

**OPTIMASI EKSPRESI PROTEIN NANOBODI KORTISOL  
OLEH BAKTERI *Escherichia coli* BL21 (DE3) DENGAN VARIASI  
KONSENTRASI IPTG, SUHU, DAN WAKTU INKUBASI  
MENGUNAKAN METODE TAGUCHI**

**SKRIPSI**

**SILVANA MARWANI BUNTU SALEKO  
A 223 006**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2024**

**OPTIMASI EKSPRESI PROTEIN NANOBODI KORTISOL  
OLEH BAKTERI *Escherichia coli* BL21 (DE3) DENGAN VARIASI  
KONSENTRASI IPTG, SUHU, DAN WAKTU INKUBASI  
MENGUNAKAN METODE TAGUCHI**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**SILVANA MARWANI BUNTU SALEKO  
A 223 006**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2024**

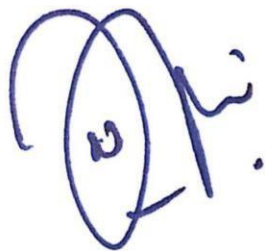
**OPTIMASI EKSPRESI PROTEIN NANOBODI KORTISOL OLEH  
BAKTERI *Escherichia coli* BL21 (DE3) DENGAN VARIASI KONSENTRASI  
IPTG, SUHU, DAN WAKTU INKUBASI MENGGUNAKAN METODE  
TAGUCHI**

**SILVANA MARWANI BUNTU SALEKO  
A 223 006**

**Oktober 2024**

**Disetujui oleh :**

**Pembimbing**



**Nur Asni Setiani, M.Si**

**Pembimbing**



**Himalaya Wana Kelana, M.Pd**

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

*Skripsi ini kupersembahkan kepada **Tuhan Yesus Kristus** sebagai rasa syukur dan penyertaan yang telah diberikan kepada saya dalam suka maupun duka.*

**THANK YOU JESUS**

***Kepada Kedua Orang Tua dan Adik-adik saya tercinta terima kasih atas Doa, Semangat, Motivasi, Pengorbanan, Nasehat serta Kasih Sayang yang diberikan tidak pernah ada Hentinya.***

*Jika orang lain bisa aku juga pasti bisa dan akan indah pada waktunya, walaupun terlambat.....*

*“Lebih baik terlambat daripada tidak sama sekali”*

***Ulangan 31:6 GOD BLESS.***

## ABSTRAK

Nanobodi (Nb) merupakan antibodi berukuran kecil dengan potensi besar sebagai agen deteksi kortisol, produksi Nb dapat dilakukan dengan cara ekspresi dengan menghasilkan protein yang optimal untuk kit diagnostik melalui kombinasi metode Taguchi. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan optimasi produksi protein Nb kortisol dalam *Escherichia coli* (*E.coli*) BL21 (DE3) menggunakan metode Taguchi yang dapat memberikan kombinasi variasi ekspresi yang dilakukan. Metode Taguchi digunakan untuk mendapatkan variasi optimasi produksi. Ekspresi dimulai dengan mentransformasikan plasmid pET28a-Nb kedalam inang *E.coli* BL21 (DE3) yang kemudian diinduksi IPTG dan hasilnya dianalisis melalui SDS-PAGE dan *ImageJ*. Berdasarkan hasil metode Taguchi terdapat 4 kombinasi yang optimum yaitu, kondisi 1 (0,6 mM;25°C;18 jam), kondisi 2 (0,6 mM;37°C;24 jam), kondisi 3 (0,8 mM;25°C;24 jam), dan kondisi 4 (0,8 mM;37°C;18 jam). Hasil ekspresi protein menunjukkan bobot pelet (0,1 gram;0,08 gram;0,07 gram;0,06 gram) secara berurutan sesuai dengan kondisinya. Hasil SDS-PAGE menunjukkan adanya pita tunggal yang berukuran 12-15 kDa sesuai dengan ukuran Nb yang diharapkan. Hasil analisis *Imagej* menunjukkan nilai intensitas (1123361 kB, 1043651 kB, 1116557 kB, 632916 kB) secara berurutan sesuai dengan kondisinya. Dari hasil ini didapatkan hasil yang paling optimal terdapat pada kondisi 1 yaitu, (konsentrasi IPTG 0,6 mM;Suhu 25°C;Waktu Inkubasi 18 jam) dengan menghasilkan bobot pelet sebanyak 0,1 gram dengan analisis SDS-PAGE menunjukkan pada rentang 12-15 kDa dan pada analisis *ImageJ* nilai intensitas sebesar 1123361 kB.

**Kata kunci :** nanobodi, Taguchi, protein, IPTG, optimasi.

## **ABSTRACT**

*Nanobodies (Nbs) are small-sized antibodies with significant potential for cortisol detection. To produce Nbs suitable for diagnostic kits, expression optimization is crucial. This study aimed to optimize the production of cortisol Nb protein in Escherichia coli (E. coli) BL21 (DE3) using the Taguchi method to generate various expression combinations. The Taguchi method was employed to identify optimal conditions for Nb production. The pET28a-Nb plasmid was transformed into E. coli BL21 (DE3), followed by IPTG induction. Expression levels were analyzed using SDS-PAGE and ImageJ. Four optimal combinations were identified: condition 1 (0.6 mM IPTG, 25°C, 18 hours), condition 2 (0.6 mM IPTG, 37°C, 24 hours), condition 3 (0.8 mM IPTG, 25°C, 24 hours), and condition 4 (0.8 mM IPTG, 37°C, 18 hours). Pellet weights were 0.1 g, 0.08 g, 0.07 g, and 0.06 g, respectively. SDS-PAGE showed a single band at 12-15 kDa, consistent with the expected size of Nb. ImageJ analysis revealed intensities of 1123361 bits, 1043651 bits, 1116557 bits, and 632916 bits, respectively. Condition 1 (0.6 mM IPTG, 25°C, 18 hours) yielded the highest pellet weight (0.1 g), a single band on SDS-PAGE at 12-15 kDa, and the highest intensity on ImageJ (1123361 bits), indicating the most optimal expression conditions.*

**Keywords :** *nanobody, Taguchi, protein, IPTG, optimization.*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Optimasi Ekspresi Protein Nanobodi Kortisol oleh Bakteri *Escherichia coli* BL21 (DE3) dengan Variasi Konsentrasi IPTG, Suhu, dan Waktu Inkubasi menggunakan Metode Taguchi**”. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Selama penelitian dan penulisan skripsi ini penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing Nur Asni Setiani, M.Si dan Himalaya Wana Kelana, M.Pd atas bimbingan, nasihat, dukungan serta memberikan ilmu terkait dengan keilmuan di Bidang Bioteknologi Farmasi yang diberikan akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Dalam kesempatan ini, tidak lupa penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Apt. Adang Firmansyah, M.Si. selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
2. Dr. Apt. Diki Prayugo, M.Si. selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik.
3. Dr. Apt. Wiwin Winingsih, M.Si. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi.
4. Dr. Syarif Hamdani, M.Si. selaku Dosen Wali yang telah memberikan bimbingan serta arahan kepada penulis.
5. Seluruh bapak dan ibu dosen, asisten laboratorium, laboran serta staf Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia telah memberikan pengetahuan yang sangat bermanfaat.
6. Kedua orang tua saya yang tercinta, Ayah Marthen Sattu dan Ibu Dorce Duma serta adik saya tersayang, Moris dan Yury yang selalu memberikan Dukungan, Doa, Nasehat dan Kasih Sayang hingga saat ini.
7. Teman seperjuangan Sarjana Farmasi yang tersayang yaitu, (Siti Nurhaliza Nadya Rahayu S.Farm), (Fathia Fajar Nur Azizah S.Farm), (Muhammad Shidiq Rukman, S.Farm), dan (Vechi Pratama, S.Farm) terima kasih atas ilmu dan hari-hari yang selama ini telah kita lewati bersama kalian, dan
8. Pihak Pusat Riset (PUSRIS) Bioteknologi Molekuler serta Bioinformatika Universitas Padjadjaran (UNPAD).

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan segala bentuk saran serta masukan bahkan kritik yang membangun dari berbagai pihak guna tercapainya kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Bandung, Oktober 2024

Penulis



## DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i> .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.4 Kegunaan Penelitian .....	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Kortisol .....	4
2.2 Nanobodi (Nb) .....	4
2.3 <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3) .....	5
2.4 Metode Taguchi .....	7
2.5 Ekspresi Protein .....	8
2.6 SDS-PAGE .....	9
BAB III TATA KERJA .....	11
3.1 Alat.....	11
3.2 Bahan .....	11
3.3 Metode Penelitian .....	11
3.3.1 Alur Penelitian .....	11
3.3.2 Eksperimen Metode Taguchi dengan Minitab 20.....	12
3.3.3 Transformasi dan Seleksi Transforman.....	13
3.3.4 Isolasi Plasmid .....	13
3.3.5 Elektroforesis .....	14
3.3.6 Ekspresi Protein Nanobodi Rekombinan .....	16
3.3.7 Analisis SDS-PAGE .....	16
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1 Eksperimen Metode Taguchi minitab 20.....	18
4.2 Transformasi dan Seleksi Transforman.....	19

4.2.1 Pembuatan Sel Kompeten .....	19
4.2.2 Transformasi pET28a-Nb .....	19
4.3 Isolasi Plasmid .....	20
4.4 Elektroforesis .....	21
4.5 Ekspresi Protein Nanobodi Rekombinan .....	22
4.6 Analisis SDS-PAGE .....	23
4.6.1 Persiapan Sampel dan Running SDS-PAGE .....	24
4.6.2 Visualisasi hasil Ekspresi Protein dengan metode SDS-PAGE.....	24
4.6.3 Analisis <i>ImageJ</i> .....	25
BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA .....	26
5.1 Simpulan .....	26
5.2 Alur Penelitian Selanjutnya.....	26
DAFTAR PUSTAKA .....	27
LAMPIRAN .....	31

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Data survei (hasil optimum sebelumnya).....	13
3.2 Data percobaan .....	13
4.1 Hasil Percobaan Metode Taguchi minitab 20.....	19
4.2 Bobot pelet hasil ekspresi protein .....	23
4.3 Nilai Intensitas Analisis <i>ImageJ</i> .....	25

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur nanobodi (Bao <i>et al.</i> , 2021) .....	5
2.2 <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3) (Novagen, 2021) .....	6
2.3 Proses Ekspresi Protein (Assenberg <i>et al.</i> , 2013) .....	9
3.1 Alur Penelitian .....	12
4.1 Hasil Percobaan Metode Taguchi minitab 20.....	18
4.2 Hasil Transformasi pET28a-Nb dan Isolasi Koloni.....	20
4.3 Hasil Visualisasi elektroforesis plasmid + restriksi NcoI .....	22
4.4 Hasil Visualisasi SDS-PAGE ekspresi protein .....	24

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Percobaan Metode Taguchi minitab 20 .....	31
2. Dokumentasi Kegiatan Penelitian .....	32
3. Perhitungan Larutan untuk Ekspresi Protein.....	34
4. Hasil Pemeriksaan dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	36
5. Hasil Ekspresi Protein .....	37
6. Hasil Analisis <i>ImageJ</i> .....	38
7. Pembuatan Larutan SDS-PAGE.....	39

## DAFTAR PUSTAKA

- Aarrebo, M., Anne, J., Garde, H., Kristiansen, J., Nabe, K., Åse, N., & Hansen, M. (2015) The effect of the number of consecutive night shifts on diurnal rhythms in cortisol, melatonin and heart rate variability ( HRV ): a systematic review of field studies. *International Archives of Occupational and Environmental Health*.
- Al-Anazi, S. H. M, Al-Ghamdi, A. A., & Khalil, M. H. J. A. (2013) ‘Application of Taguchi design for optimization of biomanufacturing process of recombinant human insulin’, *Journal of Bioprocess Engineering*, 27(3), 263-271.
- Alda, G., Edhi, J., dan Indah, B. (2019) Identifikasi Protein Pada Granuloma Periapikal dengan Metode SDS-PAGE. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi: Universitas Airlangga.
- Assenberg, R., Wan, P., Geisse, S., Dan Mayr, L. (2013) Advances in Recombinant Protein Expression for Use in Pharmaceutical Research. *Current Opinion in Structural Biology*, 23(3): 393-402.
- Bao, G., Tang, M., Zhao, J., Dan Zhu, X. (2021) Nanobody: A Promising Toolkit for Molecular Imaging and Disease Therapy. *EJNMMI Research*, 11(6): 1-13.
- Baroroh, U., Setiani, N., Mardiah, I., Astriany, D., dan Yusuf, M. (2022) Computational Design of Nanobody Binding to Cortisol to Improve Their Binding Affinity Using Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulations. *Indonesian Journal of Chemistry*, 22(2): 515-525.
- Chan, WT., Verma, C., Lane, D., dan Gan, S. (2013) A Comparison and Optimization of Methods and Factors Affecting The Transformation of Escherichia coli. *Bioscience Reports*, 33(6): 931-943.
- Chung, C., Niemela, S., dan Miller, R. (1989) One-step Preparation of Competent Escherichia Coli: Transformation and Storage of Bacterial Cells in the Same Solution. *PNAS*, 86(7): 2172-2175.
- Davis, L., Kuehl, W., dan Battey, J. (1994) *Basics Methods in Molecular Biology*. Norwalk: Appleton and Lange.
- Ding, L., Wang, Z., Zhong, P., Jiang, H., Zhao, Z., Zhang, Z., Zhang, Y., Ren, Z., dan Ding, Y. (2019) Structural Insights Into The Mechanism Of Single Domain VHH Antibody Binding To Cortisol. *FEBS Press* 593(11): 1248-1256.
- Dudek, E., Grant, P., Jeon, D., Lysyk, L., Paskevicius, T., dan Wu, S. (2024) The Art of Protein Expression: A Guide to Understanding Difficult-to-Express Proteins, (online), tersedia di <https://futurefields.io/blogs/flylab/understanding-difficult-to-express-proteins>.
- Eqiel, N., Erma, S., Irawan, F., Sheilla, R. (2022) Optimasi Purifikasi Protein Rekombinan CIDR $\alpha$ -PfEMP1 *Plasmodium falciparum* dengan Kromatografi Afinitas. *Jurnal Ilmu Dasar*, Vol. 23 No: 107-112.
- Gomes, L., Monteiro, G., Mergulhão, F. (2020) The Impact of IPTG Induction on Plasmid Stability and Heterologous Protein Expression by *Escherichia coli* Biofilms. *International Journal Molecular Science*, 21(2): 576.

- Guyton, A., dan Hall, J. (2014) *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Mississippi: University of Mississippi Medical Center.
- Harmsen, M., De Haard, H. (2007) Properties, production, and applications of camelid single-domain antibody fragments. *77(1):13-22*.
- Hermana, N., Kusdiyantini, E., Supriyadi, A., dan Nuraini, N. (2015) Ekstraksi Protein dari *Escherichia coli* BL21 Rekombinan Gen *Mycobacterium tuberculosis* dengan Variasi Waktu Inkubasi Induksi Isoprophyl- $\beta$ -D- Thiogalactosidase (IPTG) dan Metode Lisis Sel. *Jurnal Biologi*, 4(2): 60-68.
- Heyde, S., Dan Norholm, M. (2021) Tailoring The Evolution of BL21(DE3) Uncovers A Key Role for RNA Stability in Gene Expression Toxicity. *Communications Biology*, 4(1): 963.
- Ingram, J., Schmidt, F., Ploegh, H. (2018) Exploiting nanobodies' singular traits. *Annu Rev Immunol*. 36:695–715.
- Ihim, A., Meludu, S., Obiodinukwe, C., Chizoba, O., Oluboyo, A., Nnodim, J., Onyenekwe, C. (2015) Effect of Short Term Exercise On Serum Cortisol And Lipid Profile In Young Male Of College Of Health Sciences Nnamdi Azikiwe University, Nnewi Campus. *Indian Journal of Basic and Applied Medical Research*, 4(2): 213-218.
- Inoue, H., Nojima, H., dan Okayama, H. (1990) High Efficiency Transformation of *Escherichia coli* with Plasmids. *Gene*, 96(1): 23-28.
- Iqbal, T., Elahi, A., Wijns, W., dan Shahzad, A. (2023) Cortisol Detection Method for Stress Monitoring in Connected Health. *Health Sciences Review*, 1-14.
- Jayadilaga, Y. (2023) Comparison of Cortisol Hormone Response To Night And Morning Futsal Activity In Ikami Malang Futsal Community. *Proceedings of The 4<sup>th</sup> Green Development International Conference (GDIC) 2022*: 125-130.
- Jensen, M., Garde, A., Kristiansen, J., Nielsen, K., Dan Hansen, A. (2015) The Effect of The Number Of Consecutive Night Shifts On Diurnal Rhythms In Cortisol, Melatonin And Heart Rate Variability (HRV): A Systematic Review of Field Studies. *International Archives of Occupational and Environmental*, 89(4): 531-545.
- Jeong, H., Kim, H., dan Lee, S. (2015) Complete Genome Sequence of *Escherichia coli* Strain BL21. *Genome Announcements*, 3(2): 1.
- Krishnaiah, K., dan Shahabudeen, P. (2012) *Applied Design of Experiments and Taguchi Methods*. New Delhi: PHI Learning Private Limited.
- Larentis, A., Nicolau, J., Esteves, G., Vareschini, D., Almeida, F., Reis, M., Galler, R., dan Medeiros, M. (2014) *BMC Research Notes*, 671: 1-13.
- Lauralee, S. (2014) *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem*. Jakarta: EGC.
- Li, X., Xiang, X., Hu, J., Goswami, R., Yang, S., Zhang, A., Wang, Y., Li, Q., dan Bi, X. (2016) Association Between Serum Cortisol and Chronic Kidney Disease in Patients with Essential Hypertension. *Kidney Blood Press Re*, 41(4): 384-391.
- Liu, J., Chang, W., Pan, L., Liu, X., Su, L., Zhang, W., Li, Q., dan Zheng, Y. (2018) An Improved Method of Preparing High Efficiency Transformation *Escherichia coli*

- with Both Plasmids and Larger DNA Fragments. *Indian Journey Microbiology*, 58(4): 448-456.
- Liu, X., Liu, L., Wang, Y., Wang, X., Ma, Y., dan Li, Y. (2014) The Study on the Factors Affecting Transformation Efficiency of E.Coli Competent Cells. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27(3): 679-684.
- Lulu, D., Ziyang, W., Peiyu, Z., Jiang, H., Zhao, Z., Yiran, Z., Zhen, R., dan Ding, Y. (2019) Structural Insights Into The Mechanism of Single Domain VHH Antibody Binding to Cortisol. *FEBS Letters*, 593(11): 1248-1256.
- Muyldermans, S. (2013) Nanobodies: Natural Single-Domain Antibodies. *Annual Review of Biochemistry*, 82: 775-797.
- Novagen. (2021) BL21 (DE3) is a chemically competent *E.coli* cell suitable for transformation and high level protein expression using a T7 RNA polymerase-IPTG induction system, 70235.
- Prasetya, Y., Winarsih, I., Pratiwi, K., Hartono, M., dan Rochimah, D. (2019) Deteksi Fenotipik Escherichia Coli Penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBLs) Pada Sampel Makanan di Krian Sidoarjo. *Life Science*, 8(1): 75-85.
- Pratiwi, R. (2019) Optimasi Ekspresi Human Epidermal Growth Factor (h-EGF) Rekombinan dalam Escherichia coli BL21(DE3) dengan Variasi Media dan Konsentrasi Penginduksi. *Chimica et Natura Acta*, 7(2): 91-97.
- Pujiastuti, D. (2019) Lebih Kenal Dengan SDS-PAGE. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga.
- Rahayu, A., Yulidasari, F., Putri, A., dan Anggraini, L. (2018) *Study Guide – Stunting dan Upaya Pencegahannya Bagi Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*. Yogyakarta: CV Mine.
- Rosana, G., dan Ceccarelli, E. (2014) Recombinant Protein Expression in Escherichia coli: Advances and Challenges. *Frontiers in Microbiology*, 5: 172.
- Rukman, M. (2024) Pemurnian Protein Nanobodi Kortisol dari *Escherichia coli* BL21 (DE3) dengan Metode *Immobilized Metal Affinity Chromatography* dalam Kondisi Natif dan Denaturasi. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
- Sadeghi, H., Rabbani, M., Rismani, E., Moazen, F., Khodabakhsh, F., Dormiani, K., and Khazaei, Y. (2011) *Optimization of the expression of reteplase in Escherichia coli*. *Res Pharm Sci* ; 6(2) : 87-92.
- Setiani, N., Baroroh, U., Handayani, A., Chairunnisa, N., Mardiah, I. (2022) Konstruksi Plasmid Rekombinan pET-28a-Nanobodi Secara In Silico. *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi*, 2: 256-264.
- Setiani, N., Baroroh, U., Mardiah, I., Simanjuntak, N., dan Kelana, H. (2023) *Panduan Praktikum Bioteknologi*. Bandung: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
- Sherwood, LZ., (2014) *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Edisi 8. Jakarta: EGC, 595-677.
- Silaban, S., Gaffar, S., Simorangkir, M., Maksum, I., dan Subroto, T. (2018) Effect of IPTG Concentration on Recombinant Human Prethrombin-2 Expression in *Escherichia coli* BL21(DE3) ArcticExpress. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 217: 1-6.



- Silitionga, Y. (2016) Resistensi Cronobacter Sakazakii Terhadap Ampisil dan Hubungan dengan Stabilitas dan Ekspresi Gfpuv. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana: Institut Pertanian Bogor.
- Siska, Z., Yozza, H., dan Maiyastri. (2016) Penerapan Metode Taguchi untuk Optimalisasi Hasil Produksi Roti di Usaha Roti Meyza Bakery, Padang Sumatera Barat. *Jurnal Matematika UNAND*, 5(3): 122-130.
- Sugiharto. (2014) *Fisiologi Olahraga Teori dan Aplikasi Pembinaan Olahraga*. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Sulistiyarsi, A., Pujati, P., dan Ardhi, M. (2016) Pengaruh Konsentrasi dan Lama Inkubasi terhadap Kadar Protein Crude Enzim Selulase dari Kapang Aspergillus Niger. *Seminar Nasional XIII Pendidikan Biologi FKIP UNS 2016*.
- Whitworth, J., Williamson, P., Mangos, G., dan Kelly, J. (2005) Cardiovascular Consequences of Cortisol Excess. *Vascular Health Risk Management*, 1(4): 291-299.
- Wulandari, A., Wuryandari, T., Dan Ispriyanti, D. (2016) Penerapan Metode Taguchi Untuk Kasus Multirespon Menggunakan Pendekatan Grey Relational Analysis Dan Principal Component Analysis (Studi Kasus Proses Freis Komposit GFRP). *Jurnal Gaussian*, 5(4): 791-800.
- Yusuf, M., Handiyani, R., Kusumawardani, S., Idar., Baroroh, U., dan Subroto, T. (2021) Analisis Bioinformatika dan Ekspresi Protein Rekombinan Hemagglutinin Domain Globular Dari Virus H5N1 Indonesia Pada Escherichia Coli BL21 (DE3) sebagai Komponen Vaksin Subunit Influenza. *Al-Kimia Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, 8(2): 56-67.
- Zayendra, S., Yozza, H., dan Maiyastri. (2016) Penerapan Metode Taguchi Untuk Optimalisasi Hasil Produksi Roti Di Usaha Roti Meyza Bakery, Padang Sumatera Barat. *Jurnal Matematika*, 5(2): 122-130.