

**KARAKTERISASI DAN OPTIMASI MEDIA PRODUKSIAMILASE
DARI *Aspergillus niger* DAN *Aspergillus clavatus*
[Characterization and Optimation Media for Amylase Producing of *Aspergillus niger*
and *Aspergillus clavatus* Isolated from Some Samples]**

Elidar Naiola

Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi-LIPI, Bogor

ABSTRACT

Six fungi isolates belong to *Aspergillus* spp were isolated from various samples and their ability to produce amylase has been tested. It was founded that all isolate shown the amylolytic activities which shown the clear zone areas after pouring with iodium solution. Two isolates which name *Aspergillus niger* (ISO 482) dan *A. clavatus* (ISO 468) to be the most active compare to another. The amylase activity of two isolate was studied in media contain rice and rice brain as a carbohydrate sources. Based on lower cost and easy to reach rice brain (local waste agriculture product) were choose as the alternative media to produce enzyme amylase from *Aspergillus niger* (ISO 482). The activities of enzyme obtain was $54,14 \times 10^2$ U/ml (one unit activity is define as micromoles of glucose produce per ml per minute). The optimiation was done at room temperature for 7 days. The result showed the activity of enzyme increase during the fermentation process, at the first day activity was $18,77 \times 10^2$ U/ml and reached the maximum activity ($91,64 \times 10^2$ U/ml) after 3 days. The optimum temperature for enzyme reaction was 40 - 50 °C, optimum pH was (pH 5.0 - 7.0) and enzyme was relatively stable under such conditions.

Kata kunci/ Key words: Amilase/ amylase, *Aspergillus* spp., karbohidrat/ carbohydrate, karakterisasi/ characterization.

PENDAHULUAN

Sebagai negara tropis, Indonesia mempunyai keanekaragaman hayati diantaranya berupa mikroorganisme yang tersebar luas pada berbagai substrat baik berupa tanah, udara maupun bahan pangan. Mikroorganisme ini mempunyai potensi untuk digunakan sebagai sumber dalam berbagai kepentingan industri, baik industri skala besar maupun secara tradisional. Disamping dapat dimanfaatkan secara langsung, dalam industri mikroorganisme mempunyai potensi untuk digunakan sebagai penghasil enzim, salah satu diantaranya enzim amilase. *Aspergillus* spp. merupakan salah satu kelompok mikroorganisme penghasil amiloglukosidase, transglukosidase serta beberapa enzim lainnya (Fogarty dan Kelly, 1980; Frazier dan Westhoff, 1981). Enzim amilase *Ami Aspergillus* spp. merupakan ekstraselular dan bersifat induktif, salah satu induser yang dipakai untuk produksi enzim amilase adalah glukosa.

Enzim amilase yang dihasilkan mikroorganisme banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri, baik industri pangan maupun non pangan. Hingga saat ini kebutuhan akan enzim amilase ini belum dapat terpenuhi sehingga masih hams diimpor dari luar negeri. Amilase dapat memecah pati

menjadi gula-gula sederhana sehingga banyak digunakan dalam industri seperti indusri tekstil, deterjen dan gula cair non tebu. Enzim amilase ini dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu "exo acting amylase" dan "endo acting amylase". Yang termasuk exo acting amilase adalah amiloglukosidase dan b amilase sedang yang termasuk endo acting amilase adalah a amilase. Amiloglukosidase dapat memecah ikatan a -1,4 glikosida secara berturut-turut dari ujung rantai non reduksi dengan menghasilkan (3-D-glukosa sedang a amilase (a-1,4 -glukan hidrolase, EC. 3 2 1.1) dapat memecah a-1,4 glikosida secara acak.

Bahan dasar utama untuk pertumbuhan mikroorganisme umumnya merupakan bahan yang mengandung karbohidrat. Diantara berbagai sumber karbohidrat, nasi merupakan sumber karbohidrat yang sudah banyak digunakan sebagai pembawa atau *carrier* bagi mikroorganisme penghasil enzim amilase antara lain untuk pertumbuhan *Aspergillus* spp. dan *Rhizopus* spp. (Kinoshita *et ah*, 1982). Dedak merupakan sisa produk pertanian yang disamping merupakan sumber karbon juga mengandung protein, lemak, vitamin serta unsur lainnya. Dewasa ini dedak belum begitu banyak dimanfaatkan.

Berangkat dari alasan tersebut di atas maka dilakukan penelitian ini yaitu untuk mendapatkan

Aspergillus spp. yang mempunyai kemampuan menghasilkan enzim amilase dengan menggunakan produk pertanian tersebut sebagai sumber karbon. *i-*

BAHAN DAN CARA KERJA

Kapang yang digunakan adalah enam isolat *Aspergillus* spp. yang merapakaf koleksi Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor. Isolat-isolat tersebut diisolasi dari berbagai macam contoh baik berupa tanah maupun produk hasil fermentasi dan mempunyai kemampuan amilase secara kualitatif.

Media

Media untuk memelihara isolat kapang digunakan Taoge Agar dengan komposisi sebagai berikut: 60 gr gula pasir, 25 gr agar yang dipersiapkan dalam satu liter ekstrak taoge.

Media untuk pengujian aktivitas enzim amilase secara semi-kuantitatif adalah media agarpati dengan komposisi 0,2% ekstrak khamir, 0,5% pepton, 0,3% KH_2PO_4 , 0,05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 20 gr agar dan 2% pati terlarut sebagai sumber C. (Mangunwardoye *et al.* 1982).

Media untuk produksi enzim amilase adalah:

- A. Media padat yang mengandung dedak (25 gr dedak + 25 ml akuadest).
- B. Nasi (50 gr beras + 50 ml akuadest). Dedak dan beras yang dipakai diperoleh dari pasar Bogor.

Penyiapan starter

Starter dibuat dengan menambahkan akuades steril ke dalam biakan kapang berumur 5-7 hari, sehingga diperoleh suspensi yang mengandung spora dengan kepekatan optik 0,5 pada panjang gelombang 540 nm.

Seleksi isolat penghasil amilase

Isolasi dilakukan dengan menambahkan sejumlah tertentu masing-masing contoh ke dalam medium selektif yaitu media agar pati yang mengandung 2% pati terlarut. Setelah diinkubasikan selama 2 hari pada suhu kamar kapang yang tumbuh diisolasi dengan menumbuhkan beberapa tetes pada permukaan media padat. Setiap isolat murni dipelihara dalam media Taoge Agar miring. Seleksi terhadap kemampuan amilase dilakukan secara semi-kuantitatif dan kuantitatif.

Pengujian aktivitas amilase semi-kuantitatif

Pengujian secara semi-kuantitatif dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat-isolat bakteri pada permukaan media agar pati. Satu ose biakan kapang yang berumur 3 hari ditumbuhkan pada permukaan media agar, kemudian inkubasikan selama 2-3 hari pada suhu kamar. Adanya aktivitas amilase terlihat dengan adanya zona bening di sekitar koloni setelah dituang dengan larutan iodine. Hasil bagi antara diameter zona bening dan diameter koloni dinyatakan sebagai kekuatan enzim secara nisbi.

Pegujian aktivitas amilase secara kuantitatif

Sebanyak 2,5% suspensi diinokulasikan ke dalam media produksi dan selanjutnya diinkubasikan pada suhu kamar. Pada selang waktu 1,2, 3,4 dan 7 hari enzim amilase diekstrak dengan cara menambahkan 100 ml larutan 3% NaCl dalam akuadest, baik untuk media dedak maupun media nasi. Selanjutnya goyangkan di atas alat pengocok pada kecepatan sekitar 100 rpm selama kurang lebih satu jam, disaring dan sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit, dan larutan enzim yang diperoleh diuji aktivitas amilasena.

Pengujian aktivitas amilase secara kuantitatif diukur dengan cara Gangrong *et al.* (1990), dan gula pereduksi yang terbentuk diukur metoda Bernfeld (1955), yaitu dengan menggunakan pereaksiasam 3,5 dinitrosalisilat (DNS). Adapun prosedurnya sebagai berikut: setengah ml larutan enzim ditambahkan ke dalam 0,5 ml substrat (2% pati terlarut dalam 0,05 M larutan bufer asetat, pH 5), kemudian diinkubasikan pada suhu 40°C selama 10 menit. Tambahkan 2 ml pereaksi asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS), panaskan pada suhu 100°C selama 5 menit, dinginkan dengan air mengalir dan tambahkan 20 ml akuades selanjutnya ukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm (OD_{540}). Akhir dari reaksi pengujian ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari kuning (warna DNS) menjadi coklat merah (warna asam 3- amino-5 nitro salisilat). Sebagai faktorkoreksi digunakan 0,5 larutan enzim (tanpa penambahan substrat), dan disamping itu juga 0,5 ml substrat tanpa penambahan larutan enzim. Konsentrasinya dikonversikan dengan standar glukosa. Satu unit aktivitas amilase adalah banyaknya

enzim yang dapat menghasilkan satu mikrogram glukosa/ maltosa per menit per ml larutan enzim pada kondisi pengujian yang dilakukan.

Penentuan kondisi optimum aktivitas amilase kasar

Untuk melihat pengaruh pH terhadap aktivitas enzim maka aktivitas pengukuran aktivitas dilakukan menurut cara yang sama, tetapi pengujian dilakukan dalam larutan bufer pada pH (4-10). Larutan bufer yang digunakan 0,05 M bufer asetat pH (4-6), 0,05 M bufer fosfat pH (6-8) dan 0,05 M bufer Atkins & Pantin pH (8-10).

Stabilitas enzim amilase terhadap pH ditentukan dengan cara menginkubasikan larutan enzim selama 1 jam dalam larutan buffer pada pH yang bervariasi (4-10). Caranya sebanyak 0,25 ml larutan enzim ditambahkan ke dalam 0,25 ml bufer dengan pH (4-10), inkubasikan pada suhu 4°C selama 1 jam, selanjutnya tambah dengan 0,5 ml substrat (2% pati terlarut dalam 0,05 M buffer fasetat pH 5). Aktivitas enzim amilase tersisa diuji sesuai dengan standar pengujian yang dilakukan sebelumnya dan nilainya dinyatakan dalam persen terhadap aktivitas enzim tanpa perlakuan.

Pengaruh suhu terhadap enzim amilase diuji dengan cara mengukur aktivitasnya pada berbagai macam suhu yang berkisar antara 35 - 70°C. Stabilitas enzim amilase terhadap suhu diukur dengan cara menginkubasikan larutan enzim selama 10 menit pada suhu yang bervariasi (35-70°C), segera setelah inkubasi larutan enzim didinginkan dengan cepat dan aktivitas enzim amilase yang tersisa diukur dengan

cara yang sama dan nilainya dinyatakan dalam persen terhadap aktivitas enzim tanpa perlakuan.

HASIL

Pengujian aktivitas amilase secara kualitatif

Hasil pengujian secara kualitatif aktivitas amilase terhadap enam isolat kapang dari kelompok *Aspergillus* spp yang ditumbuhkan dalam media mengandung 2% pati terlarut sebagai sumber karbohidratnya menunjukkan bahwa semua isolat yang diuji memiliki aktivitas amilolitik yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni setelah dituangi larutan iodium.

Aktivitas amilolitik secara semi-kuantitatif ditentukan dengan cara membandingkan diameter zona bening disekitar koloni dengan diameter koloni, hasil penghitungan tersebut menunjukkan bahwa semua isolat memiliki aktivitas amilase relatif dengan nilai > 1 (Tabel 1).

Hasil uji aktivitas amilase secara kuantitatif ditunjukkan dengan besarnya jumlah gula pereduksi yang terbentuk setelah isolat ditumbuhkan dalam media mengandung pati terlarut sebagai sumber C, selama 3 hari, pada suhu kamar, diatas alat pengocok dengan kecepatan 100 rpm (Gambar 1).

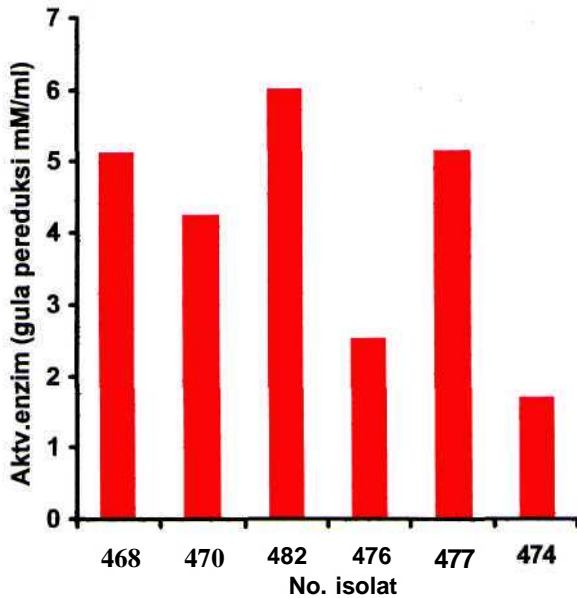
Aktivitas amilase ditentukan dari besarnya gula pereduksi, yang terbentuk, aktivitas tertinggi sebesar 5,98 mM/ml dihasilkan oleh *A. niger* (ISO.482), sedang aktivitas amilase yang dihasilkan oleh *A. clavatus* (ISO.468) sebesar 5,12 mM/ml.

Tabel 1. Hasil pengujian aktivitas amilase *Aspergillus* spp secara kualitatif dan semikuantitatif

Isolat	Uji kualitatif (zona bening)	Uji semi kuantitatif (Diameter zona bening/koloni)
<i>A. clavatus</i> (ISO.468)	+++	> 1.0
<i>A. flavus</i> (ISO.470)	+++	> 1.0
<i>A. niger</i> (ISO.482)	+++	> 1.0
<i>A. fumigatus</i> (ISO.476)	++	> 1.0
<i>A. fumigatus</i> (ISO.477)	-H-	> 1.0
<i>A. flavus</i> (ISO. 474)	++	> 1.0

+++ Diameter zona bening besar

++ Diameter zona bening sedang



Gambar 1, Aktivitas amilase beberapa isolat kapang secara kuantitatif

Kondisi optimum produksi amilase

Kemampuan mikroorganismenya dalam menghasilkan enzim disamping ditentukan oleh biakannya, juga sangat ditentukan oleh lingkungannya, salah satu diantara faktor tersebut adalah sumber karbon. Sumber karbon yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dedak dan nasi, media produksi dipersiapkan dalam bentuk media padat. Perbandingan antara dedak dan air didapat berdasarkan hasil percobaan pendahuluan, untuk substrat dedak perbandingan antara dedak dan air adalah (1:1) w/v, dan untuk substrat nasi perbandingan beras dan air (1:1) w/v. Dalam kedua media yang digunakan baik dedak maupun nasi *A. niger* dan *A. clavatus* tumbuh dengan baik. Setelah diinkubasikan selama satu hari pada suhu kamar miselium kapang mulai tumbuh, pada hari kedua hampir seluruh substrat sudah dipenuhi oleh miselium. *A. niger* pada hari kedua sudah membentuk spora dan pada hari ke-tiga hampir seluruh permukaan substrat sudah dipenuhi spora yang berwarna hitam. Pada substrat yang ditumbuhi *A. clavatus* hanya sedikit terdapat spora.

Aktivitas amilase yang dihasilkan kedua isolat dalam media produksi yang menggunakan dedak dan nasi ditampilkan pada Tabel 2.

Aktivitas amilase yang dihasilkan kedua isolat tersebut baik dalam media dedak maupun beras

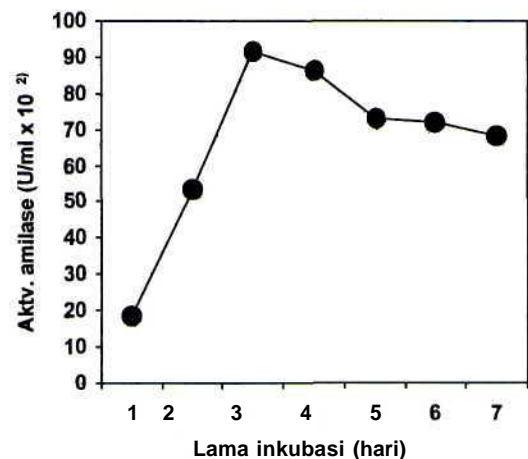
Tabel 2. Aktivitas amilase isolat *A. niger* (ISO.482) dan *A. clavatus* (ISO.468) dalam media produksi dedak dan nasi

Harike	Aktivitas amilase dalam U/ml $\times 10^2$			
	Media dedak		Media nasi	
	<i>A. niger</i>	<i>A. clavatus</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. clavatus</i>
2	64,55	41,35	45,41	59,60
3	91,16	83,37	89,97	40,49

kelihatannya tidak terlalu berbeda, aktivitas amilase dihasilkan *A. niger* dalam media dedak $91,16 \times 10^2$ U/ml dan dalam media nasi $89,97 \times 10^2$ U/ml. Aktivitas amilase *A. clavatus* dalam media dedak adalah $83,37 \times 10^2$ U/ml, sedang dalam media nasi $40,49 \times 10^2$ U/ml.

Hasil pengamatan secara visual menunjukkan bahwa *A. clavatus* mempunyai potensi sebagai penghasil alkohol yang ditandai dengan adanya aroma alkohol yang cukup kuat, terutama apabila menggunakan nasi sebagai sumber C, sehingga diduga *A. clavatus* mempunyai aktivitas enzim yang dapat merubah gula menjadi alkohol.

Meskipun kemampuan memproduksi amilase *A. niger* dan *A. clavatus* dalam kedua media produksi tersebut tidak terlalu berbeda, namun berdasarkan pertimbangan baik kemudahan mendapatkan bahan karena dedak merupakan bahan sisa produk pertanian yang cukup tersedia, mudah didapat dan harga yang relatif murah maka penelitian selanjutnya dilakukan menggunakan dedak sebagai media produksi. Sebagai mikro-organismenya penghasil amilase digunakan *A. niger* (ISO 482).

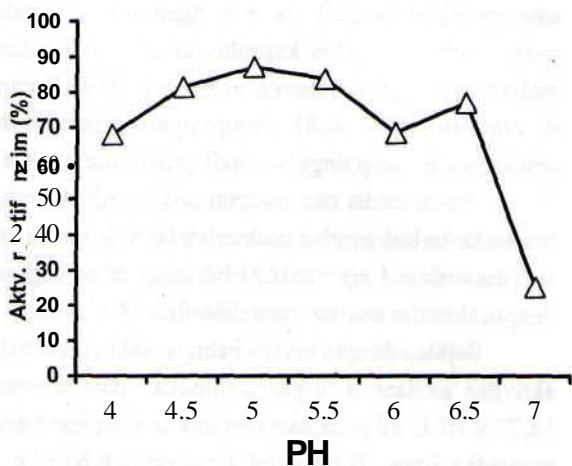


Gambar 2. Aktivitas amilase *A. niger* (ISO. 482) dalam media dedak

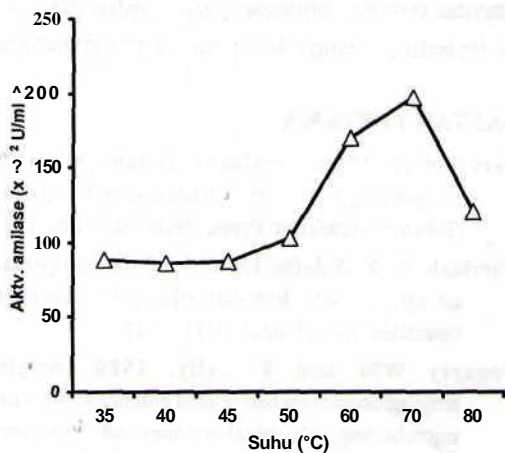
Data pada gambar 2 menunjukkan bahwa aktivitas amilase mulai terlihat satu hari setelah inkubasi dan sejalan dengan bertambahnya waktu inkubasi aktivitas tersebut meningkat sampai diperoleh aktivitas tertinggi sebesar $91,64 \times 10^2 \text{U/ml}$ setelah hari ke 3 inkubasi. Hari berikutnya aktivitas tersebut mulai menurun meskipun sampai hari ke 7 masih cukup tinggi.

Optimasi produksi amilase pada berbagai kondisi pH dan suhu

Pengaruh dari pH terhadap aktivitas amilase ditunjukkan pada gambar 3. Kondisi optimum untuk reaksi enzimatik ada pada kisaran pH (5.0-7.0) dengan aktivitas amilase tertinggi sebesar $87,1 \times 10^2 \text{U/ml}$ yang dicapai pada kondisi pH 5 dan pada kondisi tersebut enzim amilase relatif stabil.



Gambar 3. Pengaruh pH terhadap aktivitas amilase.



Gambar 4. Pengaruh suhu terhadap aktivitas amilase.

Aktivitas amilase kasar juga dipengaruhi oleh suhu, aktivitas tersebut cenderung meningkat sejalan dengan meningkatnya suhu, dan terlihat bahwa enzim ini cukup tahan terhadap perubahan suhu (Gambar 4). Pada kisaran suhu 40-50 °C enzim cukup stabil, sejalan dengan naiknya suhu aktivitas enzim meningkat sampai mencapai maksimum pada suhu 70 °C dan selanjutnya menurun meskipun suhu dinaikkan.

PEMBAHASAN

Kemampuan mikroorganisme dalam menghasilkan enzim disamping ditentukan oleh biaknya, juga sangat ditentukan oleh lingkungan yang salah satu diantara faktor tersebut adalah sumber karbon. Sumber karbon yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dedak dan nasi, media produksi dipersiapkan dalam bentuk media padat. Perbandingan antara bahan dan air yang digunakan adalah untuk substrat dedak perbandingan antara dedak dan air (1:1) w/v, dan untuk sustrat nasi perbandingan beras dan air (1:1) w/v. Penggunaan kedua macam substrat didasarkan pada pertimbangan ekonomi karena merupakan bahan yang relatif murah dan banyak tersedia. Perbandingan antara dedak dan air ataupun antara beras air didapat berdasarkan hasil percobaan pendahuluan. Menurut Carrizales dan Jaffe (1986), sejumlah mikroorganisme terutama jamur mampu tumbuh; pada medium padat, kandungan air yang diperlukan berkisar antara 12-80%, tergantung pada daya absorpsi substrat. Dalam kedua media yang digunakan yaitu dedak padi dan nasi baik *A. niger* maupun *A. clavatus* dapat tumbuh dengan baik. Setelah diinkubasikan selama satu hari pada suhu kamar miselium kapang mulai tumbuh, pada hari kedua hampir seluruh substrat sudah dipenuhi oleh miselium. Pada hari kedua *A. niger* sudah membentuk spora dan pada hari ketiga hampir seluruh permukaan substrat sudah dipenuhi spora yang berwarna hitam. Substrat yang ditumbuhi *A. clavatus* hanya sedikit terdapat spora. *Aspergillus* spp. merupakan kelompok kapang yang sudah digunakan dalam berbagai bidang industri diantaranya pembuatan Protein Sel Tunggal (PST) dan sebagai inokulan untuk pembuatan berbagai makanan fermentasi. Sebagai pembawa (*carrier*) mikro-organisme dalam pembuatan ragi biasa digunakan nasi atau dedak gandum,

dan ragi yang dihasilkan mengandung spora *Aspergillus niger* sekitar 10^8 spora/g. Substrat yang sudah ditumbuhi kapang ini dikenal dengan sebutan "koji". Dalam pembuatan PST kehadiran spora yang berwarna hitam ataupun hijau menyebabkan penampilan produk yang dihasilkan kurang menarik. Menurut Raimbault (1998), salah satu keuntungan fermentasi substrat padat adalah substrat fermentasi dapat sekaligus sebagai bahan pembawa.

Hasil pengujian aktivitas amilase yang diperoleh pada kedua macam media produksi memperlihatkan bahwa aktivitas amilase tertinggi dihasilkan apabila isolat terseleksi ditumbuhkan dalam media yang mengandung dedak : air (1 : 1) w/v, aktivitas amilase yang dihasilkan dalam media tersebut sebesar $91,16 \times 10^{-2}$ U/m, tingginya aktivitas amilase yang dihasilkan dalam media tersebut kemungkinan disebabkan dedak merupakan sumber protein, lemak, mineral dan vitamin sangat dibutuhkan oleh bakteri untuk pertumbuhannya. Nilai rata-rata komposisi kimia bahan-bahan yang terkandung dalam beberapa macam dedak menurut Houston (1972), adalah air 8,4-14,7%, protein 9,8-15,4%, lemak 7,7-22,4%, bent 34,2-46,1%, serat kasar 5,7-20,9% dan abu 7,1-20,6%, disamping itu juga mengandung unsur lainnya seperti pentosan dan selulose. Komposisi kimia bahan tersebut bervariasi tergantung jenisnya. Beras menurut terdiri dari air 74%, abu 0,12%, total protein 1,80%, lemak 1,2%, serat kasar 7,4% dan abu 0,3% disamping juga mengandung Cu, Mg, Ca, Na, dan K.

Amilase merupakan enzim yang produksinya dapat diinduksi oleh senyawa nitrogen sederhana. Perbandingan antara unsur karbon, nitrogen dan vitamin akan berpengaruh terhadap produksi enzim amilase. Komposisi bahan yang terdapat dalam dedak cukup baik untuk menginduksi enzim amilase, sehingga aktivitas amilase dalam media tersebut lebih tinggi. Enzim amilase memotong molekul pati secara acak pada bagian tengah rantai karbon pati yaitu pada sambungan a - 1,4 glikosida serta a - 1,6 glikosida, setiap unit aktivitas amilase setara dengan mikromol glukosa dihasilkan. Hasil akhir konversi adalah maltosa, glukosa dan a - limit dekstrin.

Pengaruh waktu inkubasi terhadap produksi amilase dipelajari dengan menumbuhkan isolat

terseleksi dalam media mengandung dedak, inkubasi dilakukan pada suhu kamar selama 7 hari. Satu hari setelah inkubasi produksi amilase nampaknya masih rendah, aktivitas amilase yang dihasilkan $18,8 \times 10^2$ U/ml. Aktivitas tersebut meningkat sejalan dengan bertambahnya waktu inkubasi, aktivitas tertinggi yaitu sebesar $91,16 \times 10^2$ U/mL dicapai pada hari ke 4. Pada hari-hari berikutnya aktivitas tersebut kelihatan mulai sedikit menurun. Regulasi aktivitas amilase tampaknya berhubungan dengan kebutuhan metabolisemenya, apabila gula pereduksi yang terbentuk telah mencukupi kebutuhan metabolisme maka tahap berikutnya terjadi perlambatan produksi enzim.

KESIMPULAN

Aktivitas amilase dari enam isolat kapang yang termasuk kelompok *Aspergillus* spp. telah diuji dengan menggunakan medium yang mengandung 2% pati terlarut sebagai sumber karbohidrat. Dua dari enam isolat tersebut yaitu *Aspergillus niger* (ISO 482) dan *A. clavatus* (ISO 468) mempunyai kemampuan amilase yang cukup tinggi dibandingkan yang lainnya.

Dalam media nasi maupun dedak padi aktivitas amilase kedua biak tersebut tidak teraluberbeda, meskipun aktivitas amilase[^]. \langle /ger sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas amilase yang dihasilkan *A. clavatus*.

Sejalan dengan bertambahnya waktu inkubasi, aktivitas amilase *A. niger* meningkat, dari sebesar $18,77 \times 10^2$ U/ml pada hari pertama setelah inkubasi; menjadi sebesar $91,64 \times 10^2$ U/ml setelah hari ke 3 inkubasi.

Aktivitas amilase dipengaruhi oleh pH dan suhu; aktivitas tertinggi dijumpai pada kondisi pH 5,0 dan enzim terlihat cukup tahan terhadap perubahan suhu.

DAFTAR PUSTAKA

- Bernfeld O. 1955. Amylases. Dalam: Methods in Enzymology 1. SP Colowick and NO Kaplan (Editor). Academic Press, New York. hal. 149.
- Carrizales V & WJaffe. 1986. Solid state fermentation: an appropriate biotechnology for developing countries. *Interciencia* 11(1): 9-15
- Fogarty WM and T Kelly. 1980. Amylases, amyloglucosidases and related gluconases in economy microbiology: Microbial enzymes and bioconversions . 5 vol. 5. Ed. By. A. H. Rose. Academic Press, London.

- Frazier WC and DC Westhoff. 1981.** Food Microbiology. Tata Me GrawHill Pub. Co. New Delhi.
- Gangrong X, S Lee, M Takagi, M Morikawa and T Inagaki. 1990.** Cloning in *Bacillus substilis* of thermostable and alkalophilic amylase from a thermophilic *Bacillus sp.* Annual report of IC. Biotech, Osaka University, Osaka. Japan.
- Houston DF. 1972.** Rice bran and polish dalam Rice chemistry and Technology, Ed. By. D. F. Houston. American Association of Cereal Chemists Inc., St Paul, Minnesota.
- Kinoshita S, V Sangpituk, D Rodpaya , N Nilubol, and H Taguchi. 1882.** Hydrolysis of Starch by Immobilized Cells and by Enzymes of *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus sp.* IC Biotech. Vol5.
- Mangunwardoyo W, M Takano and I Shibasaki, 1982.** Preservation and Utilization of a concentrated seed culture for bacterial amylase production. Annual reports of ICME, vol.5, Osaka University, Osaka, Japan.
- Raimbault M. 1998.** General and microbiological aspect of solid substrat fermentation. Electronic J Biotech 1:1-15.