran lima di cawan Petri kedua. Kapas dari *cotton bud* hasil pengambilan sampel pada bagian sampul belakang diletakkan pada kuadran enam di cawan Petri kedua. Kapas dari *cotton bud* hasil pengambilan sampel pada bagian dalam manuskrip kuno diletakkan pada kuadran tujuh dan delapan di cawan Petri kedua.

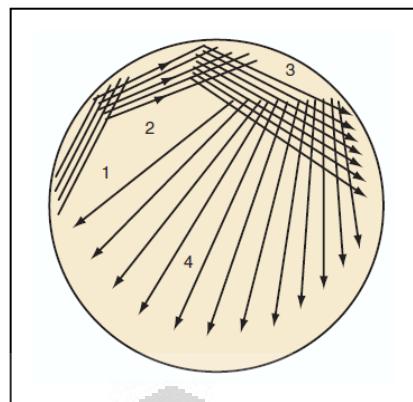
Ilustrasi peletakan sampel kapas pada cawan Petri dapat dilihat pada Gambar 3.4.3. Medium diinkubasi pada suhu 27°C dan pertumbuhan kapang diamati setiap hari hingga hari ketujuh. Koloni kapang yang tumbuh di sekitar kapas akan dilakukan pemurnian.



Gambar 3.4.3. Ilustrasi peletakan sampel kapas pada cawan Petri  
[Sumber: Dokumen pribadi, 8 April 2012.]

#### 3.4.4. Pemurnian

Pemurnian dilakukan dengan metode *quadrant streak* (Gambar 3.4.4) berdasarkan Benson (2001: 85). Sel kapang diambil sedikit menggunakan jarum tanam tajam, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml akuades steril. Suspensi sel kapang dihomogenkan menggunakan vorteks. Suspensi sel kapang diambil sebanyak satu ose, kemudian diinokulasikan sebanyak empat *streak* pada medium DG18 di dekat tepi cawan Petri. *Streak* diulangi sebanyak tiga kali pada tepi-tepi cawan Petri. Jarum ose dibakar sampai pijar setiap selesai melakukan *streak* dan sebelum melakukan *streak* berikutnya. Jarum ose yang telah dibakar, kemudian didiamkan selama lima detik dan disentuhkan pada permukaan medium yang steril untuk mendinginkannya. Medium diinkubasi pada suhu 27°C. Koloni tunggal representatif yang tumbuh diambil untuk membuat *stock culture* dan *working culture*.



Gambar 3.4.4. *Quadrant streak*  
[Sumber: Benson 2001: 85.]

#### 3.4.5. Pembuatan *Stock Culture* dan *Working Culture*

*Stock culture* dan *working culture* dibuat berdasarkan Cappuccino dan Sherman (2002: 7). Koloni tunggal representatif hasil pemurnian dari setiap isolat diinokulasikan ke medium miring PDA sebanyak dua tabung reaksi untuk *stock culture*, dan diinokulasikan ke medium miring PDA sebanyak satu tabung reaksi untuk *working culture*. Medium kemudian diinkubasi pada suhu 27°C. Koloni kapang yang tumbuh dan telah bersporulasi kemudian diinkubasi pada suhu 4°C di dalam lemari pendingin untuk *stock culture*, sedangkan untuk *working culture* diinkubasi pada suhu 27°C. *Stock culture* dan *working culture* diberi label yang mencantumkan informasi mengenai nama atau kode isolat, nama peneliti, tanggal inokulasi, dan medium yang digunakan.

#### 3.4.6. Penghitungan Jumlah Sel Kapang dalam Suspensi

Penghitungan jumlah sel kapang dalam suspensi dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC) berdasarkan (Hogg 2005: 91--93). Kapang yang akan digunakan dalam pengujian, diinokulasi sebanyak 15 *streak* pada medium miring PDA dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 27°C hingga kapang bersporulasi penuh. Akuades steril sebanyak 6 ml dituang ke dalam koloni kapang yang telah bersporulasi penuh dan dihomogenkan menggunakan vorteks,

sehingga diperoleh suspensi sel. Sebanyak 1 ml dari suspensi sel tersebut diencerkan dengan akuades steril hingga diperoleh faktor pengenceran  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , dan  $10^{-6}$ . Suspensi sel dari ketiga faktor pengenceran tersebut diambil sebanyak 0,1 ml, kemudian disebar pada medium PCA dalam cawan Petri, dan diinkubasi pada suhu 27°C selama tiga hari. Penghitungan jumlah sel dalam suspensi dilakukan berdasarkan Hogg (2005: 93) menggunakan rumus berikut:

$$\text{Jumlah CFU/ml} = \frac{\text{jumlah koloni rata-rata}}{\text{volum inokulum} \times \text{faktor pengenceran}}$$

#### 3.4.7. Pengujian Kemampuan Isolat-isolat Kapang Menggunakan Medium CDA dengan Substrat Kertas Daluang

Pengujian dilakukan dengan metode *filter paper* berdasarkan Oberkotter dan Rosenberg (1978: 206) yang dimodifikasi. Oberkotter dan Rosenberg (1978: 206) menggunakan kertas saring Whatman No. 1 sebagai sumber karbon tunggal dalam pengujian pertumbuhan dan aktivitas endoglukanase dari sel bakteri. Modifikasi dari metode tersebut adalah tidak menggunakan kertas saring Whatman no. 1, tetapi potongan kertas daluang sebagai sumber karbon tunggal.

Bagian bawah cawan Petri yang berisi medium CDA tanpa sumber karbon diberi tanda menggunakan spidol permanen menjadi empat kuadran. Potongan kertas daluang berukuran 1,5 cm x 1,5 cm diletakkan pada permukaan masing-masing kuadran. Potongan kertas daluang pada kuadran pertama diteteskan 20 µl suspensi sel kapang yang diuji. Potongan kertas daluang pada kuadran kedua diteteskan 20 µl akuades steril sebagai kontrol akuades. Potongan kertas daluang pada kuadran ketiga diteteskan 20 µl suspensi sel kapang selulolitik *Aspergillus niger* UICC 371 sebagai kontrol positif. Potongan kertas daluang pada bagian keempat diteteskan 20 µl suspensi sel kapang non selulolitik *Rhizopus oryzae* UICC 24B sebagai kontrol negatif. Medium diinkubasi pada suhu 27°C selama tujuh hari. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan koloni kapang pada potongan kertas daluang.

**Universitas Indonesia**

### 3.4.8. Pengujian Kemampuan Isolat-isolat Kapang Menggunakan Medium CDA dengan Penambahan *Carboxymethyl Cellulose* (CMC)

Pengujian dilakukan berdasarkan metode Onsori dkk. (2005: 27). Bagian bawah cawan Petri yang berisi medium CDA-CMC diberi tanda menggunakan spidol permanen menjadi empat kuadran. Setiap kuadran tersebut diberi lubang pada bagian tengah menggunakan *stainless steel cork borer* berdiameter 0,93 cm. Lubang atau sumur pada kuadran pertama dimasukkan 80 µl suspensi sel kapang yang diuji. Sumur pada kuadran kedua dimasukkan 80 µl akuades steril. Sumur pada kuadran ketiga dimasukkan 80 µl suspensi sel kapang selulolitik *Aspergillus niger* UICC 371 sebagai kontrol positif. Sumur pada kuadran keempat dimasukkan 80 µl suspensi sel kapang non selulolitik *Rhizopus oryzae* UICC 24B sebagai kontrol negatif. Medium diinkubasi pada suhu 27°C selama enam hari. Pada hari keenam, pewarna *Congo red* 0,2% diteteskan ke seluruh permukaan medium. Medium diinkubasi pada suhu 27°C selama 24 jam.

Hasil positif ditunjukkan dengan adanya zona bening, sedangkan hasil negatif ditunjukkan dengan tidak adanya zona bening pada medium. Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni fungi menunjukkan bahwa *Congo red* tidak dapat berikatan dengan CMC yang telah terhidrolisis (Jo dkk. 2011: 129--130). Diameter zona bening diukur dengan jangka sorong. Diameter zona bening yang diperoleh dapat dikonversi menjadi nilai Indeks Aktivitas Selulase (IAS) menggunakan rumus berdasarkan Kader dan Omar (1998: 3) yang dimodifikasi sebagai berikut:

$$\text{IAS} = \frac{\text{diameter zona bening} - \text{diameter koloni kapang}}{\text{diameter koloni kapang}}$$

### 3.4.9. Identifikasi Kapang secara Konvensional Berdasarkan Karakter Morfologi

Pengamatan morfologi kapang secara mikroskopik dilakukan pada biakan berumur tujuh hari, berdasarkan Pitt dan Hocking (2009: 59). Pengamatan

morfologi kapang secara mikroskopik menggunakan mikroskop cahaya [Boeco] dan mikroskop trinokular [Carl-ZEISS]. Pengamatan morfologi kapang secara mikroskopik dilakukan dengan memperhatikan keberadaan spora atau konidia, tipe spora atau konidia, bentuk dan ukuran spora atau konidia, struktur penghasil konidia, dan keberadaan septa pada hifa.

Pengamatan morfologi kapang secara makroskopik dilakukan pada biakan kapang berumur tujuh hari di medium yang sesuai dengan monograf *Introduction to Food and Airborne-Fungi* oleh Samson dkk. (2004) dan dilakukan berdasarkan Benson (2001: 50–52). Pengamatan morfologi kapang secara makroskopik menggunakan mikroskop stereo [Carl-ZEISS]. Pengamatan morfologi kapang secara makroskopik dilakukan dengan memperhatikan warna, tekstur, zonasi, *growing zone*, *radial furrow*, dan *exudate drops* pada koloni kapang. Warna koloni kapang ditentukan berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 8). Hasil pengamatan morfologi kapang secara mikroskopik dan makroskopik dibandingkan dengan kunci identifikasi pada monograf. Kunci identifikasi untuk *Aspergillus* dan *Penicillium* menggunakan monograf *Introduction to Food and Airborne-Fungi* oleh Samson dkk. (2004). Kunci identifikasi untuk *Eurotium* menggunakan buku *Fungi and Food Spoilage* oleh Pitt dan Hocking (2009).

### 3.5. PENGOLAHAN DAN ANALISIS DATA

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Data yang diperoleh bersifat kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif yang diperoleh adalah jumlah isolat kapang, pertumbuhan koloni kapang pada potongan kertas daluung, dan karakter morfologi isolat kapang. Data kualitatif tersebut dianalisis secara deskriptif. Data kuantitatif yang diperoleh adalah hasil TPC dan diameter zona bening. Data kuantitatif tersebut dianalisis secara statistik dengan standar deviasi.

## **BAB 4**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1. Pengambilan Sampel Kapang dari Manuskrip Kuno Kertas Daluang**

Pengambilan sampel kapang dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan di Cirebon, dilakukan pada 17 Desember 2011. Pemilihan manuskrip kuno kertas daluang sebagai sumber pengambilan sampel kapang dilakukan berdasarkan adanya indikasi kerusakan oleh kapang, yaitu bercak-bercak berwarna cokelat atau hitam, atau adanya spora-spora kapang pada permukaan kertas. Empat manuskrip kuno kertas daluang yang terpilih sebagai sumber pengambilan sampel adalah Kitab Adabul Muta'alimin, Kitab Dusut, Kitab Path Rohman, dan Kitab Tauhid. Kondisi fisik dari keempat manuskrip kuno kertas daluang tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.1. Pengambilan sampel kapang dari keempat manuskrip kuno tersebut dilakukan dengan metode *non invasive sampling* menggunakan *cotton bud* steril. Michaelsen dkk. (2009: 162) berhasil memperoleh sampel kapang dari buku abad ke-16 ‘Le Stanze del Bandello’ dengan metode *non invasive sampling* menggunakan kapas steril yang dililit pada lidi mirip *cotton bud*. Pinzari dkk. (2010: 8) juga berhasil memperoleh sampel kapang dari manuskrip-manuskrip kuno dengan metode *non invasive sampling* menggunakan kapas steril yang dililit pada lidi mirip *cotton bud*. Metode tersebut tidak merusak manuskrip, murah, dan mudah dilakukan.

Tabel 4.1. Kondisi fisik dari empat manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon

<b>Manuskrip Kuno Kertas Daluang</b>	<b>Kondisi Fisik</b>
Kitab Adabul Muta'alimin	Jilidan dan sampul masih baik
	Tepi-tepi kertas tidak menggulung dan tidak sobek
	Terdapat bercak-bercak berwarna cokelat dan hitam pada permukaan kertas

Tabel 4.1. (sambungan)

<b>Manuskrip Kuno Kertas Daluang</b>	<b>Kondisi Fisik</b>
Kitab Dusut	Sampul terlepas
	Lembaran-lembaran kertas terlepas dari jilidan
	Tepi-tepi kertas menggulung dan sobek
	Terdapat banyak bercak-bercak berwarna cokelat pada permukaan kertas
Kitab Path Rohman	Jilidan dan sampul masih baik
	Tepi-tepi kertas tidak menggulung dan tidak sobek
	Terdapat banyak spora dan noda berwarna cokelat pada permukaan kertas
Kitab Tauhid	Jilidan dan sampul masih baik
	Tepi-tepi kertas tidak menggulung dan tidak sobek
	Terdapat noda berwarna cokelat pada permukaan kertas

#### 4.2. Isolasi Kapang dari Manuskrip Kuno Kertas Daluang

Isolasi kapang dari manuskrip kuno kertas daluang Kitab Adabul Muta'alimin, Kitab Dusut, Kitab Path Rohman, dan Kitab Tauhid dengan meletakkan kapas hasil pengambilan sampel pada medium *Dichloran 18% Glycerol* (DG18) dengan penambahan kloramfenikol, hanya menghasilkan satu isolat. Kapang tumbuh di sekitar kapas setelah diinkubasi pada suhu 27°C selama lima hari. Isolat tersebut diberi kode KT5 sesuai dengan asal kapang tersebut diisolasi, yaitu dari Kitab Tauhid.

Metode isolasi yang digunakan memiliki kelemahan, sehingga isolat kapang yang diperoleh kurang representatif dari asal kapang diisolasi, yaitu manuskrip kuno kertas daluang. Metode isolasi dengan peletakan kapas hasil pengambilan sampel dapat menyebabkan spora-spora dari berbagai jenis kapang menempel pada permukaan medium dengan jarak yang sangat berdekatan. Spora-spora dari kapang dengan laju pertumbuhan cepat akan mendominasi medium dan menekan pertumbuhan kapang lain dengan laju pertumbuhan lambat, sehingga

hanya kapang dengan laju pertumbuhan cepat yang tumbuh pada medium. Hal tersebut menyebabkan isolat kapang yang diperoleh kurang representatif. Untuk mengatasi hal tersebut, kapas hasil pengambilan sampel sebaiknya dimasukkan ke dalam akuades steril dan dilakukan vorteks agar spora-spora kapang yang menempel pada kapas terlepas dan tersuspensi dalam akuades. Suspensi spora kemudian disebar pada medium isolasi dalam cawan Petri.

Penggunaan medium DG18 dengan penambahan kloramfenikol sebagai medium isolasi didasarkan pada asal kapang diisolasi, yaitu dari manuskrip kuno kertas daluang. Menurut Pinzari dkk. (2010: 10), banyak fungi yang hidup pada kertas bersifat xerofilik. Atlas (2010: 1 & 593) menyatakan bahwa medium DG18 tepat digunakan untuk isolasi kapang xerofilik dari lingkungan yang memiliki kadar air rendah. Komposisi medium DG18 adalah dikloran, gliserol 18% (v/v), glukosa, pepton,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , dan agar. Dikloran berfungsi menghambat perkembangan fungi dengan laju pertumbuhan cepat, misalnya *Eurotium Link*, dan sedikit menghambat perkembangan fungi xerofilik lain dengan laju pertumbuhan lambat. Gliserol berfungsi mengurangi kadar air dalam medium. Glukosa merupakan sumber karbon, dan agar berfungsi sebagai pemanjat medium. Pitt dan Hocking (1980: 488--491) melaporkan bahwa medium DG18 memiliki nilai  $a_w$  0,95. Mueller dkk. (2004: 340) menyatakan bahwa kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Isolasi dilakukan kembali karena hanya memperoleh satu isolat kapang. Isolasi diulang dengan memindahkan semua kapas dari medium DG18 ke medium *Plate Count Agar* (PCA). Isolasi kapang dari empat manuskrip kuno kertas daluang menggunakan medium PCA menghasilkan 16 isolat (Tabel 4.2). Kapang yang diperoleh dari Kitab Dusut berjumlah tujuh isolat. Kapang yang diperoleh dari Kitab Adabul Muta'alimin berjumlah empat isolat. Kapang yang diperoleh dari Kitab Path Rohman berjumlah tiga isolat. Kapang yang diperoleh dari Kitab Tauhid berjumlah dua isolat. Isolat kapang yang diperoleh dipastikan berasal dari manuskrip kuno kertas daluang dan bukan dari udara karena koloni tumbuh di sekitar kapas hasil pengambilan sampel ketika ditumbuhkan pada medium dalam cawan Petri. Keenam belas isolat kapang tersebut diberi kode berdasarkan nama

manuskrip kuno asal kapang diisolasi.

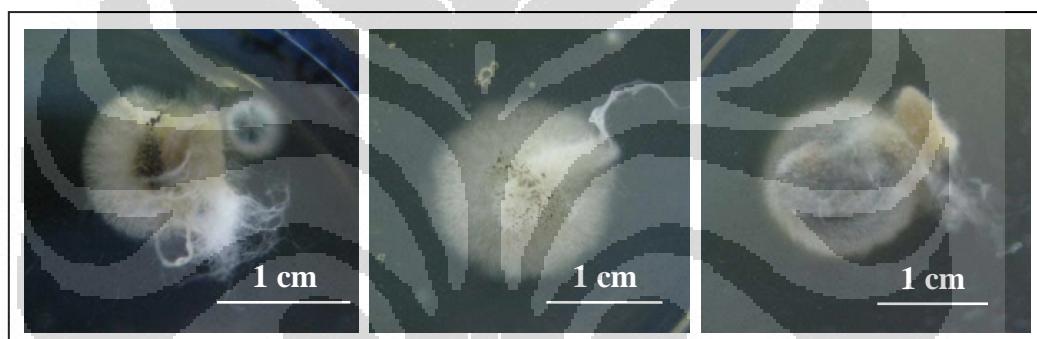
Medium PCA merupakan medium non selektif, sehingga dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri, khamir, dan kapang (Harrigan & McCance 1966: 107). Komposisi PCA terdiri dari tripton, ekstrak khamir, glukosa, dan agar. Tripton digunakan sebagai sumber nitrogen. Ekstrak khamir digunakan sebagai sumber karbohidrat, protein, lipid, asam nukleat, dan vitamin (Atlas 2010: 1, 3, 4, 6 & 7). Komposisi tersebut menunjukkan bahwa medium PCA merupakan medium umum dan tidak mengandung senyawa khusus yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu, sehingga penggunaan medium PCA dalam isolasi menghasilkan banyak isolat kapang.

Jumlah isolat kapang paling banyak diperoleh dari Kitab Dusut, yaitu tujuh isolat. Hasil tersebut berkorelasi dengan kondisi fisik Kitab Dusut. Berdasarkan hasil pengamatan kondisi fisik dari keempat manuskrip kuno kertas daluang pada 17 Desember 2011, Kitab Dusut memiliki kondisi fisik yang paling rusak dibandingkan ketiga manuskrip kuno kertas daluang lainnya. Kerusakan tersebut berupa lembaran-lembaran kertas yang terlepas dari jilidan, tepi-tepi kertas yang menggulung dan sobek, serta banyak tanda-tanda kerusakan oleh fungi berupa bercak-bercak berwarna cokelat dan hitam. Lembaran-lembaran kertas yang terlepas dari jilidan menyebabkan lebih banyak permukaan kertas yang terpapar udara dan spora-spora kapang dari udara dapat jatuh ke permukaan kertas tersebut. Jika kondisi lingkungan mendukung, maka spora-spora kapang tersebut akan berkecambah pada kertas.

Jumlah isolat kapang paling banyak diperoleh dari bagian ketebalan samping, sampul depan, dan bagian dalam manuskrip kuno, masing-masing sebanyak empat isolat. Hal tersebut berkorelasi dengan susunan peletakan manuskrip kuno dan bagian manuskrip kuno yang paling sering terpapar udara. Manuskrip-manuskrip kuno di Keraton Kasepuhan, Cirebon, disusun bertumpuk secara horizontal di dalam lemari kayu, sehingga bagian ketebalan samping merupakan bagian manuskrip yang terpapar udara secara konstan. Udara mengandung spora-spora kapang. Spora-spora kapang di udara dapat jatuh ke sampul depan dan bagian dalam manuskrip ketika manuskrip tersebut sedang digunakan atau dalam keadaan terbuka. Jika substrat dan kondisi lingkungan

(terutama suhu dan kelembapan relatif) sesuai untuk pertumbuhan kapang, maka spora-spora kapang yang jatuh ke manuskrip akan berkecambah. Menurut Sterflinger dan Pinzari (2011: 3), spora-spora kapang dari udara dapat jatuh ke berbagai benda yang terpapar udara, dan selanjutnya berkecambah pada benda tersebut.

Koloni-koloni kapang yang tumbuh di sekitar kapas (Gambar 4.2) selanjutnya diinokulasikan ke medium DG18 dengan penambahan kloramfenikol dan *rose bengal* untuk dilakukan pemurnian. Hasil pemurnian diperoleh 12 isolat dari 16 isolat kapang. Menurut Atlas (2010: 593), *rose bengal* berfungsi untuk memperlambat pertumbuhan fungi dengan laju pertumbuhan cepat, sehingga membiarkan pertumbuhan fungi lain dengan laju pertumbuhan lambat.



Gambar 4.2. Pertumbuhan koloni kapang di sekitar kapas hasil pengambilan sampel di medium PCA setelah 2–6 hari diinkubasi pada suhu 27°C

[Sumber: Dokumen pribadi.]

Tabel 4.2. Hasil pengamatan isolasi kapang dari manuskrip kuno kertas daluung asal Keraton Kasepuhan, Cirebon, di medium PCA pada suhu 27° C

Nama Manuskrip	Bagian Manuskrip	Jumlah Koloni	Tumbuh pada Hari ke-	Jumlah Total Koloni	Kode Isolat
Kitab Adabul Muta'alimin (KAM)	KJ	1	6		KAM1
	KA	-	-		-
	KS	-	-		-
	KB	1	5	4	KAM4
	SD	-	-		-
	SB	-	-		-
Kitab Dusut (KD)	BD	2	3 5		KAM7 KAM8
	KJ	1	2		KD1
	KA	-	-		-
	KS	2	2 3		KD3A KD3B
	KB	-	-	7	-
	SD	3	5 3		KD5A KD5B KD5C
Kitab Path Rohman (KPR)	SB	-	-		-
	BD	1	6		KD7
	KJ	1	2		KPR1
	KA	-	-		-
	KS	1	2		KPR3
	KB	-	-	3	-
Kitab Tauhid (KT)	SD	-	-		-
	SB	-	-		-
	BD	1	5		KPR7
	KJ	-	-		-
	KA	1	6		KT2
	KS	1	6		KT3
	KB	-	-	2	-
	SD	-	-		-
	SB	-	-		-
	BD	-	-		-

Keterangan:

KJ = Ketebalan Jilidan  
 KA = Ketebalan Atas  
 KS = Ketebalan Samping  
 KB = Ketebalan Bawah

SD = Sampul Depan  
 SB = Sampul Belakang  
 BD = Bagian Dalam

### **4.3. Persiapan Inokulum untuk Pengujian Kemampuan Kapang Selulolitik**

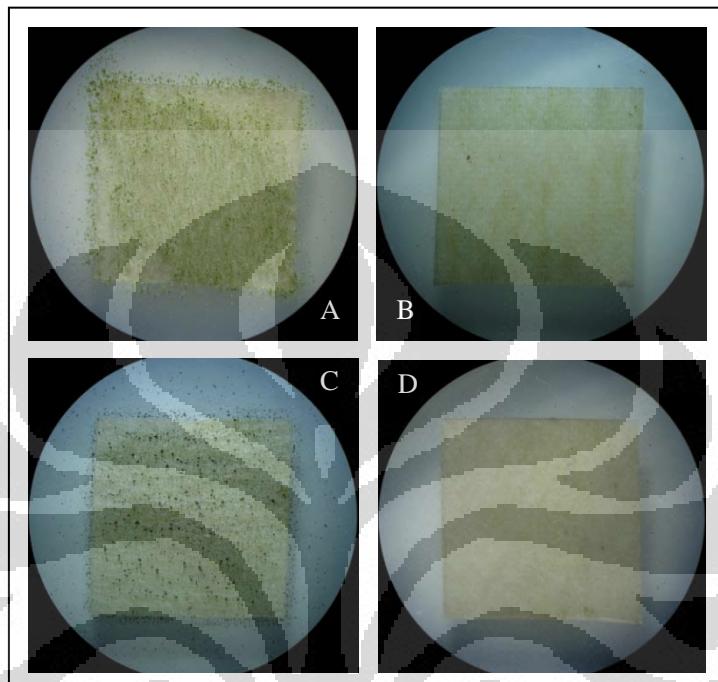
Penghitungan jumlah sel/ml suspensi kapang dilakukan pada 12 isolat kapang dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon, sebelum digunakan sebagai inokulum dalam pengujian. Hasil penghitungan jumlah sel kapang menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) menunjukkan bahwa kisaran jumlah sel dalam inokulum adalah  $10^7$  sel/ml. Penghitungan jumlah sel/ml suspensi kapang dilakukan untuk mempersiapkan inokulum yang digunakan dalam pengujian isolat-isolat kapang pada substrat kertas daluang dan *carboxymethyl cellulose* (CMC). Kisaran jumlah sel dalam inokulum dari setiap isolat kapang uji diseragamkan menjadi  $10^7$  sel/ml untuk mencegah adanya perbedaan hasil, bukan karena jumlah sel dalam inokulum. Hasil penghitungan jumlah sel kapang menggunakan metode TPC dapat dilihat pada Lampiran 2. Kader dan Omar (1998: 2) menggunakan inokulum dengan kisaran jumlah sel  $10^7$  per ml dalam pengujian kemampuan kapang selulolitik.

### **4.4. Pengujian Isolat-isolat Kapang Menggunakan Medium CDA dengan Substrat Kertas Daluang**

Hasil pengujian isolat-isolat kapang pada substrat kertas daluang (Tabel 4.4) dengan metode *filter paper* menunjukkan bahwa 12 isolat kapang mampu tumbuh pada potongan kertas daluang. Pertumbuhan kapang pada potongan kertas daluang ditunjukkan dengan adanya hifa dan spora pada permukaan kertas (Gambar 4.4). Potongan kertas daluang yang diteteskan akuades tidak menunjukkan adanya pertumbuhan kapang. Potongan kertas daluang yang diteteskan suspensi *Aspergillus niger* UICC 371 ( $10^7$  sel/ml) sebagai kontrol positif menunjukkan adanya pertumbuhan kapang. Potongan kertas daluang yang diteteskan suspensi *Rhizopus oryzae* UICC 24B ( $10^7$  sel/ml) sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan adanya pertumbuhan kapang. Oberkotter dan Rosenberg (1978: 206) melakukan pengujian pertumbuhan dan aktivitas endoglukanase bakteri *Cellvibrio vulgaris* menggunakan metode *filter paper*

dengan kertas saring Whatman No. 1 sebagai sumber karbon tunggal.

Kemampuan *Cellvibrio vulgaris* untuk tumbuh pada kertas saring Whatman No. 1 menunjukkan bahwa bakteri tersebut memanfaatkan kertas saring sebagai sumber karbon tunggal untuk pertumbuhannya.



Gambar 4.4. Hasil pengujian (A) suspensi kapang uji, (B) akuades, (C) suspensi *Aspergillus niger* UICC 371, dan (D) suspensi *Rhizopus oryzae* UICC 24B pada potongan kertas daluang steril di medium CDA tanpa sumber karbon, pada suhu 27°C, hari ke-6  
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Isolat kapang yang tumbuh pada potongan kertas daluang mengindikasikan bahwa kapang tersebut memiliki kemampuan selulolitik dengan mendegradasi selulosa dalam kertas daluang untuk memperoleh glukosa dan senyawa sederhana lain. Isolat kapang yang tumbuh pada potongan kertas daluang tersebut diperkirakan dapat tumbuh juga pada manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan di Cirebon. Menurut Arroyo (2009: 41), fungi yang tumbuh pada bahan yang mengandung selulosa menyekresikan selulase yang menghidrolisis selulosa menjadi glukosa untuk diserap oleh fungi. Permadi (2010: 6) melaporkan bahwa kertas daluang terbuat dari kulit batang pohon saeh.

Jo dkk. (2011: 129) menyatakan bahwa dinding sel tumbuhan mengandung selulosa, hemiselulosa, dan lignin.

Tabel 4.4. Hasil pengujian isolat-isolat kapang pada medium CDA dengan substrat kertas daluang setelah inkubasi pada suhu 27°C selama enam hari

<b>Kontrol/isolat (20 µl)</b>	<b>Pertumbuhan</b>		
	<b>Pengulangan I</b>	<b>Pengulangan II</b>	<b>Pengulangan III</b>
Akuades	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i> UICC 371	+	+	+
<i>Rhizopus oryzae</i> UICC 24B	-	-	-
KAM4	+	+	+
KAM8	+	+	+
KD1	+	+	+
KD3A	+	+	+
KD3B	+	+	+
KD5A	+	+	+
KD5B	+	+	+
KD5C	+	+	+
KD7	+	+	+
KPR1	+	+	+
KPR3	+	+	+
KT5	+	+	+

Keterangan:

+ = ada pertumbuhan kapang;

- = tidak ada pertumbuhan kapang

#### 4.5. Pengujian Isolat-isolat Kapang Menggunakan Medium CDA dengan Penambahan *Carboxymethyl Cellulose* (CMC)

Pengujian isolat-isolat kapang dengan metode sumur dilakukan untuk mengetahui isolat-isolat kapang dengan kemampuan selulolitik. Pengujian dilakukan pada 12 isolat kapang yang telah bersporulasi penuh. Metode sumur dengan kombinasi penggunaan pewarna *Congo red* memerlukan waktu inkubasi

yang lebih singkat dibandingkan metode selulosa-azur. Mangunwardoyo dkk. (2011: 211) menyatakan bahwa pengujian kemampuan selulolitik dengan metode sumur membutuhkan waktu inkubasi selama satu hari setelah penetesan *Congo red*, sedangkan metode selulosa-azur membutuhkan waktu inkubasi selama 30 hari. Onsori dkk. (2005: 27) berhasil melakukan penapisan 13 kapang *Aspergillus* menggunakan metode sumur untuk mengetahui kapang dengan kemampuan menghasilkan enzim endoglukanase tertinggi.

Hasil pengujian isolat-isolat kapang dengan metode sumur menunjukkan 6 dari 12 isolat kapang membentuk zona bening di sekitar koloni (Gambar 4.5). Enam isolat kapang tersebut memiliki kemampuan selulolitik pada CMC yang mengindikasikan adanya endoglukanase. Zona bening yang terbentuk bervariasi dalam tingkat beningnya, mulai dari yang tidak terlalu bening hingga yang sangat bening. Hal tersebut menunjukkan bahwa setiap kapang uji memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam menggunakan sumber karbon CMC. Zona bening yang sangat bening mengindikasikan bahwa CMC terdegradasi secara lengkap menjadi monomer-monomer glukosa, sehingga tidak dapat berikatan lagi dengan *Congo red* dan tidak mewarnai medium. Zona bening yang tidak terlalu bening mengindikasikan bahwa CMC terdegradasi menjadi fragmen-fragmen yang lebih pendek dan masih memiliki ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida, sehingga dapat berikatan dengan *Congo red* dan mewarnai medium. Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni menunjukkan bahwa kapang dapat menggunakan CMC dengan menyekresikan enzim ekstraseluler.

Diketahui bahwa CMC hanya dapat dihidrolisis oleh enzim endoglukanase. Kapang-kapang yang dapat menggunakan CMC diduga menghasilkan enzim endoglukanase dan dapat menggunakan hasil hidrolisis CMC untuk pertumbuhannya. Kumari dkk. (2011: 3) menyatakan bahwa adanya zona bening di sekitar koloni merupakan bukti bahwa fungi menyekresikan selulase untuk menghidrolisis selulosa. Menurut Hyun dkk. (2006: 108--109) fungi menyekresikan selulase dari ujung-ujung hifa. Selulase tersebut berdifusi secara radial ke medium. Menurut Teather dan Wood (1982: 777) *Congo red* dapat berikatan secara kuat dengan polisakarida yang memiliki ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida. Jahangeer dkk. (2005: 739) menyatakan bahwa selulosa merupakan

polisakarida yang memiliki ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida. Yuan dkk. (2001: 324) menyatakan bahwa selulase yang disekresikan kapang memutus ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida dari selulosa dalam medium dan menyebabkan *Congo red* tidak dapat berikatan lagi dengan selulosa, sehingga zona bening akan terbentuk di sekitar koloni.

Diameter zona bening yang diperoleh dikonversi menjadi nilai Indeks Aktivitas Selulase (IAS) (Tabel 4.5). Nilai IAS berturut-turut mulai dari yang paling besar diperoleh dari isolat KD5C, KD5B, KAM4, KPR3, KD1, dan KAM8. Semakin besar nilai IAS berarti semakin besar kemampuan kapang menggunakan substrat selulosa (CMC). Tiga dari enam isolat kapang yang dapat membentuk zona bening berasal dari Kitab Dusut, dan dua dari tiga isolat tersebut memiliki nilai IAS yang paling besar. Jumlah terbanyak dari isolat kapang dengan kemampuan selulolitik berasal dari Kitab Dusut. Hal tersebut berkorelasi dengan kondisi fisik Kitab Dusut. Berdasarkan hasil pengamatan, Kitab Dusut merupakan manuskrip kuno yang kondisi fisiknya paling rusak dibandingkan tiga manuskrip kuno lainnya yang digunakan dalam pengambilan sampel.

Tabel 4.5. Hasil pengujian isolat-isolat kapang menggunakan medium CDA dengan penambahan CMC, inkubasi pada suhu 27°C selama 24 jam

Kontrol/isolat	Pengulangan	Diameter (mm)		IAS	IAS Rata-rata ± SD
		Zona bening	Koloni		
Akuades	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i> UICC 371	I	24,23	17,83	0,36	0,59 ± 0,22
	II	29,92	16,75	0,79	
	III	31,05	19,16	0,62	
<i>Rhizopus oryzae</i> UICC 24B	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
KAM4	I	26,98	13,93	0,94	0,91 ± 0,07
	II	27,16	13,96	0,95	
	III	28,20	15,41	0,83	
KAM8	I	38,85	27,73	0,40	0,41 ± 0,01
	II	39,29	27,74	0,42	
	III	39,30	27,76	0,42	

Tabel 4.5. (sambungan)

<b>Kontrol/isolat</b>	<b>Pengu-langan</b>	<b>Diameter (mm)</b>		<b>IAS</b>	<b>IAS Rata-rata ± SD</b>
		<b>Zona bening</b>	<b>Koloni</b>		
KD1	I	29,58	17,44	0,70	
	II	27,09	17,85	0,52	0,65 ± 0,11
	III	35,05	20,26	0,73	
KD3A	I	-	+	-	
	II	-	+	-	
	III	-	+	-	
KD3B	I	-	+	-	
	II	-	+	-	
	III	-	+	-	
KD5A	I	-	+	-	
	II	-	+	-	
	III	-	+	-	
KD5B	I	40,89	20,19	1,03	
	II	41,91	21,43	0,96	0,97 ± 0,05
	III	41,92	21,72	0,93	
KD5C	I	41,76	20,50	1,04	
	II	41,80	20,55	1,03	1,04 ± 0,01
	III	41,83	20,55	1,04	
KD7	I	-	+	-	
	II	-	+	-	
	III	-	+	-	
KPR1	I	-	+	-	
	II	-	+	-	
	III	-	+	-	
KPR3	I	32,51	19,68	0,65	
	II	34,54	19,55	0,77	0,74 ± 0,08
	III	35,52	19,74	0,80	
KT5	I	-	+	-	
	II	-	+	-	
	III	-	+	-	

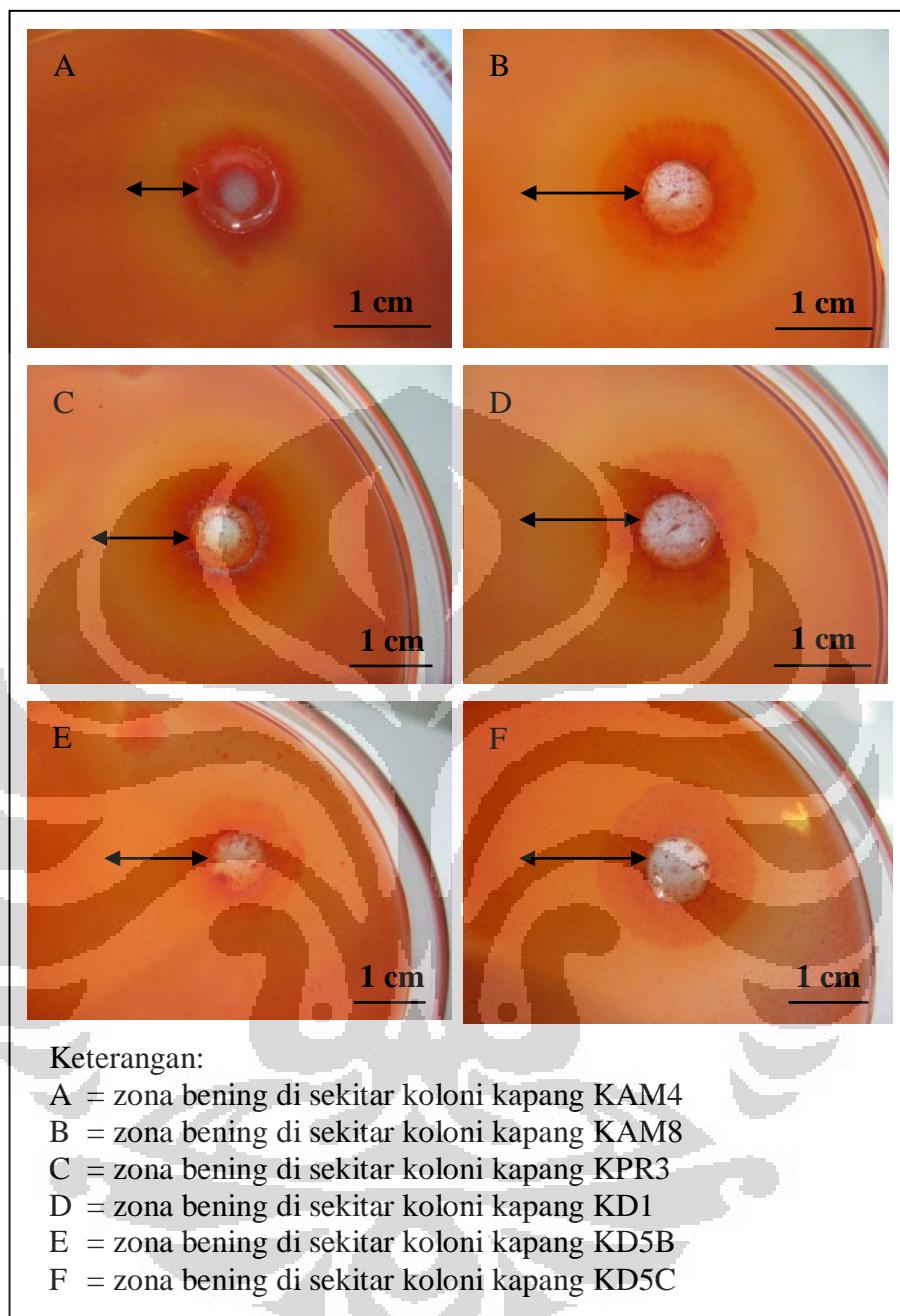
Keterangan:

IAS = Indeks Aktivitas Selulase

SD = Standar Deviasi

- = tidak ada zona bening

+ = ada pertumbuhan koloni



Gambar 4.5. Variasi tingkat kebeningan zona bening dari enam isolat kapang berbeda di medium CDA dengan penambahan CMC pada suhu 27° C

[Sumber: Dokumen pribadi.]

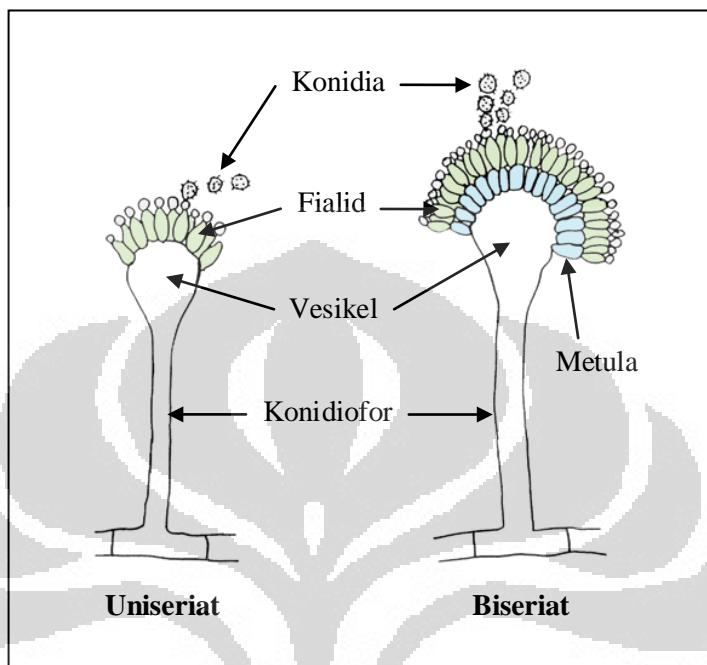
#### **4.6. Identifikasi Kapang secara Konvensional Berdasarkan Karakter Morfologi**

Identifikasi secara konvensional pada kapang dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon, dilakukan dengan mengamati karakter morfologi. Dua belas isolat kapang yang diisolasi dari manuskrip kuno Kitab Adabul Muta'alimin, Kitab Dusut, Kitab Path Rohman, dan Kitab Tauhid teridentifikasi sebagai *Aspergillus* (empat isolat dengan kode KAM8, KD3A, KD5C, dan KT5), *Eurotium* (satu isolat dengan kode KD5A), dan *Penicillium* (tujuh isolat dengan kode KAM4, KD1, KD3B, KD5B, KD7, KPR1, dan KPR3). Genus yang paling banyak ditemukan adalah *Penicillium*. Hasil identifikasi kapang secara konvensional hingga tingkat genus berdasarkan karakter morfologi adalah sebagai berikut.

##### **4.6.1. *Aspergillus* sp. KAM8, *Aspergillus* sp. KD3A, *Aspergillus* sp. KD5C, dan *Aspergillus* sp. KT5**

Pengamatan karakter morfologi dilakukan pada isolat kapang KAM8, KD3A, KD5C, dan KT5 berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C. Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang KAM8, KD3A, KD5C, dan KT5 tidak memperlihatkan alat reproduksi seksual. Hal tersebut menunjukkan kapang KAM8, KD3A, KD5C, dan KT5 berada pada fase anamorf. Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik memperlihatkan alat reproduksi aseksual (konidia), fialid, vesikel, konidiofor, dan hifa. Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik menunjukkan bahwa kapang KAM8, KD3A, KD5C, dan KT5 termasuk ke dalam genus *Aspergillus* sesuai dengan deskripsi kapang *Aspergillus* dalam *Introduction to Food and Airborne-Fungi* oleh Samson dkk. (2004: 64). Menurut Samson dkk. (2004: 64), kapang *Aspergillus* menghasilkan konidia dari fialid. Jika fialid melekat langsung pada ujung konidiofor yang membengkak (vesikel), maka tipe seriasi adalah uniseriat. Jika fialid melekat pada metula, maka tipe seriasi adalah

biseriat. Koloni *Aspergillus* dapat berwarna putih, kuning, cokelat, hitam atau hijau. Tipe seriasi pada *Aspergillus* dapat dilihat pada Gambar 4.6.1.(1).



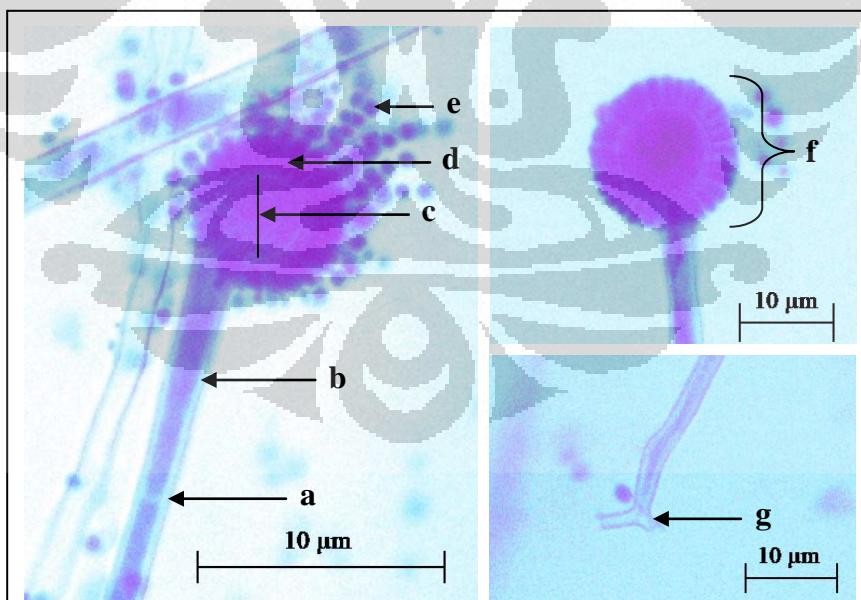
Gambar 4.6.1.(1). Tipe seriasi pada *Aspergillus*  
[Sumber: Ellis dkk. 2007: 8, dengan modifikasi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Aspergillus* sp. KAM8 (Tabel 4.6.1 & Gambar 4.6.1.(2)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: konidia berbentuk bulat dengan diameter berkisar 1,80--3,15 µm. Kepala konidia berbentuk *radiate* dan berukuran (19,83--23,73) x (20,79--25,86) µm. Fialid melekat langsung pada vesikel, sehingga tipe seriasi adalah uniseriat. Vesikel berbentuk semibulat hingga bulat. Hifa memiliki septa dan tidak berpigmen. Lebar hifa berkisar 3,56--6,04 µm.

Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari kapang *Aspergillus* sp. KAM 8 (Tabel 4.6.1 & Gambar 4.6.1.(3)) memperlihatkan koloni berwarna *lemon cadmium* sesuai dengan standar warna Faber Castell. Sebalik koloni memberikan warna kuning pada medium. Koloni bertekstur *velvety*. Koloni tidak memiliki zonasi, *growing zone*, *exudate drops*, dan *radial furrow*.

Tabel 4.6.1.(1). Hasil pengamatan karakter morfologi *Aspergillus* sp. KAM8 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

Pengamatan	Karakter Morfologi	<i>Aspergillus</i> sp. KAM8
Mikroskopik	Spora seksual	Tidak ada
	Bentuk konidia	Bulat
	Diameter konidia	1,80--3,15 µm
	Bentuk kepala konidia	<i>Radiate</i>
	Ukuran kepala konidia	(19,83--23,73)x (20,79--25,86) µm
	Tipe seriasi	Uniseriat
	Bentuk vesikel	Semibulat hingga bulat
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa	3,56--6,04 µm
	Warna koloni	<i>Lemon cadmium</i>
Makroskopik	Tekstur koloni	<i>Velvety</i>
	Zonasi	Tidak ada
	<i>Growing zone</i>	Tidak ada
	<i>Exudate drops</i>	Tidak ada
	<i>Radial furrow</i>	Tidak ada
	Warna sebalik koloni	Kuning



Gambar 4.6.1.(2). Struktur *Aspergillus* sp. KAM8 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

[Sumber: Dokumen pribadi.]



Gambar 4.6.1.(3). Koloni *Aspergillus* sp. KAM8 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

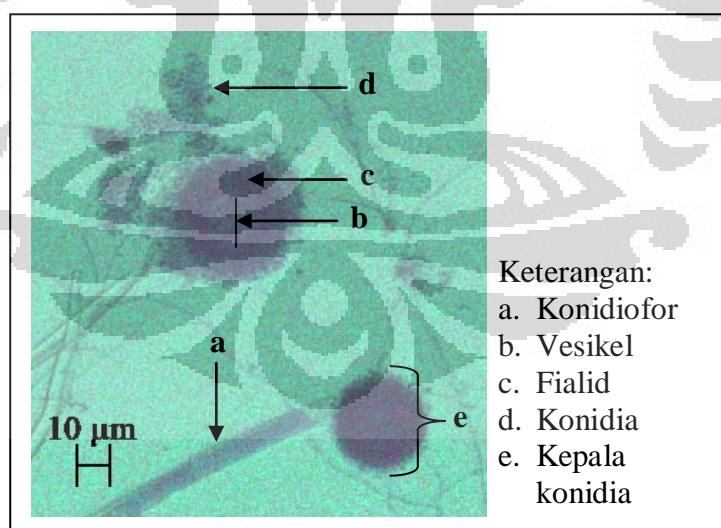
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Aspergillus* sp. KD3A (Tabel 4.6.1.(2) & Gambar 4.6.1.(4)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: konidia berbentuk bulat dengan diameter berkisar 1,42--2,14 µm. Kepala konidia berbentuk *radiate* dan berukuran (28,85--62,93) x (30,44--73,76) µm. Fialid melekat langsung pada vesikel, sehingga tipe seriasi adalah uniseriat. Vesikel berbentuk bulat. Hifa bersepta dan tidak berpigmen. Lebar hifa berkisar 5,14--8,79 µm.

Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari kapang *Aspergillus* sp. KD3A (Tabel 4.6.1.(2) & Gambar 4.6.1.(5)) memperlihatkan koloni berwarna *van Dyck brown* sesuai dengan standar warna Faber Castell. Sebalik koloni tidak memberikan warna pada medium atau hialin. Koloni bertekstur *woolly*. Koloni tidak memiliki zonasi, *growing zone*, *exudate drops*, dan *radial furrow*.

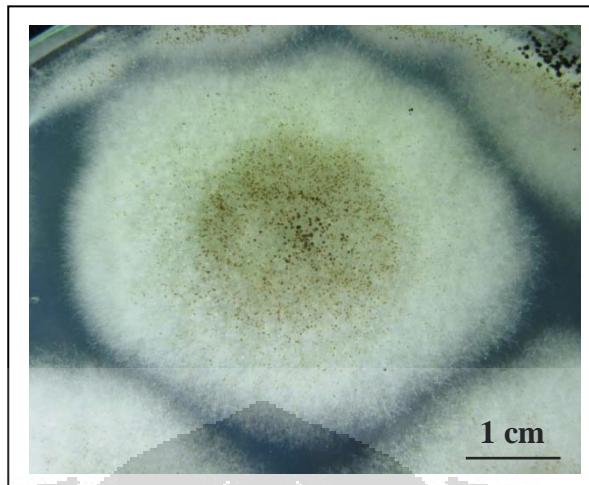
Tabel 4.6.1.(2). Hasil pengamatan karakter morfologi *Aspergillus* sp. KD3A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

Pengamatan	Karakter Morfologi	<i>Aspergillus</i> sp. KD3A
Mikroskopik	Spora seksual	Tidak ada
	Bentuk konidia	Bulat
	Diameter konidia	1,42--2,14 µm
	Bentuk kepala konidia	<i>Radiate</i>
	Ukuran kepala konidia	(28,85--62,93)x (30,44--73,76) µm
	Tipe seriasi	Uniseriat
	Bentuk vesikel	Bulat
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa	5,14--8,79 µm
	Warna koloni	<i>van Dyck brown</i>
Makroskopik	Tekstur koloni	<i>Wooly</i>
	Zonasi	Tidak ada
	<i>Growing zone</i>	Tidak ada
	<i>Exudate drops</i>	Tidak ada
	<i>Radial furrow</i>	Tidak ada
	Warna sebalik koloni	Hialin



Gambar 4.6.1.(4). Struktur *Aspergillus* sp. KD3A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

[Sumber: Dokumen pribadi.]



Gambar 4.6.1.(5). Koloni *Aspergillus* sp. KD3A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

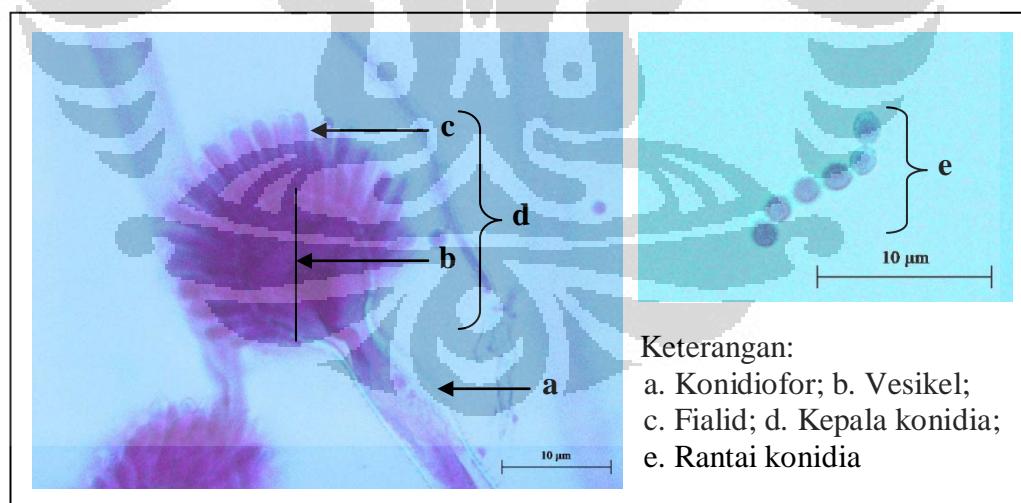
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Aspergillus* sp. KD5C (Tabel 4.6.1.(3) & Gambar 4.6.1.(6)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: konidia berbentuk bulat dengan diameter berkisar 1,54--2,18 µm. Kepala konidia berbentuk *columnar* dan berukuran (19,87--23,11) x (23,17--28,90) µm. Fialid melekat langsung pada vesikel, sehingga tipe seriasi adalah uniseriat. Vesikel berbentuk semibulat. Hifa bersepta dan tidak berpigmen. Lebar hifa berkisar 1,74--6,02 µm.

Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari kapang *Aspergillus* sp. KD5C (Tabel 4.6.1.(3) & Gambar 4.6.1.(7)) memperlihatkan koloni berwarna lemon sesuai dengan standar warna Faber Castell. Sebalik koloni memberikan warna kuning pada medium. Koloni bertekstur *velvety*, memiliki *exudate drops* dan *radial furrow*. Koloni tidak memiliki zonasi dan *growing zone*.

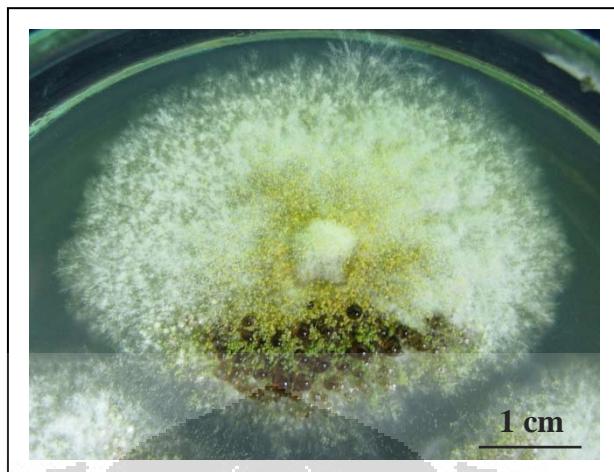
Tabel 4.6.1.(3). Hasil pengamatan karakter morfologi *Aspergillus* sp. KD5C umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

Pengamatan	Karakter Morfologi	<i>Aspergillus</i> sp. KD5C
Mikroskopik	Spora seksual	Tidak ada
	Bentuk konidia	Bulat
	Diameter konidia	1,54--2,18 µm
	Bentuk kepala konidia	<i>Columnar</i>
	Ukuran kepala konidia	(19,87--23,11)x (23,17--28,90) µm
	Tipe seriasi	Uniseriat
	Bentuk vesikel	Semibulat
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa	1,74--6,02 µm
	Warna koloni	Lemon
Makroskopik	Tekstur koloni	<i>Velvety</i>
	Zonasi	Tidak ada
	<i>Growing zone</i>	Tidak ada
	<i>Exudate drops</i>	Ada
	<i>Radial furrow</i>	Ada
	Warna sebalik koloni	Kuning



Gambar 4.6.1.(6). Struktur *Aspergillus* sp. KD5C umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

[Sumber: Dokumen pribadi.]



Gambar 4.6.1.(7). Koloni *Aspergillus* sp. KD5C umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

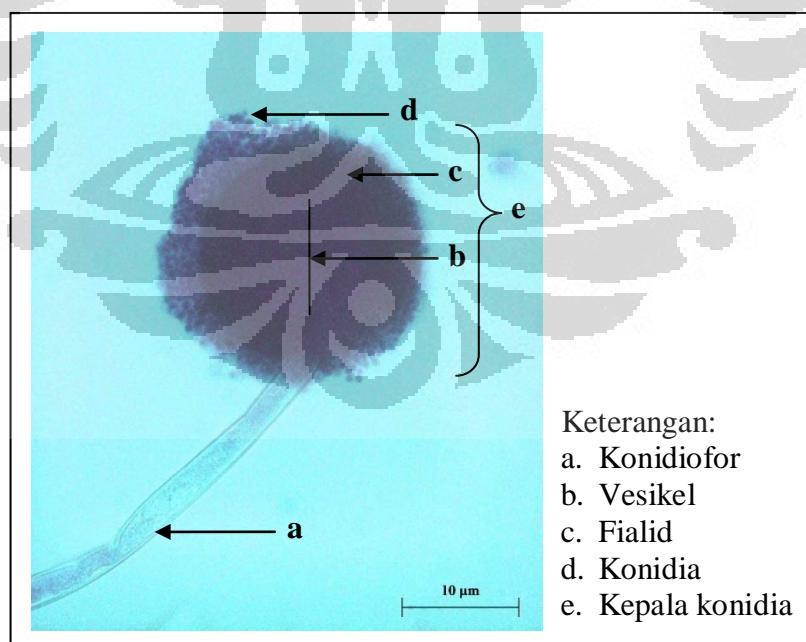
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Aspergillus* sp. KT5 (Tabel 4.6.1.(4) & Gambar 4.6.1.(8)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: konidia berbentuk bulat dengan diameter berkisar 1,40--1,86 µm. Kepala konidia berbentuk *radiate* dan berukuran (16,87--27,91) x (17,48--28,26) µm. Fialid melekat langsung pada vesikel, sehingga tipe seriasi adalah uniseriat. Vesikel berbentuk bulat. Hifa bersepta dan tidak berpigmen. Lebar hifa berkisar 1,35--3,86 µm.

Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari kapang *Aspergillus* sp. KT5 (Tabel 4.6.1.(4) & Gambar 4.6.1.(9)) memperlihatkan koloni berwarna *dark sepia* sesuai dengan standar warna Faber Castell. Sebalik koloni tidak memberikan warna pada medium atau hialin. Koloni bertekstur *granular* dan memiliki *growing zone*. Koloni tidak memiliki zonasi, *exudate drops*, dan *radial furrow*.

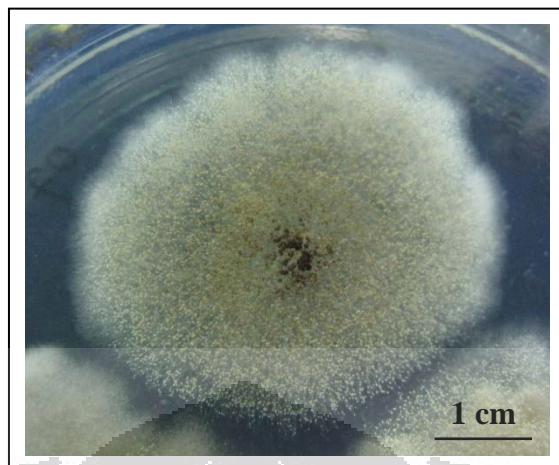
Tabel 4.6.1.(4). Hasil pengamatan karakter morfologi *Aspergillus* sp. KT5 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

Pengamatan	Karakter Morfologi	<i>Aspergillus</i> sp. KT5
Mikroskopik	Spora seksual	Tidak ada
	Bentuk konidia	Bulat
	Diameter konidia	1,40--1,86 µm
	Bentuk kepala konidia	<i>Radiate</i>
	Ukuran kepala konidia	(16,87--27,91)x (17,48--28,26) µm
	Tipe seriasi	Uniseriat
	Bentuk vesikel	Bulat
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa	1,35--3,86 µm
	Warna koloni	<i>Dark sepia</i>
Makroskopik	Tekstur koloni	<i>Granular</i>
	Zonasi	Tidak ada
	<i>Growing zone</i>	Ada
	<i>Exudate drops</i>	Tidak ada
	<i>Radial furrow</i>	Tidak ada
	Warna sebalik koloni	Hialin



Gambar 4.6.1.(8). Struktur *Aspergillus* sp. KT5 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

[Sumber: Dokumen pribadi.]



Gambar 4.6.1.(9). Koloni *Aspergillus* sp. KT5 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

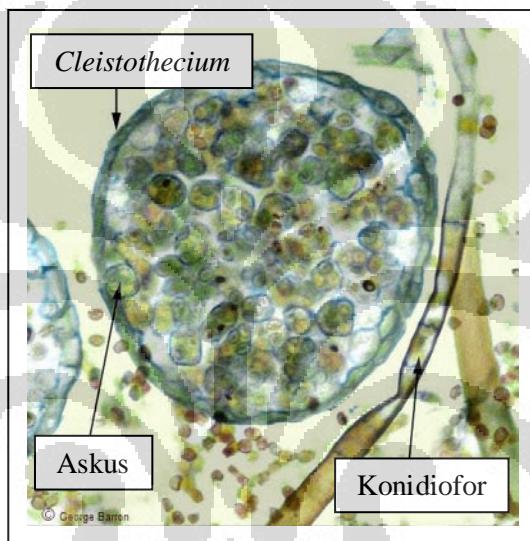
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Berdasarkan hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dan makroskopik dari keempat genus *Aspergillus* tersebut diketahui bahwa *Aspergillus* sp. KAM8, *Aspergillus* sp. KD3A, dan *Aspergillus* sp. KT5 termasuk ke dalam *Aspergillus niger-group*, dan *Aspergillus* sp. KD5C termasuk ke dalam *Aspergillus terreus-group* sesuai dengan monografi *Introduction to Food and Airborne-Fungi* oleh Samson dkk. (2004: 76 & 90). *Aspergillus niger* memiliki kepala konidia berbentuk *radiate* dan tipe seriasi *biseriate*. Konidia dan vesikel berbentuk semibulat hingga bulat. *Aspergillus terreus* memiliki kepala konidia berbentuk *columnar* dan tipe seriasi *biseriate*. Konidia berbentuk bulat hingga elips. Vesikel berbentuk semibulat. *Aspergillus niger* dan *Aspergillus terreus* umum ditemukan pada lingkungan di dalam bangunan (*indoor environment*) dan merupakan penghasil mikotoksin (Samson dkk. 2004: 76 & 90).

#### 4.6.2. *Eurotium* sp. KD5A

Pengamatan karakter morfologi dilakukan pada isolat kapang KD5A berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C. Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang KD5A memperlihatkan struktur reproduksi seksual berupa askus berbentuk semibulat yang berisi empat

askospora. Hal tersebut menunjukkan kapang KD5A berada pada fase teleomorf. Kapang tersebut terlihat memiliki *cleistothecia*. Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik menunjukkan bahwa kapang KD5A termasuk ke dalam genus *Eurotium* sesuai dengan deskripsi kapang *Eurotium* dalam *Fungi and Food Spoilage* oleh Pitt dan Hocking (2009: 281). Menurut Pitt dan Hocking (2009: 281), *Eurotium* termasuk ke dalam filum *Ascomycota* dan merupakan teleomorf dari *Aspergillus*. Kapang *Eurotium* menghasilkan askokarp berupa *cleistothecia*. Semua spesies *Eurotium* bersifat xerofilik.



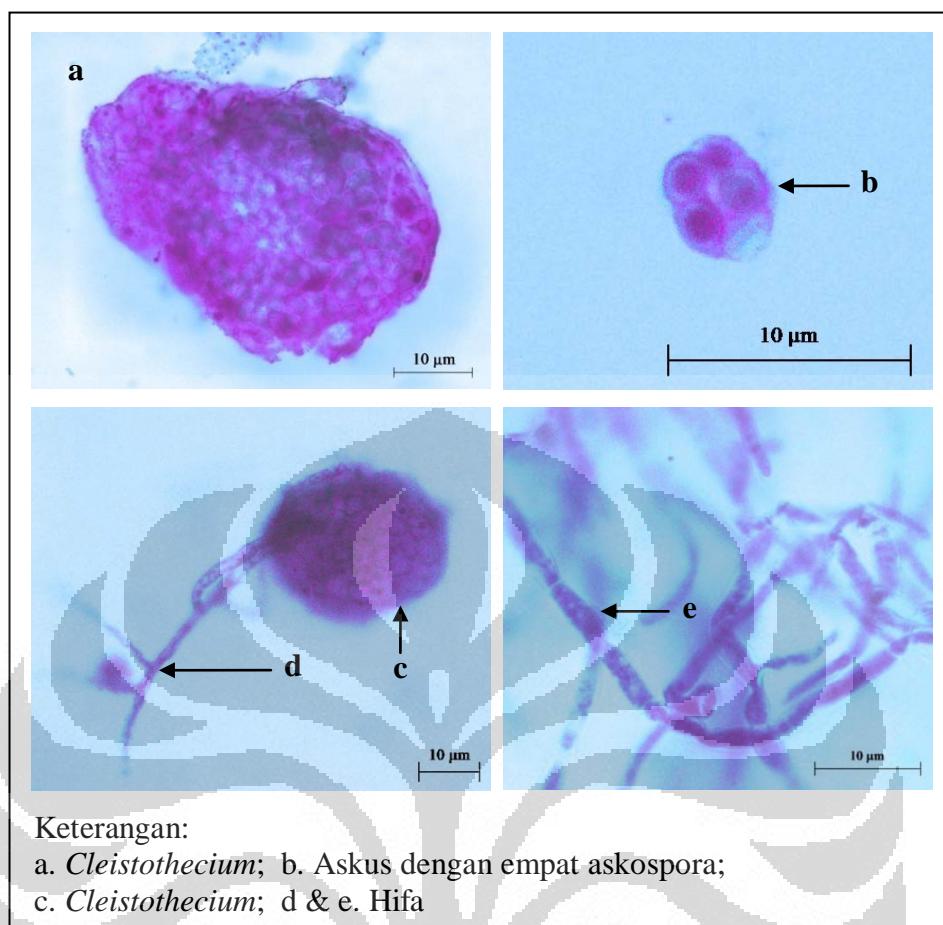
Gambar 4.6.2.(1). *Cleistothecium* berbentuk semibulat dengan askus-askus di bagian dalam pada *Eurotium*  
[Sumber: Barron 2009: 1, dengan modifikasi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Eurotium* sp. KD5A (Tabel 4.6.2 & Gambar 4.6.2.(2)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: askus berbentuk oval hingga semibulat dan berukuran 4,52 x 5,64 µm. Askus berisi empat askospora berbentuk oval. *Eurotium* sp. KD5A memiliki askokarp berupa *cleistothecia* dengan ukuran berkisar (27,52--36,55) x (32,10--48,11) µm. Hifa bersepta dan tidak berpigmen. Lebar hifa fertil berkisar 1,79--3,18 µm. Lebar hifa vegetatif berkisar 1,59--3,28 µm.

Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari kapang *Eurotium* sp. KD5A (Tabel 4.6.2 & Gambar 4.6.2.(3)) memperlihatkan koloni berwarna *zinc yellow* sesuai dengan standar warna Faber Castell. Sebalik koloni tidak memberikan warna pada medium atau hialin. Koloni bertekstur *velvety*. Koloni tidak memiliki zonasi, *growing zone*, *exudate drops*, dan *radial furrow*.

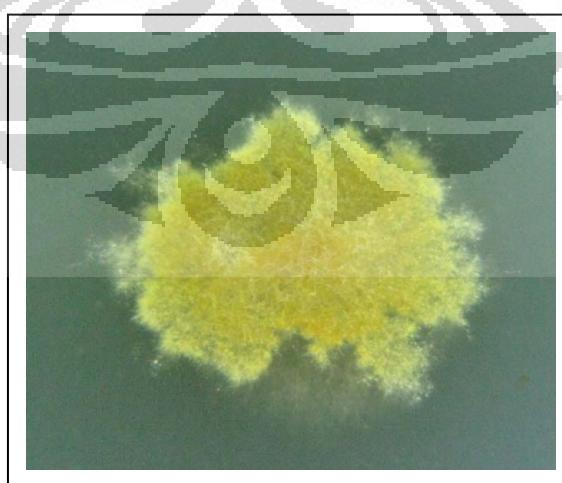
Tabel 4.6.2. Hasil pengamatan karakter morfologi *Eurotium* sp. KD5A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

<b>Pengamatan</b>	<b>Karakter Morfologi</b>	<b><i>Eurotium</i> sp. KD5A</b>
Mikroskopik	Tipe spora seksual	Askospora
	Bentuk spora seksual	Oval hingga semibulat
	Tipe karpus seksual	<i>Cleistothecia</i>
	Ukuran karpus seksual	(27,52--36,55)x (32,10--48,11) µm
	Konidia	Tidak ada
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa fertil	1,79--3,18 µm
	Lebar hifa vegetatif	1,59--3,28 µm
	Warna koloni	<i>Zinc yellow</i>
	Tekstur koloni	<i>Velvety</i>
Makroskopik	Zonasi	Tidak ada
	<i>Growing zone</i>	Tidak ada
	<i>Exudate drops</i>	Tidak ada
	<i>Radial furrow</i>	Tidak ada
	Warna sebalik koloni	Hialin



Gambar 4.6.2.(2). Struktur *Eurotium* sp. KD5A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

[Sumber: Dokumen pribadi.]



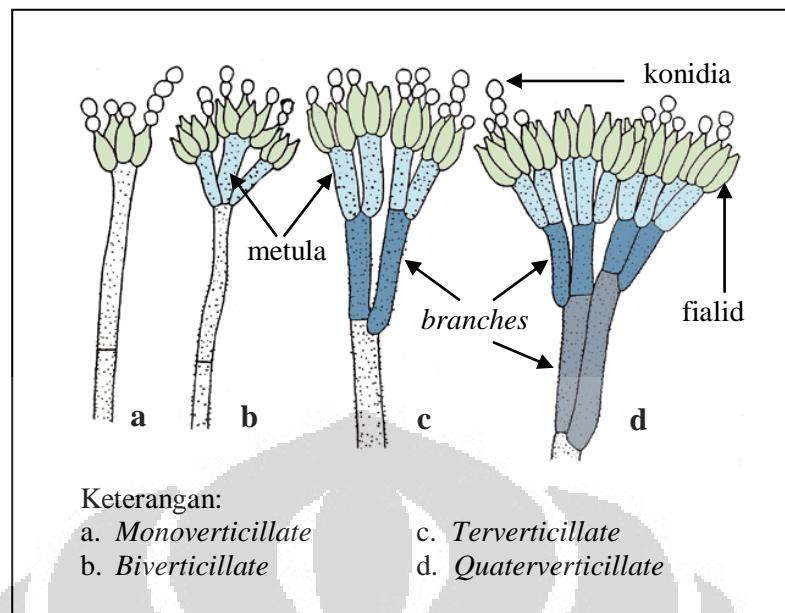
Gambar 4.6.2.(3). Koloni *Eurotium* sp. KD5A umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

[Sumber: Dokumen pribadi.]

Universitas Indonesia

4.6.3. *Penicillium* sp. KAM4, *Penicillium* sp. KD1, *Penicillium* sp. KD3B, *Penicillium* sp. KD5B, *Penicillium* sp. KD7, *Penicillium* sp. KPR1, dan *Penicillium* sp. KPR3

Pengamatan karakter morfologi dilakukan pada isolat kapang KAM4, KD1, KD3B, KD5B, KD7, KPR1, dan KPR3 berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27° C. Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang KAM4, KD1, KD3B, KD5B, KD7, KPR1, dan KPR3 tidak memperlihatkan alat reproduksi seksual. Hal tersebut menunjukkan kapang KAM4, KD1, KD3B, KD5B, KD7, KPR1, dan KPR3 berada pada fase anamorf. Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik memperlihatkan alat reproduksi aseksual (konidia), fialid, metula, konidiofor, dan hifa. Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik menunjukkan bahwa kapang KAM4, KD1, KD3B, KD5B, KD7, KPR1, dan KPR3 termasuk ke dalam genus *Penicillium* sesuai dengan deskripsi kapang *Penicillium* dalam *Introduction to Food and Airborne-Fungi* oleh Samson dkk. (2004: 64). Menurut Samson dkk. (2004: 64), kapang *Penicillium* memiliki konidia bersel tunggal, berbentuk bulat atau oval, dan tersusun seperti rantai yang memanjang. Konidia dihasilkan oleh fialid yang berbentuk seperti labu dengan bagian ujung yang menyempit. Bagian basal fialid melekat pada metula. Sel yang terletak di antara metula dan konidiofor disebut sebagai cabang (*branch*). Tipe-tipe percabangan atau *branching pattern* pada *Penicillium* (Gambar 4.6.3.(1)) adalah *simple* (*monoverticillate*), *one-stage branched* (*biverticillate*), *two-stage branched* (*terverticillate*) atau *three-stage branched* (*quaterverticillate*).



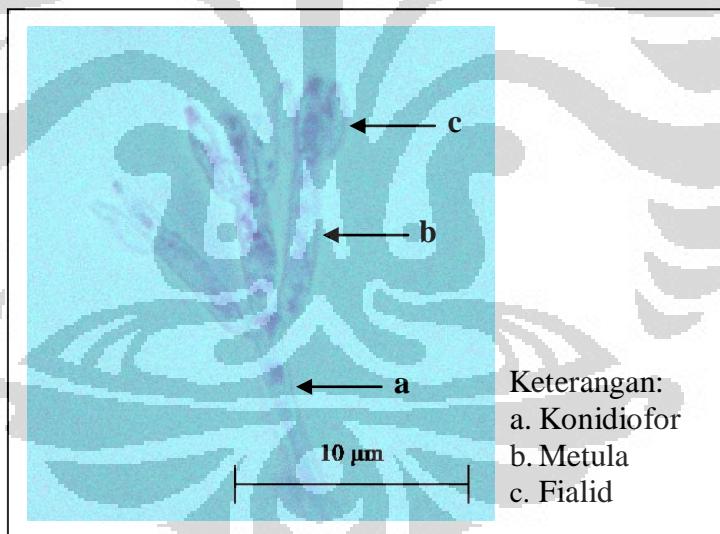
Gambar 4.6.3.(1). Struktur dan tipe-tipe percabangan pada *Penicillium*  
[Sumber: Ellis dkk. 2007: 108, dengan modifikasi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KAM4 (Tabel 4.6.3.(1) & Gambar 4.6.3.(2)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: konidia berbentuk bulat dengan diameter berkisar 0,87--1,09 µm. Hifa bersepta dan tidak berpigmen. Lebar hifa berkisar 1,09--1,28 µm. *Penicillium* sp. KAM4 memiliki tipe percabangan *biverticillate*.

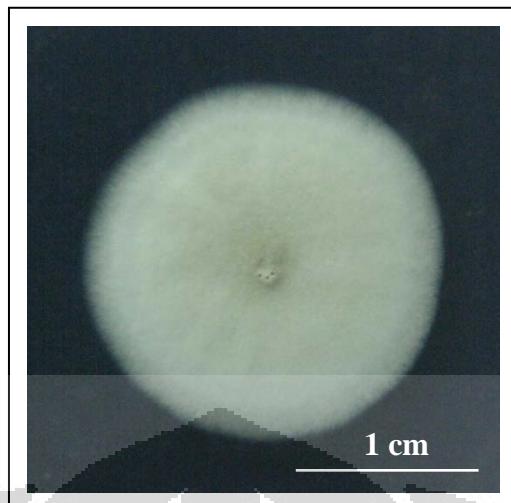
Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KAM4 (Tabel 4.6.3.(1) dan Gambar 4.6.3.(3)) memperlihatkan koloni berwarna putih. Sebalik koloni tidak memberikan warna pada medium atau hialin. Koloni bertekstur *granular*, memiliki *growing zone* dan *exudate drops*. Koloni tidak memiliki zonasi dan *radial furrow*.

Tabel 4.6.3.(1). Hasil pengamatan karakter morfologi *Penicillium* sp. KAM4 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

Pengamatan	Karakter Morfologi	<i>Penicillium</i> sp. KAM4
Mikroskopik	Spora seksual	Tidak ada
	Bentuk konidia	Bulat
	Diameter konidia	0,87--1,09 µm
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa	1,09--1,28 µm
Makroskopik	Tipe percabangan	<i>Biverticillate</i>
	Warna koloni	Putih
	Tekstur koloni	<i>Granular</i>
	Zonasi	Tidak ada
	<i>Growing zone</i>	Ada
	<i>Exudate drops</i>	Ada
	<i>Radial furrow</i>	Tidak ada
	Warna sebalik koloni	Hialin



Gambar 4.6.3.(2). Struktur *Penicillium* sp. KAM4 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C  
[Sumber: Dokumen pribadi.]



Gambar 4.6.3.(3). Koloni *Penicillium* sp. KAM4 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

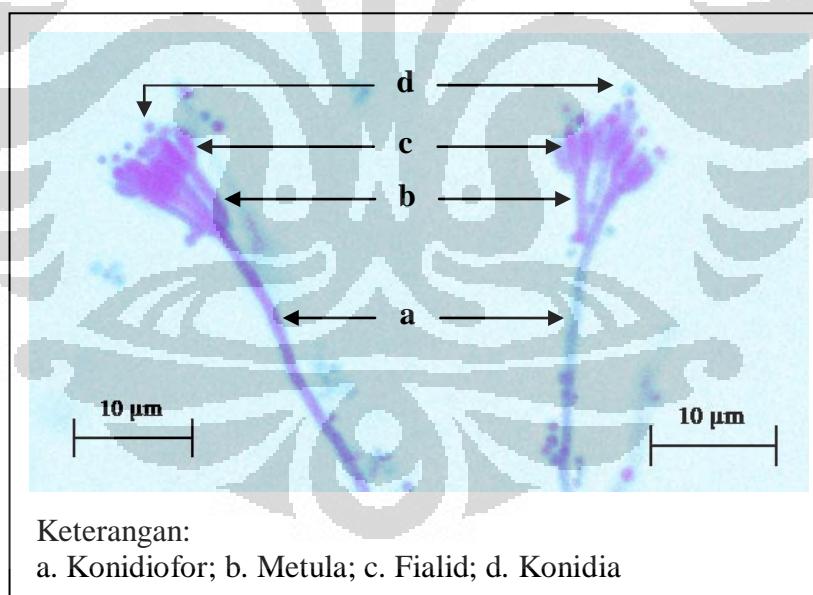
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KD1 (Tabel 4.6.3.(2) & Gambar 4.6.3.(4)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: konidia berbentuk bulat dengan diameter berkisar 0,75--1,09 µm. Hifa bersepta dan tidak berpigmen. Lebar hifa berkisar 0,87--1,35 µm. *Penicillium* sp. KD1 memiliki tipe percabangan *biverticillate*.

Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KD1 (Tabel 4.6.3.(2) & Gambar 4.6.3.(5)) memperlihatkan koloni berwarna *zinc yellow* sesuai dengan standar warna Faber Castell. Sebalik koloni memberikan warna kuning pada medium. Koloni bertekstur *granular*. Koloni tidak memiliki zonasi, *growing zone*, *exudate drops*, dan *radial furrow*.

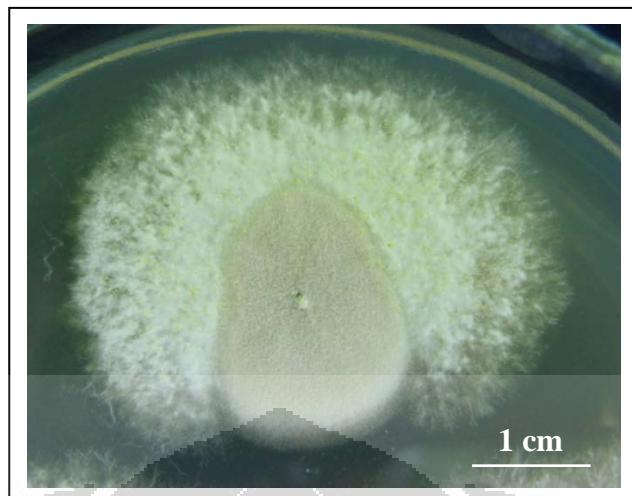
Tabel 4.6.3.(2). Hasil pengamatan karakter morfologi *Penicillium* sp. KD1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

Pengamatan	Karakter Morfologi	<i>Penicillium</i> sp. KD1
Mikroskopik	Spora seksual	Tidak ada
	Bentuk konidia	Bulat
	Diameter konidia	0,75--1,09 µm
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa	0,87--1,35 µm
Makroskopik	Tipe percabangan	<i>Biverticillate</i>
	Warna koloni	<i>Zinc yellow</i>
	Tekstur koloni	<i>Granular</i>
	Sporulasi	Ada
	Zonasi	Tidak ada
	<i>Growing zone</i>	Tidak ada
	<i>Exudate drops</i>	Tidak ada
	<i>Radial furrow</i>	Tidak ada
	Warna sebalik koloni	Kuning



Gambar 4.6.3.(4). Struktur *Penicillium* sp. KD1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

[Sumber: Dokumen pribadi.]



Gambar 4.6.3.(5). Koloni *Penicillium* sp. KD1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

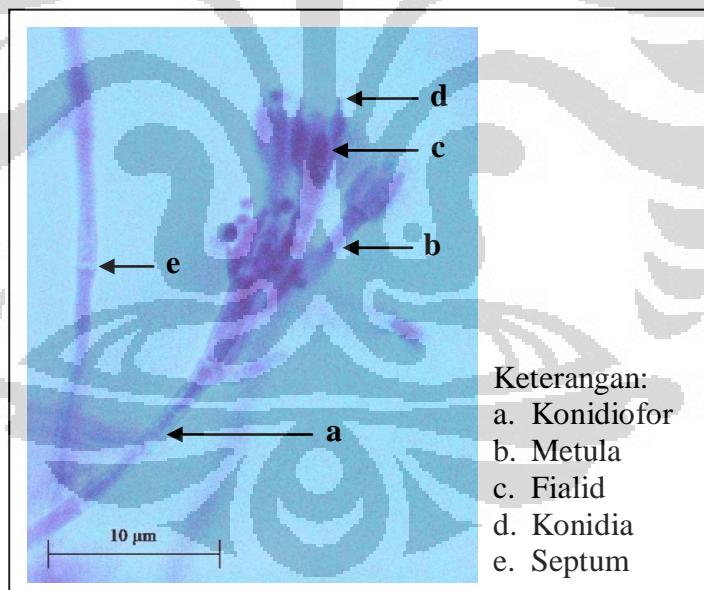
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KD3B (Tabel 4.6.3.(3) & Gambar 4.6.3.(6)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: konidia berbentuk bulat dengan diameter berkisar 0,66--1,28 µm. Hifa bersepta dan tidak berpigmen. Lebar hifa berkisar 0,79--1,54 µm. *Penicillium* sp. KD3B memiliki tipe percabangan *biverticillate*.

Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KD3B (Tabel 4.6.3.(3) & Gambar 4.6.3.(7)) memperlihatkan koloni berwarna *cream* sesuai dengan standar warna Faber Castell. Sebalik koloni tidak memberikan warna pada medium atau hialin. Koloni bertekstur *granular*. Koloni memiliki *growing zone*, *exudate drops*, dan *radial furrow*. Zonasi tidak ditemukan.

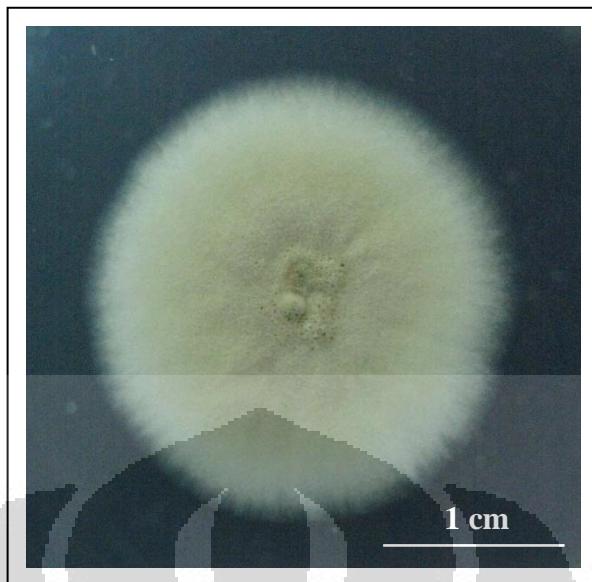
Tabel 4.6.3.(3). Hasil pengamatan karakter morfologi *Penicillium* sp. KD3B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

Pengamatan	Karakter Morfologi	<i>Penicillium</i> sp. KD3B
Mikroskopik	Spora seksual	Tidak ada
	Bentuk konidia	Bulat
	Diameter konidia	0,66--1,28 µm
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa	0,79--1,54 µm
Makroskopik	Tipe percabangan	<i>Biverticillate</i>
	Warna koloni	Cream
	Tekstur koloni	Granular
	Zonasi	Tidak ada
	<i>Growing zone</i>	Ada
	<i>Exudate drops</i>	Ada
	<i>Radial furrow</i>	Ada
	Warna sebalik koloni	Hialin



Gambar 4.6.3.(6). Struktur *Penicillium* sp. KD3B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

[Sumber: Dokumen pribadi.]



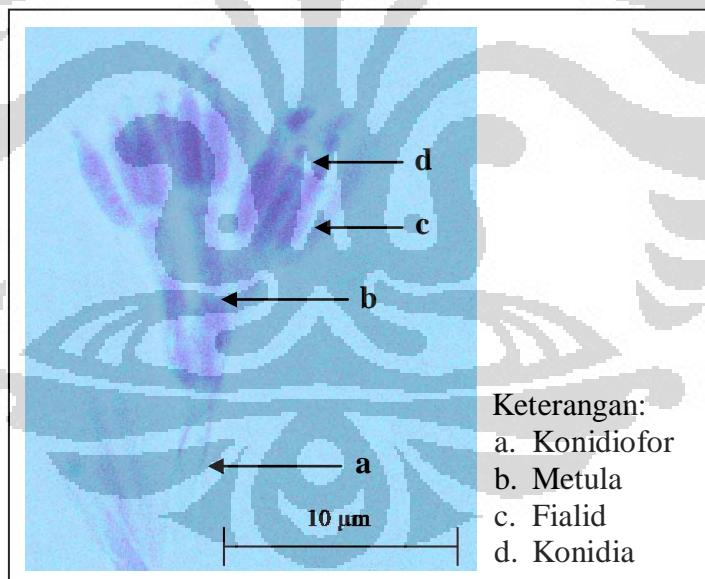
Gambar 4.6.3.(7). Koloni *Penicillium* sp. KD3B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C  
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KD5B (Tabel 4.6.3.(4) & Gambar 4.6.3.(8)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: konidia berbentuk bulat dengan diameter berkisar 0,87--1,27 µm. Hifa bersepta dan tidak berpigmen. Lebar hifa berkisar 0,98--1,23 µm. *Penicillium* sp. KD5B memiliki tipe percabangan *biverticillate*.

Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KD5B (Tabel 4.6.3.(4) dan Gambar 4.6.3.(9)) memperlihatkan koloni berwarna putih sesuai dengan standar warna Faber Castell. Sebalik koloni tidak memberikan warna pada medium atau hialin. Koloni bertekstur *granular*, memiliki *growing zone* dan *radial furrow*. Koloni tidak memiliki zonasi dan *exudate drops*.

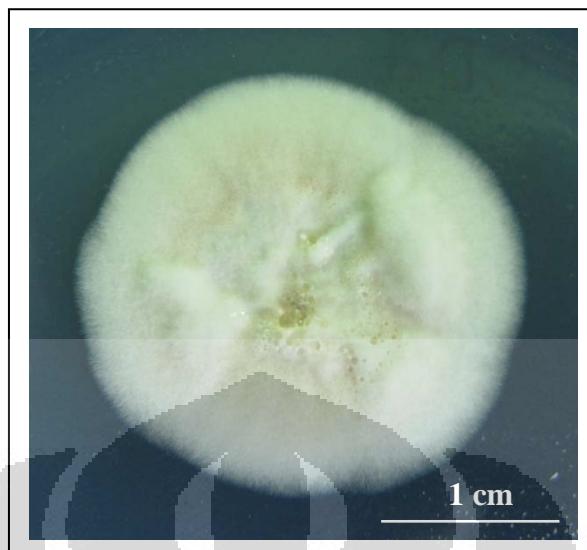
Tabel 4.6.3.(4). Hasil pengamatan karakter morfologi *Penicillium* sp. KD5B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

Pengamatan	Karakter Morfologi	<i>Penicillium</i> sp. KD5B
Mikroskopik	Spora seksual	Tidak ada
	Bentuk konidia	Bulat
	Diameter konidia	0,87--1,27 µm
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa	0,98--1,23 µm
Makroskopik	Tipe percabangan	<i>Biverticillate</i>
	Warna koloni	Putih
	Tekstur koloni	<i>Granular</i>
	Zonasi	Tidak ada
	<i>Growing zone</i>	Ada
	<i>Exudate drops</i>	Tidak ada
	<i>Radial furrow</i>	Ada
	Warna sebalik koloni	Hialin



Gambar 4.6.3.(8). Struktur *Penicillium* sp. KD5B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

[Sumber: Dokumen pribadi.]



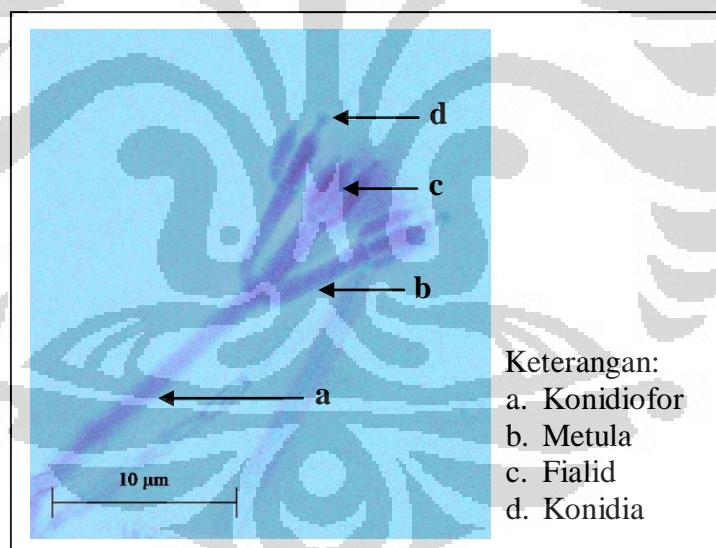
Gambar 4.6.3.(9). Koloni *Penicillium* KD5B umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C  
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KD7 (Tabel 4.6.3.(5) & Gambar 4.6.3.(10)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: konidia berbentuk bulat dengan diameter berkisar 0,7--1,09 µm. Hifa bersepta dan tidak berpigmen. Lebar hifa berkisar 0,80--1,12 µm. *Penicillium* sp. KD7 memiliki tipe percabangan *biverticillate*.

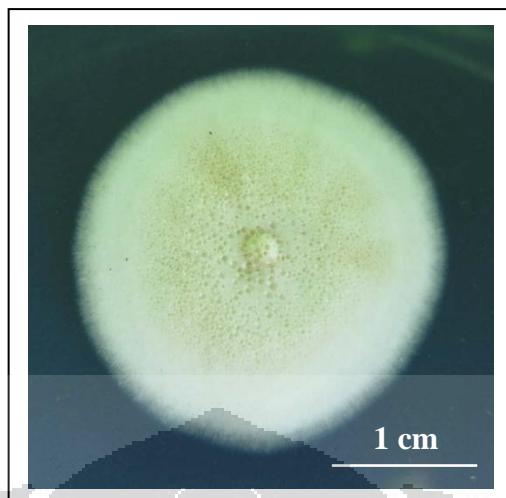
Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KD7 (Tabel 4.6.3.(5) & Gambar 4.6.3.(11)) memperlihatkan koloni berwarna putih sesuai dengan standar warna Faber Castell. Sebalik koloni tidak memberikan warna pada medium atau hialin. Koloni bertekstur *granular* dan memperlihatkan *growing zone*. Koloni tidak memiliki zonasi, *exudate drops*, dan *radial furrow*.

Tabel 4.6.3.(5). Hasil pengamatan karakter morfologi *Penicillium* sp. KD7 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

Pengamatan	Karakter Morfologi	<i>Penicillium</i> sp. KD7
Mikroskopik	Spora seksual	Tidak ada
	Bentuk konidia	Bulat
	Diameter konidia	0,7--1,09 µm
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa	0,80--1,12 µm
Makroskopik	Tipe percabangan	<i>Biverticillate</i>
	Warna koloni	Putih
	Tekstur koloni	<i>Granular</i>
	Zonasi	Tidak ada
	<i>Growing zone</i>	Ada
	<i>Exudate drops</i>	Tidak ada
	<i>Radial furrow</i>	Tidak ada
	Warna sebalik koloni	Hialin



Gambar 4.6.3.(10). Struktur *Penicillium* sp. KD7 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C  
[Sumber: Dokumen pribadi.]



Gambar 4.6.3.(11). Koloni *Penicillium* KD7 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

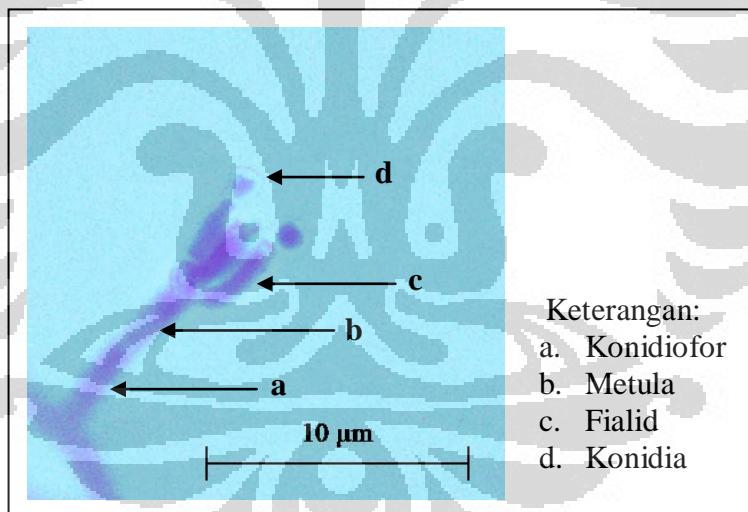
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KPR1 (Tabel 4.6.3.(6) & Gambar 4.6.3.(12)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: konidia berbentuk bulat dengan diameter berkisar 1,27--2,04 µm. Hifa bersepta dan tidak berpigmen. Lebar hifa berkisar 1,27--2,53 µm. *Penicillium* sp. KPR1 memiliki tipe percabangan *monoverticillate*.

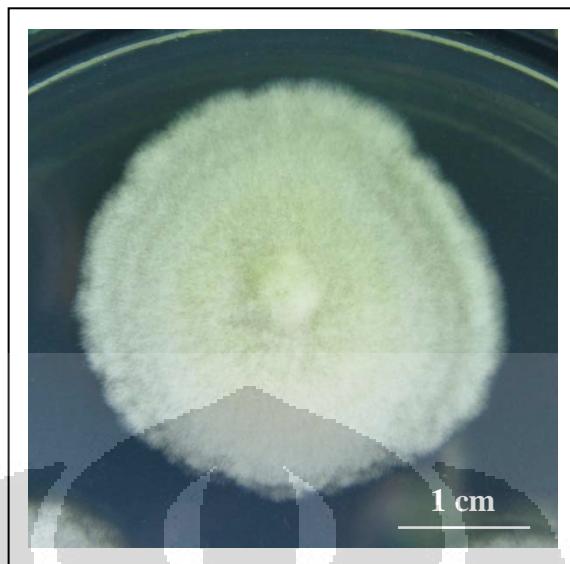
Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KPR1 (Tabel 4.6.3.(6) & Gambar 4.6.3.(13)) memperlihatkan koloni berwarna putih sesuai dengan standar warna Faber Castell. Sebalik koloni tidak memberikan warna pada medium atau hialin. Koloni bertekstur *velvety*, memiliki zonasi dan *growing zone*. Koloni tidak memiliki *exudate drops* dan *radial furrow*.

Tabel 4.6.3.(6). Hasil pengamatan karakter morfologi *Penicillium* sp. KPR1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

Pengamatan	Karakter Morfologi	<i>Penicillium</i> sp. KPR1
Mikroskopik	Spora seksual	Tidak ada
	Bentuk konidia	Bulat
	Diameter konidia	1,27--2,04 µm
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa	1,27--2,53 µm
Makroskopik	Tipe percabangan	<i>Monoverticillate</i>
	Warna koloni	Putih
	Tekstur koloni	<i>Velvety</i>
	Zonasi	Ada
	<i>Growing zone</i>	Ada
	<i>Exudate drops</i>	Tidak ada
	<i>Radial furrow</i>	Tidak ada
Warna sebalik koloni		Hialin



Gambar 4.6.3.(12). Struktur *Penicillium* sp. KPR1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C  
[Sumber: Dokumen pribadi.]



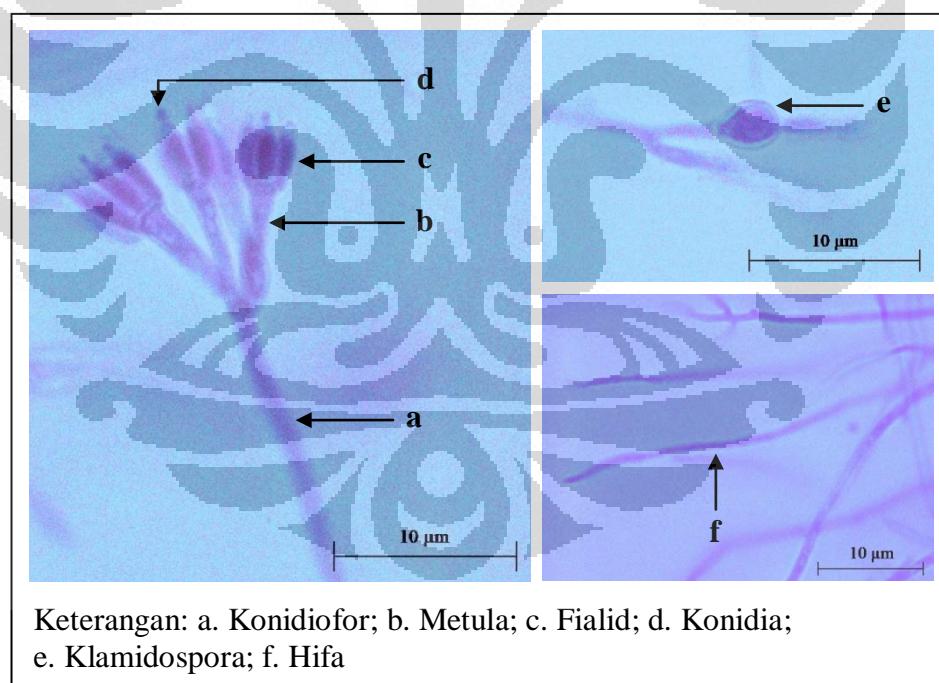
Gambar 4.6.3.(13). Koloni *Penicillium* sp. KPR1 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C  
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Hasil pengamatan karakter morfologi secara mikroskopik dari kapang *Penicillium* sp. KPR3 (Tabel 4.6.3.(7) & Gambar 4.6.3.(14)) berumur tujuh hari, di medium CDA, pada suhu 27°C, memperlihatkan struktur-struktur sebagai berikut: konidia berbentuk bulat dengan diameter berkisar 0,74--1,09 µm. Hifa bersepta dan tidak berpigmen. Lebar hifa berkisar 0,82--1,61 µm. *Penicillium* sp. KPR3 memiliki tipe percabangan *biverticillate*.

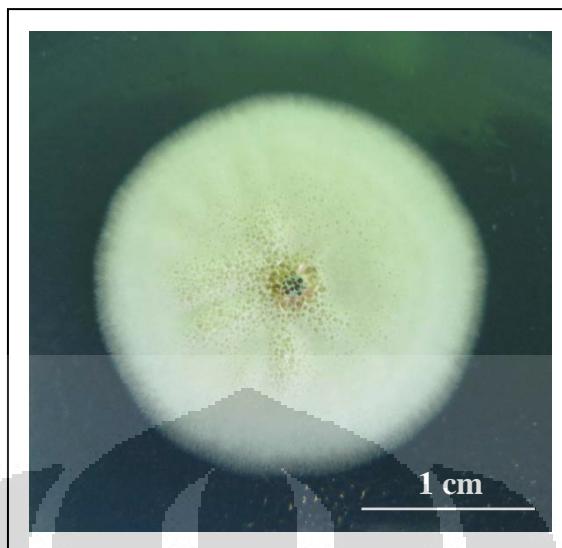
Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopik dari *Penicillium* sp. KPR3 (Tabel 4.6.3.(7) & Gambar 4.6.3.(15)) memperlihatkan koloni berwarna putih. Sebalik koloni tidak memberikan warna pada medium atau hialin. Koloni bertekstur *granular*, memiliki *growing zone*, *exudate drops*, dan *radial furrow*. Koloni tidak memiliki zonasi.

Tabel 4.6.3.(7). Hasil pengamatan karakter morfologi *Penicillium* sp. KPR3 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C

Pengamatan	Karakter Morfologi	<i>Penicillium</i> sp. KPR3
Mikroskopik	Spora seksual	Tidak ada
	Bentuk konidia	Semibulat--bulat
	Diameter konidia	0,74--1,09 µm
	Tipe hifa	Bersekat/bersepta
	Lebar hifa	0,82--1,61 µm
	Tipe percabangan	<i>Biverticillate</i>
Makroskopik	Warna koloni	Putih
	Tekstur koloni	<i>Granular</i>
	Zonasi	Tidak ada
	<i>Growing zone</i>	Ada
	<i>Exudate drops</i>	Ada
	<i>Radial furrow</i>	Ada
	Warna sebalik koloni	Hialin



Gambar 4.6.3.(14). Struktur *Penicillium* sp. KPR3 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C  
[Sumber: Dokumen pribadi.]



Gambar 4.6.3.(15). Koloni *Penicillium* sp. KPR3 umur tujuh hari di medium CDA pada suhu 27°C  
[Sumber: Dokumen pribadi.]

Penelitian ini memberikan informasi mengenai identitas kapang-kapang dari manuskrip kuno kertas daluang Kitab Adabul Muta'alimin, Kitab Dusut, Kitab Path Rohman, dan Kitab Tauhid asal Keraton Kasepuhan di Cirebon. Informasi mengenai kapang-kapang yang diperoleh, asal kapang-kapang tersebut diisolasi, dan kondisi fisik manuskrip kuno dirangkum dalam Tabel 4.6.4. Kapang *Penicillium* sp. KAM4 dan *Aspergillus* sp. KAM8 yang diisolasi dari Kitab Adabul Muta'alimin; *Penicillium* sp. KD1, *Penicillium* sp. KD5B, dan *Aspergillus* sp. KD5C yang diisolasi dari Kitab Dusut; serta *Penicillium* sp. KPR3 yang diisolasi dari Kitab Path Rohman, dapat tumbuh pada potongan kertas daluang dan memiliki kemampuan selulolitik karena dapat tumbuh pada CMC. Diduga kapang-kapang tersebut merupakan kapang yang merusak manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan di Cirebon. Shamsian dkk. (2008: 421) telah mengisolasi dan mengidentifikasi kapang-kapang dari 79 sampel manuskrip berusia ratusan tahun asal Perpustakaan Museum Astan Quds di Iran, dan diketahui bahwa *Aspergillus* (41%) dan *Penicillium* (22%) merupakan genus kapang yang paling banyak ditemukan. Menurut Samson dkk. (2004: 321), beberapa spesies *Aspergillus* dan *Penicillium* dapat menghasilkan mikotoksin. Mikotoksin adalah metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang dan dalam

konsentrasi kecil dapat menimbulkan suatu penyakit pada hewan vertebrata, termasuk manusia. Menurut Li dkk. (2010: 506), mikotoksin yang dihasilkan *Aspergillus*, *Penicillium*, dan kapang lainnya dalam udara dapat membahayakan kesehatan manusia.

Tabel 4.6.4. Rangkuman mengenai kondisi fisik manuskrip kuno kertas daluang, genus-genus kapang yang diperoleh, dan hasil pengujian kemampuan selulolitik

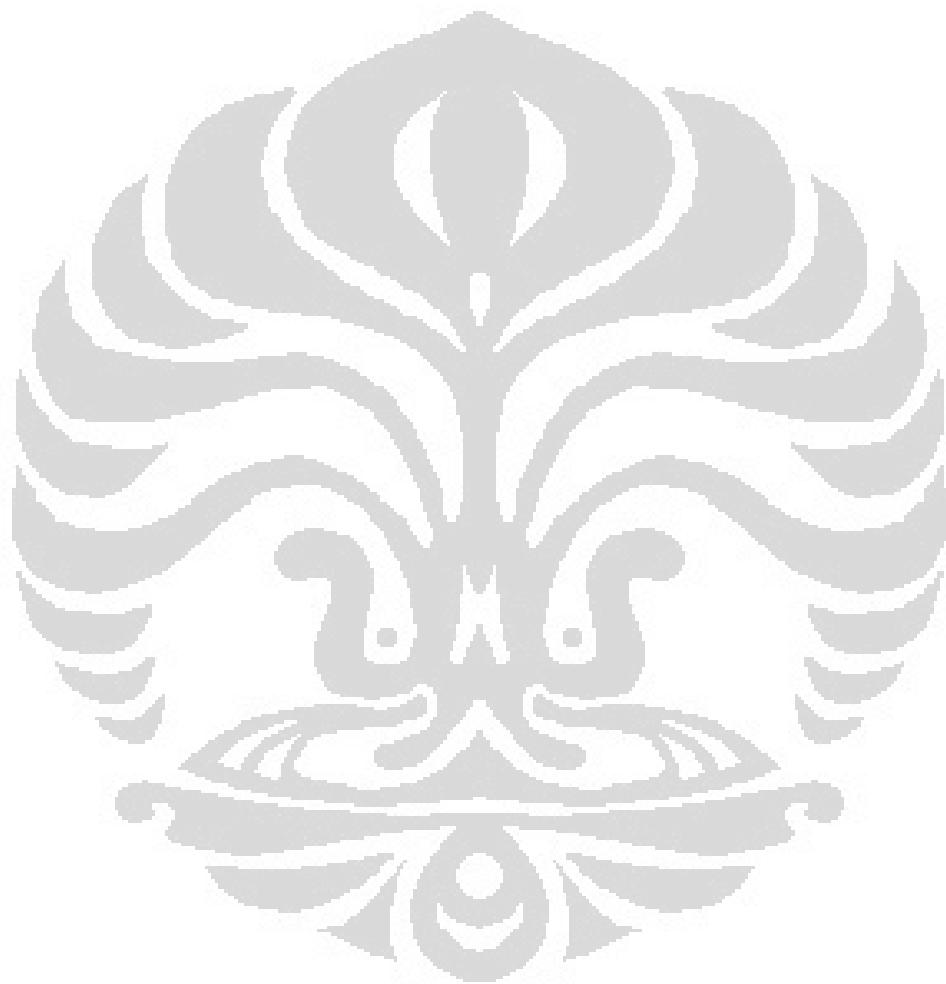
Nama Manuskrip	Kondisi Fisik	Bagian Manuskrip	Kapang yang Diisolasi	Pertumbuhan di Kertas Daluang	IAS
Kitab Adabul Mutu' alimin	Terdapat bercak-bercak berwarna cokelat dan hitam	Ketebalan Bawah	<i>Penicillium</i> sp. KAM4	+	0,91
		Bagian Dalam	<i>Aspergillus</i> sp. KAM8	+	0,41
Kitab Dusut	Sampul terlepas Lembaran-lembaran kertas terlepas dari jilidan Tepi-tepi kertas menggulung dan sobek	Ketebalan Jilidan	<i>Penicillium</i> sp. KD1	+	0,65
		Ketebalan Samping	<i>Aspergillus</i> sp. KD3A	+	-
			<i>Penicillium</i> sp. KD3B	+	-
	Terdapat banyak bercak-bercak berwarna cokelat	Sampul Depan	<i>Eurotium</i> sp. KD5A	+	-
			<i>Penicillium</i> sp. KD5B	+	0,97
			<i>Aspergillus</i> sp. KD5C	+	1,04
		Bagian Dalam	<i>Penicillium</i> sp. KD7	+	-
Kitab Path Rohman	Terdapat banyak spora dan noda berwarna cokelat	Ketebalan Jilidan	<i>Penicillium</i> sp. KPR1	+	-
		Ketebalan Samping	<i>Penicillium</i> sp. KPR3	+	0,74
Kitab Tauhid	Terdapat noda berwarna cokelat	Sampul Depan	<i>Aspergillus</i> sp. KT5	+	-

Kerusakan manuskrip yang disebabkan oleh fungi berkorelasi dengan spora-spora fungi di udara. Pinzari dkk. (2011: 575) melaporkan bahwa kapang yang tumbuh pada manuskrip berasal dari spora-spora yang disebarluaskan melalui udara. Marchisio dkk. pada tahun 1992 (*lihat* Begum dkk. 2009: 37) melaporkan bahwa udara merupakan media perantara yang paling umum untuk penyebaran spora fungi dan fragmen-fragmen hifa. Samson (2011: 105) menyatakan bahwa konsentrasi tinggi dari spora fungi di udara disebabkan karena banyak fungi dapat memproduksi spora dalam jumlah besar. Suerdem dan Yildirim (2009: 4450) menyatakan bahwa *Aspergillus* dan *Penicillium*, umum ditemukan dalam udara. Sterflinger dan Pinzari (2011: 3) menyatakan bahwa spora fungi di udara dapat jatuh pada berbagai benda yang terpapar udara, termasuk manuskrip. Spora-spora fungi selanjutnya akan berkecambah pada manuskrip.

Kerusakan oleh fungi pada manuskrip-manuskrip kuno kertas daluang di Keraton Kasepuhan, Cirebon, berkorelasi dengan kondisi lingkungan ruangan penyimpanan manuskrip, terutama suhu dan kelembapan. Ruangan penyimpanan manuskrip-manuskrip kuno di Keraton Kasepuhan, Cirebon, memiliki kondisi lingkungan yang tidak baik bagi keberadaan dan kelestarian manuskrip kuno karena mendukung pertumbuhan kapang. Ruangan tersebut memiliki suhu udara  $30,3^{\circ}\text{C}$  dan kelembapan relatif 78%, yang secara umum merupakan kondisi lingkungan yang disukai fungi. Selain itu, ruangan tersebut juga tidak memiliki ventilasi udara yang cukup. Untuk menjaga kestabilan suhu dan kelembapan udara di ruangan penyimpanan manuskrip kuno, *Air Conditioner* (AC) dapat diaktifkan selama 24 jam setiap hari. Merritt dan Brewer (2007: 2 & 3) menyatakan bahwa kelembapan relatif 45--55% dan suhu 18--20 $^{\circ}\text{C}$  dapat mengurangi kemungkinan perkecambahan spora dan menekan pertumbuhan fungi. Kipas angin dapat digunakan untuk meningkatkan sirkulasi udara. Sirkulasi udara yang baik dapat menjaga manuskrip tetap kering, mencegah spora-spora kapang jatuh pada permukaan manuskrip, dan mengurangi iklim mikro dengan tingkat kelembapan relatif yang tinggi. *Silica gel* dapat digunakan untuk mengatur kelembapan udara dalam lemari penyimpanan manuskrip kuno.

Identitas dari kapang-kapang yang diisolasi dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan di Cirebon, diharapkan dapat bermanfaat sebagai

informasi untuk melakukan konservasi dan preservasi manuskrip-manuskrip kuno di Keraton Kasepuhan, Cirebon, atau tempat penyimpanan manuskrip-manuskrip kuno lainnya, misalnya cagar budaya dan perpustakaan. Penggunaan alat pelindung diri, misalnya masker dan sarung tangan, sangat disarankan bagi kurator, pemilik, dan pengguna manuskrip kuno, untuk melindungi diri dari spora-spora kapang patogen yang berbahaya bagi kesehatan.



## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Isolasi kapang dari empat manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan di Cirebon, menghasilkan 12 isolat.
2. Hasil pengujian menunjukkan bahwa 12 isolat kapang dapat tumbuh pada potongan kertas daluang, dan enam isolat kapang dapat tumbuh pada substrat CMC.
3. Hasil identifikasi secara konvensional menunjukkan bahwa empat isolat merupakan genus *Aspergillus*, satu isolat merupakan genus *Eurotium*, dan tujuh isolat merupakan genus *Penicillium*. Genus yang paling banyak ditemukan adalah *Penicillium*.
4. Jumlah isolat kapang paling banyak diperoleh dari manuskrip kuno dengan kondisi paling buruk.

#### **5.2 Saran**

1. Isolasi dengan metode pembuatan suspensi sel kapang perlu dilakukan untuk memperoleh isolat kapang representatif dari manuskrip kuno.
2. Identifikasi molekuler kapang-kapang dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon, perlu dilakukan untuk mengetahui identitas kapang-kapang tersebut hingga tingkat spesies.
3. Isolasi dan identifikasi molekuler kapang-kapang dari udara ruang penyimpanan manuskrip kuno di Keraton Kasepuhan, Cirebon, perlu dilakukan untuk mengetahui korelasi antara kapang-kapang pada manuskrip kuno dengan kapang-kapang dari udara.
4. Pengujian menggunakan substrat spesifik lain perlu dilakukan untuk mengetahui jenis enzim selulase yang dihasilkan kapang, misalnya avisel untuk eksoglukanase dan selobiosa untuk  $\beta$ -glukosidase.

## DAFTAR ACUAN

- Ahmed S., A. Bashir, H. Saleem, M. Saadia, & A. Jamil. 2009. Production and purification of cellulose-degrading enzymes from a filamentous fungus *Trichoderma harzianum*. *Pakistan Journal of Botany* **41**(3): 1411--1419.
- Arroyo, I. 2009. The role of fungi in the deterioration of movable and immovable cultural heritage. *e\_conservation* **9**: 40--50.
- Atlas, R.M. 2010. *Handbook of microbiological media*. 4<sup>th</sup> ed. CRC Press, U.S.A: v + 1953 hlm.
- Barnett, H.L. & B.B. Hunter. 2003. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4<sup>th</sup> ed. Prentice Hall, Inc., U.S.A: xxi + 218 hlm.
- Barron, G. 2009. Cleistothecia of Eurotium. 1 hlm.  
<http://www.uoguelph.ca/~gbarron/Misc2009/euroti2.jpg>, 03 Juli 2012, pk. 23.09.
- Begum, M.F., S. Alam & M.S. Alam. 2009. Incidence of airborne fungi in Rajshahi metropolitan city in relation to seasonal fluctuations. *Journal of Life Earth Science* **3**(4): 37--41.
- Benson, J. H. 2001. *Microbiological applications laboratory manual in general microbiology*. 8<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill Companies, New York: xi + 478 hlm.
- Brindha J.R., T.S. Mohan, G. Immanuel, S. Jeeval, & N.C.J.P. Lekshmi. 2011. Studies on amylase and cellulase enzyme activity of the fungal organisms causing spoilage in tomato. *European Journal of Experimental Biology* **1**(3): 90--96.
- Campbell, N.A., J.B. Reece, & L.G. Mitchell. 2003. *Biologi: Jilid 2*. Terj. dari *Biology*, oleh Manalu, W. Erlangga, Jakarta: xxii + 472 hlm.
- Cappuccino, J.G. & N. Sherman. 2002. *Microbiology: a laboratory manual*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., San Francisco: xvi + 491 hlm.
- Chaplin, M. 2012. Carboxymethyl Cellulose. 1 hlm.  
<http://www.lsbu.ac.uk/water/hycmc.html>, 18 April 2012, pk. 01.51.
- Chaplin, M. 2012. Cellulose. 1 hlm.  
<http://www.lsbu.ac.uk/water/hycel.html>, 18 April 2012, pk. 01.42.

- Coral, G., B. Arikan, M.N. Unaldi, & H. Guvenmez. 2002. Some properties of crude carboxymethyl cellulase of *Aspergillus niger* Z10 wild-type strain. *Turkey Journal of Biology* **26**: 209--213.
- Digital. 2008. Colour chart for Faber Castell polychromos pencils and pastels. <http://www.drawinganddrafting.com.au/category2471.htm>, 25 Mei 2012, pk. 22.50.
- Deacon, J.W. 2006. *Fungal biology*. Blackwell publishing, Cornwall: iv + 371 hlm.
- Decker, S.R., W.S. Adney, E. Jennings, T.B. Vinzant, & M.E. Himmel. 2003. Automated filter paper assay for determination of cellulase activity. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **105-108**: 689--703.
- Dreamstime. 2012. Old book. 1 hlm. <http://nl.dreamstime.com/stock-fotografie-old-book-image8024182>, 06 Mei 2012, pk. 23.00.
- Ekadjati, E.S. 2005. *Polemik naskah pangeran Wangsakerta*. Pustaka Jaya: 3 hlm.
- Ellis, D., S. Davis, H. Alexiou, R. Handke, & R. Bartley. 2007. *Descriptions of medical fungi*. School of Molecular & Biomedical Science, University of Adelaide, Adelaide: vi + 198.
- Gandjar, I., R.A. Samson, K. van den Tweel-Vermeulen, A. Oetari, & I. Santoso. 1999. *Pengenalan kapang tropik umum*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xiii + 136 hlm.
- Gandjar, I., W. Sjamsudrizal, & A. Oetari. 2006. *Mikologi: dasar dan terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xii + 234 hlm.
- Ghori, M.I., S. Ahmed, M.A. Malana, & A. Jamil. 2011. Corn stover-enhanced cellulase production by *Aspergillus niger* NRRL 567. *African Journal of Biotechnology* **10**(31): 5878--5886.
- Harrigan, W.F. & M.E. McCance. 1966. *Laboratory methods in microbiology*. Academic Press, London: xi + 362 hlm.
- Hogg, S. 2005. *Essential microbiology*. John Wiley and Sons, Inc., Chichester: xi + 468 hlm.
- Hyun, M.W., J.H. Yoon, W.H. Park, & S.H. Kim. 2006. Detection of cellulolytic activity in *Ophiostoma* and *Leptographium* species by chromogenic

- reaction. *Mycobiology* **34**(2):108--110.
- Jahangeer, S., N. Khan, S. Jahangeer, M. Sohail, S. Shahzad, A. Ahmad, & S.A. Khan. 2005. Screening and characterization of fungal cellulases isolated from the native environmental source. *Pakistan Journal of Botany* **37**(3): 739--748.
- Jo, W.S., H.N. Park, D.H. Cho, Y.B. Yoo, & S.C. Park. 2011. Optimal media conditions for the detection of extracellular cellulase activity in *Ganoderma neo-japonicum*. *Mycobiology* **39**(2): 129--132.
- Juwaiied, A.A., S. Adnan, & A.A.H.H. Al-Amiry. 2010. Production cellulase by different co-culture of *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride* from waste paper. *Journal of Yeast and Fungal Research* **1**(6):108--111.
- Kader, A.J. & O. Omar. 1998. Isolation of cellulolytic fungi from Sayap-Kinabalu Park, Sabah, Serawak. *ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation*: 1--6.
- Karthikeyan, N., M. Sakthivel, & P. Palani. 2010. Screening, identification of *Penicillium* K-P strain and its cellulase producing conditions. *Journal of Ecobiotechnology* **2**(10): 4--7.
- Kavanagh, K. 2005. *Fungi: biology and applications*. John Wiley and Sons Ltd., West Sussex: xi + 267 hlm.
- Kumari, B.L., M.H. Sri, & P. Sudhakar. 2011. Isolation of cellulase producing fungi from soil, optimization and molecular characterization of the isolate for maximizing the enzyme yield. *World Journal of Science and Technology* **1**(5): 1--9.
- Li, L., C. Lei, & Z.G. Liu. 2010. Investigation of airborne fungi at different altitudes in Shenzhen University. *Natural Sciences* **2** (5): 506--514.
- Lotfi, A., M.A.T. Ghanbari, G.A. Ranjbar, & A. Asgharzadeh. 2010. Screening of some *Zygomycetes* for cellulase activity. *African Journal of Biotechnology* **9**(27): 4211--4216.
- Lynd, L.R., P.J. Weimer, W.H. van Zyl, & I.S. Pretorius. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **66**(3): 506--577.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, D.A. Stahl, & D.P. Clark. 2012. *Brock biology of*

- microorganism.* 13<sup>th</sup> ed. Pearson Benjamin Cummings, Inc., San Francisco: xxviii + 1155 hlm.
- Mangunwardoyo, W., Aprilismulan, A. Oetari, & W. Sjamsuridzal. 2011. Screening cellulose activity of yeast isolated from soil, sediment and water river from Taman Nasional Gunung Halimun, West Java, Indonesia. *Malaysian Journal of Microbiology* 7(4): 210--216.
- Masrina, A. 2011. Keraton Kasepuhan Cirebon. 1 hlm.  
<http://kebudayaankesenianindonesia.blogspot.com/2011/06/keraton-kasepuhan-cirebon.html>, 23 Februari 2012, pk. 21.58.
- Merritt, J. & T. Brewer. 2007. Mold: prevention of growth in museum collections. *Conserve O Gram* 3(4): 1--5.
- Michaelsen, A., G. Pinar, M. Montanari, & F. Pinzari. 2009. Biodeterioration and restoration of a 16th-century book using a combination of conventional and molecular techniques: A case study. *International Biodeterioration & Biodegradation* 63: 161--168.
- Mueller, G.M., G.F. Bills & M.S. Foster. 2004. *Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods*. Elsevier Academic Press Inc., Amsterdam: xviii + 777 hlm.
- Oberkotter, L.V. & F.A. Rosenberg. 1978. Extracellular endo-β-1,4-glucanase in *Cellvibrio vulgaris*. *Applied and Environmental Microbiology* 36(1): 205--209.
- Oetari, A., A. Akbar, A. Salamah, A. Soemiatyi, D. Hendrayanti, Katrin, M. Atria, N.S. Lestari, T. Susetyo-Salim, & W. Sjamsuridzal. 2010. *Kajian kekayaan tradisional Indonesia: daluang (dluwang) dari tanaman saeh (Broussonetia papyrifera Vent.) ditinjau dari aspek hayati dan budaya*. Laporan Akhir Hibah Riset Unggulan Bidang Prioritas Tahun 2010. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam serta Fakultas Ilmu Pengetahuan Budaya, Univeritas Indonesia: x + 109 hlm.
- Onsori, H., M.R. Zamani, M. Motallebi, & N. Zarghami. 2005. Identification of over producer strain of endo-β-1,4-glucanase in *Aspergillus* species: characterization of crude carboxymethyl cellulase. *African Journal of Biotechnology* 4(1): 26--30.

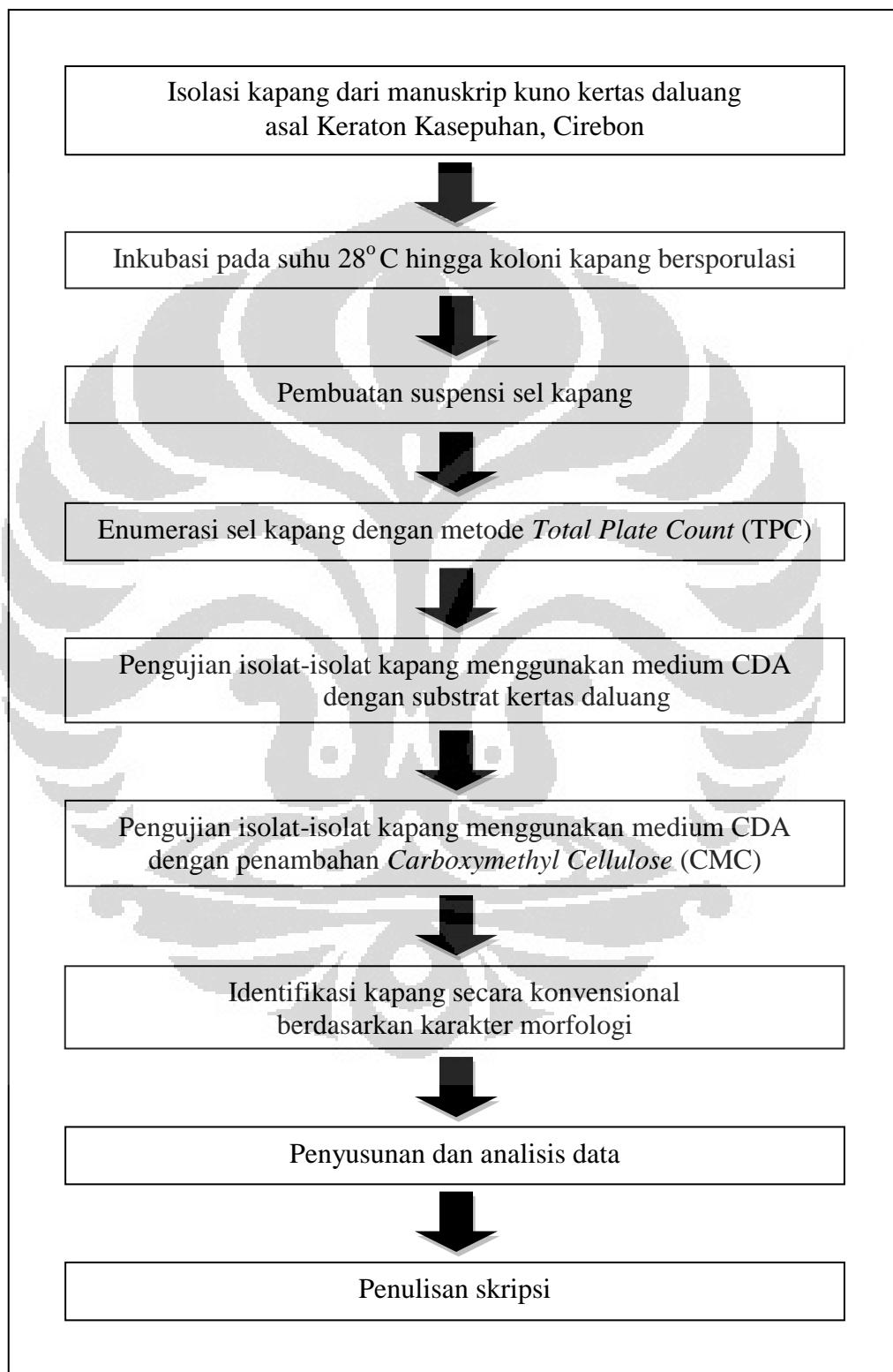
- Permadi, T. 2010. *Asal-usul pemanfaatan dan karakteristik daluang: bahan naskah dalam tradisi tulis nusantara*. Bandung: 1--29.
- Pinzari, F., C. Fanelli, O. Canhoto, & N. Magan. 2004. Electronic nose for the early detection of moulds in libraries and archives. *Indoor and Built Environment* **13**: 1--9.
- Pinzari, F., G. Pasquariello, & A. De Mico. 2006. Biodeterioration of paper: a SEM study of fungal spoilage reproduced under controlled conditions. *Macromolecular Symposia* **238**: 57--66.
- Pinzari, F., M. Montanari, A. Michaelsen, & G. Pinar. 2010. Analytical protocols for the assessment of biological damage in historical documents. *Coalition* **19**: 6--13.
- Pinzari, F., F. Troiano, G. Pinar, K. Sterflinger, & M. Montanari. 2011. The contribution of microbiological research in the field of book, paper and parchment conservation. *Dalam: Engel, P., J. Schiro, R. Larsen, E. Moussakova, & I. Kecskemeti (eds.). 2011. New approaches to book and paper conservation-restoration*. Verlag Berger, Horn/Wien, Austria: 575--594.
- Pitt, J.I. & A.D. Hocking. 1980. Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low-moisture foods. *Applied and Environmental Microbiology* **39**(3): 488--492.
- Pitt, J.I. & A.D. Hocking. 2009. *Fungi and food spoilage*. Springer Science + Business Media, New York: xv + 519 hlm.
- Pudjiastuti, T., A. Arismunandar, & M.S. Mahayana. 1994. *Pencatatan, inventarisasi, dan pendokumentasian naskah-naskah Cirebon*. Fakultas Ilmu Pengetahuan Budaya--Universitas Indonesia: 234 hlm.
- Pusat Bahasa. 2008. Manuskrip. 1 hlm.  
<http://bahasa.kemdiknas.go.id/kbbi/index.php>, 7 Desember 2011, pk. 22.40.
- Razak, M., R. Anggraeni, & Supriyanto. 1992. *Pelestarian bahan pustaka dan arsip*. Program Pelestarian Bahan Pustaka dan Arsip, Jakarta: 54 hlm.
- Sahab, A.F., S.A. Ismail, & S.S. Darwish. 2007. Conservation study of benlate fungicide and its effect on cellulases and  $\beta$ -glucosidases of *Fusarium*

- oxysporum* isolated from old documents. *World Journal of Agricultural Sciences* **3**(6): 741--746.
- Samson, R.A., E.S. Hoekstra, & C.A.N. van Oorschot. 2004. *Introduction to food-borne fungi*. Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Utrecht: 383 hlm.
- Samson, R.A. 2011. Ecology and general characteristics of indoor fungi. *Dalam: Adan, O.C.G. & R.A. Samson (eds.). 2011. Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living.* Wageningen Academic Publishers, The Netherlands: 101--116.
- Shamsian, A., A. Fata, M. Mohajeri, & K. Ghazvini. 2008. Fungal contaminations in historical manuscripts at Astan Quds Museum Library, Mashhad, Iran. *International Journal of Agriculture and Biology* **8**(3): 420--422.
- Sterflinger, K. & F. Pinzari. 2011. The revenge of time: fungal deterioration of cultural heritage with particular reference to books, paper and parchment. *Environmental Microbiology*: 1--8.
- Suerdem, T.B. & I. Yildirim. 2009. Fungi in the atmospheric air of Canakkale province in Turkey. *African Journal of Biotechnology* **8**(18): 4450--4458.
- Suto, M. & F. Tomita. 2001. Induction and catabolite repression mechanisms of cellulase in fungi. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **92**(4): 305--311.
- Talaro, K.P. 2008. *Foundations in microbiology*. Mc-Graw Hill Companies, Inc., New York: xxxii + 830 hlm.
- Talaro, K.P. & B. Chess. 2012. *Foundations in microbiology*. Mc-Graw Hill Companies, Inc., New York: xxxii + 937 hlm.
- Teather, R.M. & P.J. Wood. 1982. Use of Congo red polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied and Environmental Microbiology* **43**(4): 777--780.
- Ten, L.N., W.T. Im, M.K. Kim, M.S. Kang, & S.T. Lee. 2004. Development of a plate technique for screening of polysaccharide-degrading microorganisms by using a mixture of insoluble chromogenic substrates. *Journal of Microbiological Methods* **56**: 375--382.
- Valentin, N. 2010. Microorganisms in museum collections. *Coalition* **19**: 2--5.

- Webster, J. & R.W.S. Weber. 2007. *Introduction to fungi*. Cambridge University Press, New York: xx + 841 hlm.
- Wirajaya, A.Y. 2009. Daluang atau Dluwang dalam Perspektif Kodikologi. 1 hlm. <http://asepyudha.staff.uns.ac.id/2009/06/04/sekilas-tentang-daluang-atau-dluwang-sebuah-telaah-ringkas-kodikologi/>, 14 Februari 2012, pk. 22.32.
- Word Reference. 2012. Preservation. 1 hlm. <http://www.wordreference.com/definition/preservation>, 08 Mei 2012, pk. 01.17.
- Yoon, J.H., J.E. Park, D.Y. Suh, S.B. Hong, S.J. Ko, & S.H. Kim. 2007. Comparison of dyes for easy detection of extracellular cellulases in fungi. *Mycobiology* **35**(1): 21--24.
- Yuan, S., Y. Wu, & D.J. Cosgrove. 2001. A fungal endoglucanase with plant cell extension activity. *Plant Physiology* **127**: 324--333.

**LAMPIRAN**

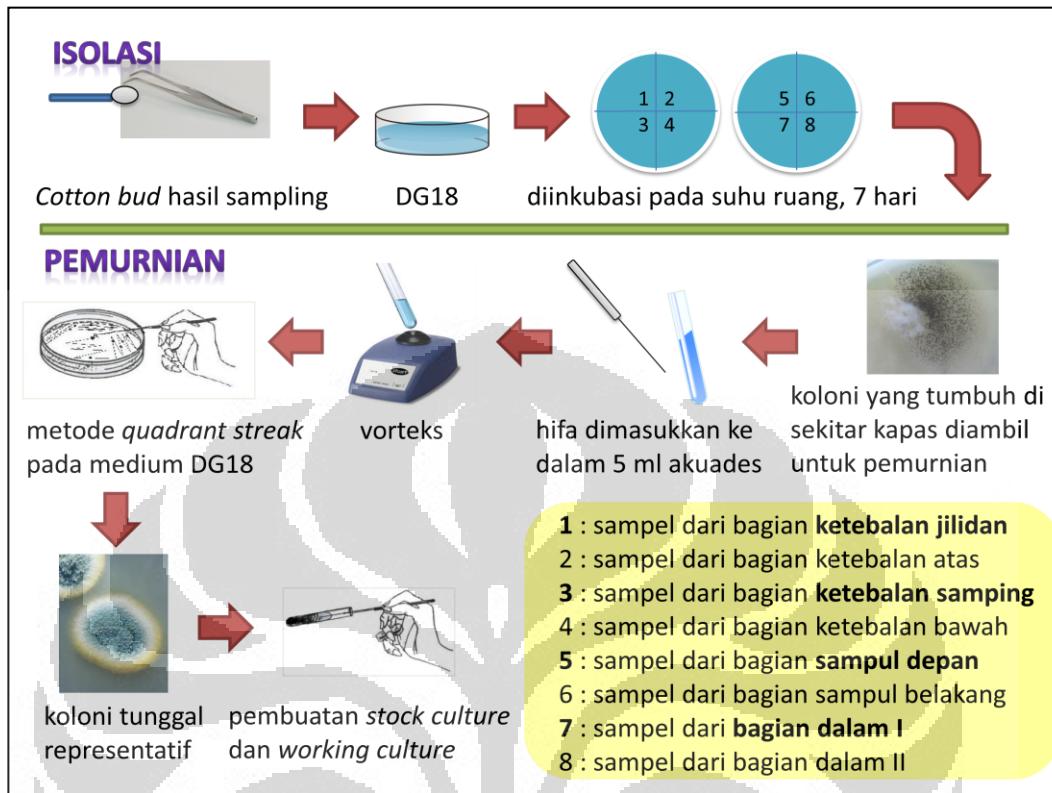
Lampiran 1. Skema kerja penelitian



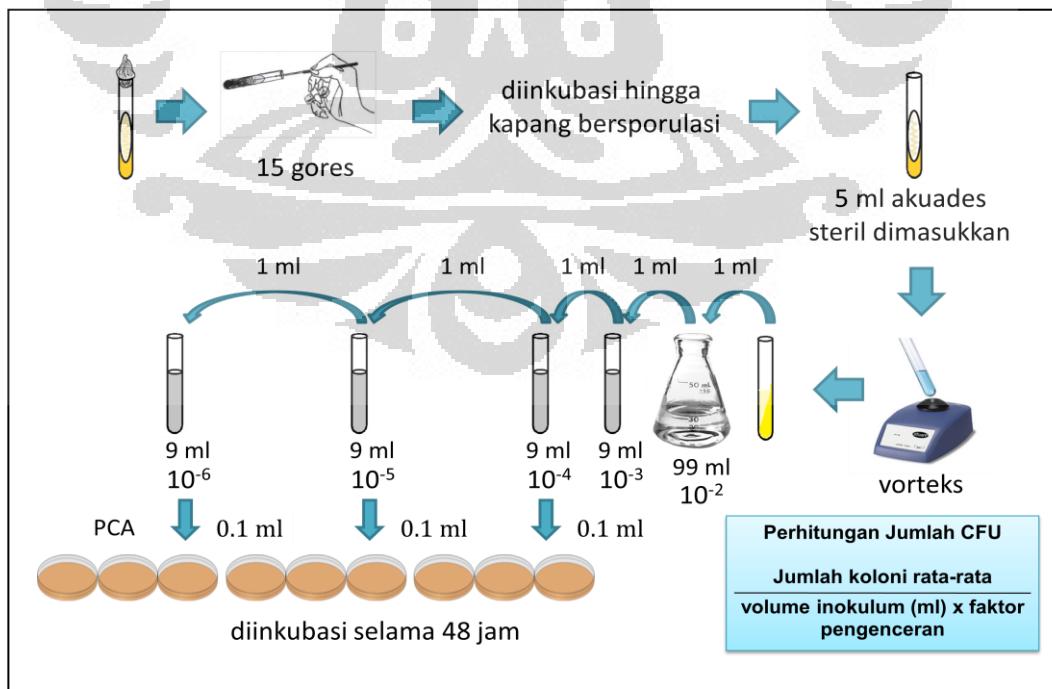
Lampiran 2. Hasil penghitungan jumlah sel kapang umur 48 jam di medium PCA dengan penambahan *rose bengal* pada suhu 27<sup>o</sup> C menggunakan metode TPC

Nama Manuskrip	Kode Isolat	Pe-nge-ner-ceran	Pengulangan			Jumlah Sel Rata-rata	Kisaran Jumlah Sel (sel/ml)
			I	II	III		
Kitab Adabul Muta' alimin (KAM)	KAM4	10 <sup>-4</sup>	>300	>300	>300		
		10 <sup>-5</sup>	77	80	89	82	(8,2--8,6) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	8	9	9	8,6	
	KAM8	10 <sup>-4</sup>	>300	>300	>300		
		10 <sup>-5</sup>	35	35	38	36	(3,6--4,6) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	3	5	6	4,6	
Kitab Dusut (KD)	KD1	10 <sup>-4</sup>	>300	>300	>300		
		10 <sup>-5</sup>	82	83	89	84,6	(7,3--8,46) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	7	7	8	7,3	
	KD3A	10 <sup>-4</sup>	164	173	198	178,3	
		10 <sup>-5</sup>	12	16	25	17,6	(1,76--2) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	1	2	3	2	
	KD3B	10 <sup>-4</sup>	>300	>300	>300		
		10 <sup>-5</sup>	85	89	93	89	(8--8,9) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	7	8	9	8	
Kitab Rohman (KPR)	KD5A	10 <sup>-4</sup>	>300	>300	>300		
		10 <sup>-5</sup>	56	71	78	68,3	(5,6--6,83) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	4	6	7	5,6	
	KD5B	10 <sup>-4</sup>	>300	>300	>300		
		10 <sup>-5</sup>	29	43	49	40,3	(4,03--7,3) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	5	8	9	7,3	
Kitab Tauhid (KT)	KD5C	10 <sup>-4</sup>	107	143	146	132	
		10 <sup>-5</sup>	11	11	11	11	(1--1,32) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	0	1	1	1	
	KD7	10 <sup>-4</sup>	>300	>300	>300		
		10 <sup>-5</sup>	79	83	89	83,6	(7,3--8,36) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	6	7	9	7,3	
	KPR1	10 <sup>-4</sup>	>300	>300	>300		
		10 <sup>-5</sup>	54	68	69	63,6	(6,36--7,6) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	6	8	9	7,6	
Kitab Tauhid (KT)	KPR3	10 <sup>-4</sup>	>300	>300	>300		
		10 <sup>-5</sup>	58	65	66	63	(5--6,3) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	2	4	9	5	
	KT5	10 <sup>-4</sup>	>300	>300	>300		
	KT5	10 <sup>-5</sup>	75	85	92	84	(7,3--8,4) x 10 <sup>7</sup>
		10 <sup>-6</sup>	6	7	9	7,3	

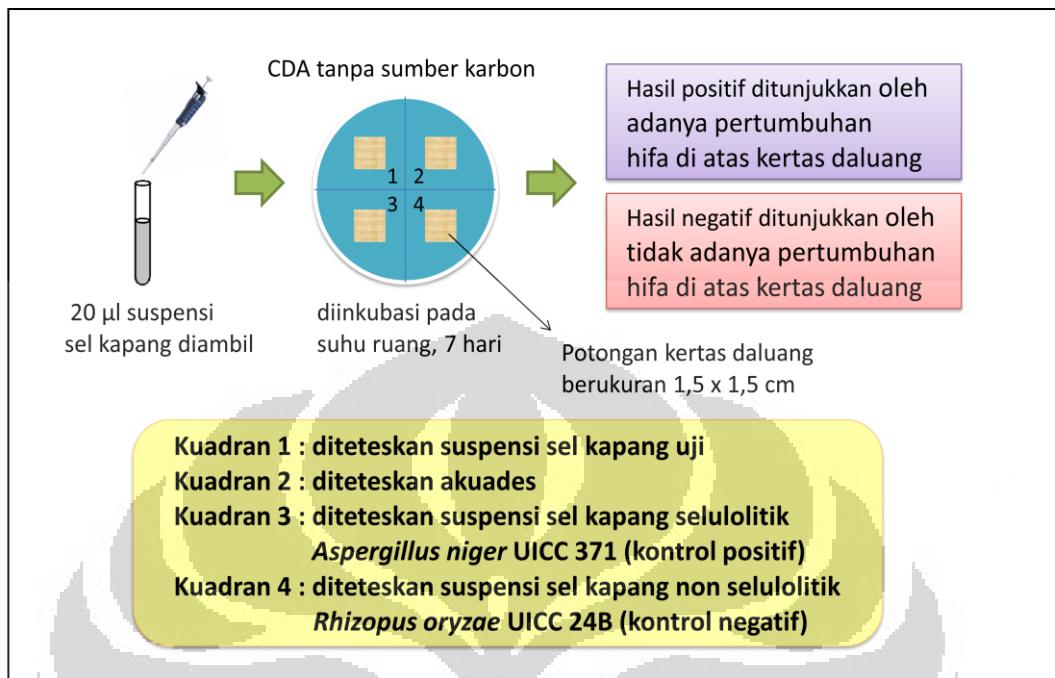
Lampiran 3. Skema cara kerja isolasi kapang dari manuskrip kuno kertas daluang asal Keraton Kasepuhan, Cirebon



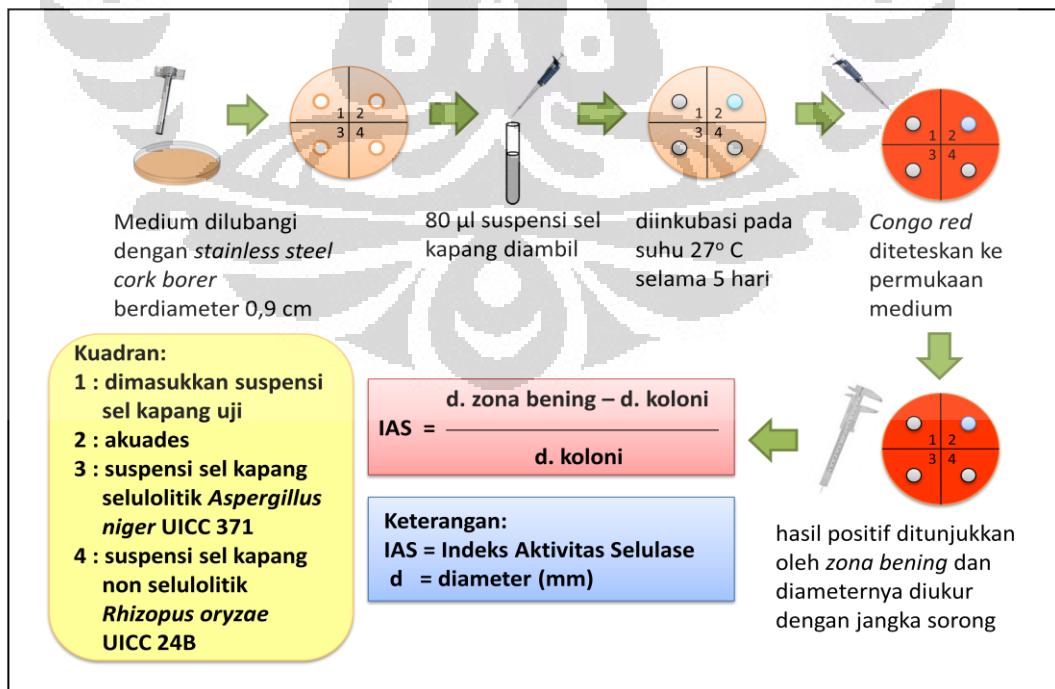
Lampiran 4. Skema cara kerja penghitungan sel kapang dengan metode TPC



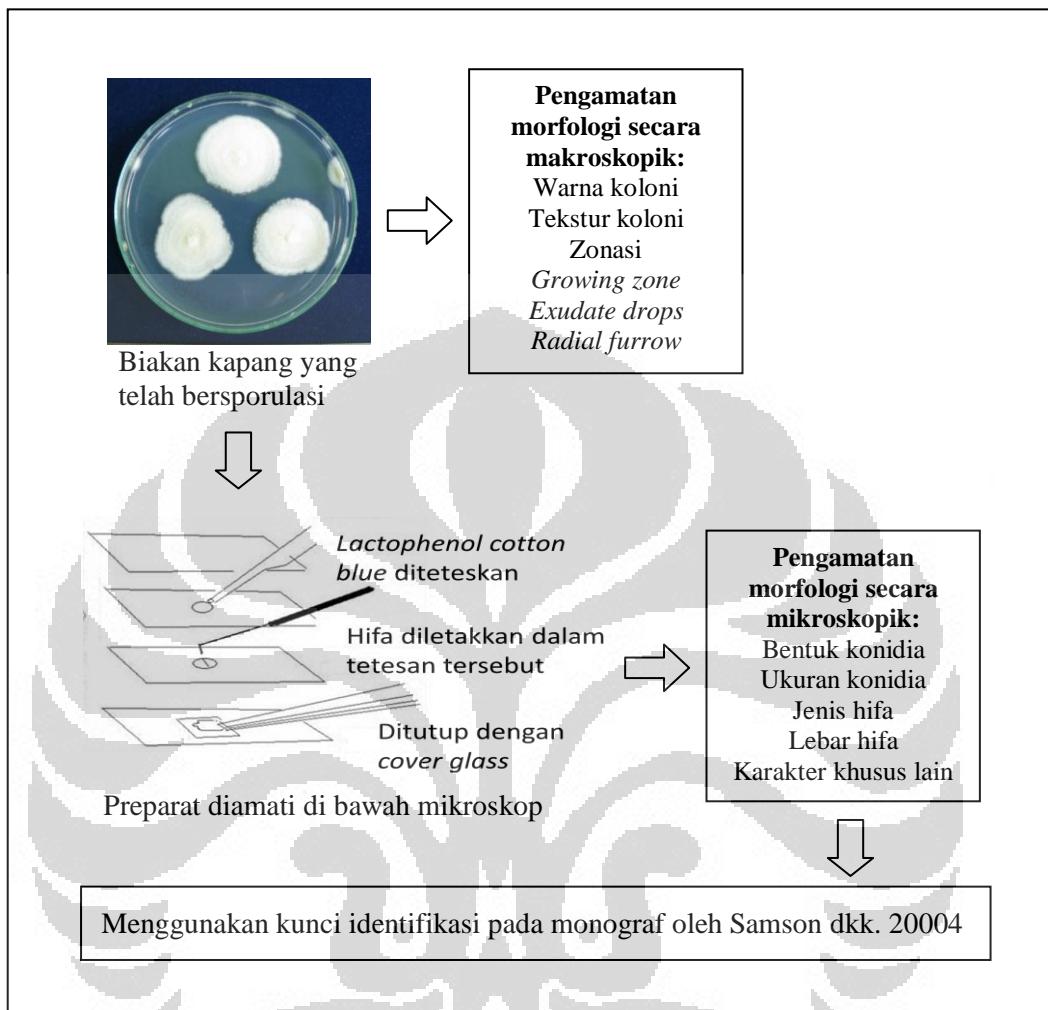
Lampiran 5. Skema cara kerja pengujian kemampuan kapang selulolitik pada substrat kertas daluang



Lampiran 6. Skema cara kerja pengujian kemampuan kapang selulolitik pada medium CDA dengan penambahan *Carboxymethyl Cellulose* (CMC)



Lampiran 7. Skema cara kerja identifikasi kapang secara konvensional berdasarkan karakter morfologi



### Lampiran 8. Standar warna Faber Castell

101	white
103	ivory
102	cream
104	zinc yellow
105	lemon cadmium
106	light chrome
107	lemon
108	canary yellow
109	orange yellow
111	tangerine
113	light orange
115	dark orange
117	vermilion
118	scarlet lake
121	pale geranium lake
126	dark carmine
127	light carmine
123	fuchsia
133	wine red
125	dark magenta
142	madder
128	rose madder lake
129	pink madder lake
119	light magenta
134	magenta
135	red violet
136	dark violet
138	violet
139	light violet
140	light ultramarine
160	manganese violet
137	blue violet
141	Delft blue
157	dark indigo
144	light cobalt blue
120	ultramarine
143	deep cobalt
146	sky blue
147	light blue
145	light phthalo blue
152	dark phthalo blue
110	zinc blue
151	Prussian blue
149	oriental blue
155	night green
153	peacock blue
154	aquamarine
156	blue green
161	viridian
163	emerald green
162	true green
112	leaf green
166	grass green
171	light green
170	apple green
168	moss green
167	sap green
158	sea green
159	Hooker's green
165	juniper green
172	grey green
174	cedar green
173	olive green
175	dark sepia
177	sepia light
176	van Dyck brown
178	nougat
180	raw umber
179	bistre
182	brown ochre
183	gold ochre
185	light ochre
184	ochre
186	terracotta
191	Pompeian red
188	sanguine
187	burnt ochre
189	cinnamon
190	Venetian red
192	Indian red
193	burnt carmine
169	caput mortuum
194	purple
124	rose carmine
130	dark flesh
131	medium flesh
132	light flesh
270	warm grey I
271	warm grey II
272	warm grey III
273	warm grey IV
274	warm grey V
275	warm grey VI
230	cold grey I
231	cold grey II
232	cold grey III
233	cold grey IV
234	cold grey V
235	cold grey VI
181	Payne's grey
199	black
099	soft black
250	gold
251	silver
252	copper

[Sumber: Digital 2008: 1.]