PENGUJIAN KONDISI LIKUIFIKASI DALAM PRODUKSI SIRUP GLUKOSA DARI PATI SAGU (*Metroxylon* sp.)

Iman Permana Maksum, Yeni Wahyuni dan Yanyan Mulyana
Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran
Jatinangor, Bandung 40600

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa jauh pengaruh suhu, kecepatan pengadukan dan konsentrasi enzim α-amilase terhadap proses likuifikasi. Kadar gula pereduksi (mg/mL) yang dihasilkan ditentukan dengan spektrofotometri-Nelson Somogyi. Pengujian kondisi likuifikasi dilakukan pada pH 7,0, suhu 80 ^{0}C dan 90 ^{0}C, kecepatan pengadukan 100 rpm dan 180 rpm serta konsentrasi enzim sebesar 1,066U/mL, 1,599 U/mL dan 2,132 U/mL selama 2 jam. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kondisi likuifikasi optimum diperoleh pada suhu 80 ^{0}C dan kecepatan pengaduan 180 rpm dengan kadar gula pereduksi sebesar 7,649 mg/mL. Konsentrasi enzim tertinggi yaitu sebesar 2,132 U/mL menghasilkan kadar gula pereduksi tertinggi sebesar 14,749 mg/mL.

Kata kunci : Likuifikasi, sirup glukosa, enzim α-amilase

THE EXAMINATIONS OF LIQUIFICATION CONDITIONS IN THE PRODUCTION OF GLUCOSE SYRUP FROM SAGO STARCH (*Metroxylon* sp.)

ABSTRACT

The objective of this research was to study the effects of temperature, agitation rate and enzyme concentration on the process of liquification. The resulted reducing sugars concentration (mg/mL) were determined by spectrofotometry-Nelson Somogyi. The examinations of liquification conditions were done at pH 7.0, temperature of 80 ^{0}C and 90 ^{0}C, agitation rates of 100 rpm, 140 rpm and 180 rpm and α-amilase enzyme concentrations of 1.066 U/mL, 1.599 U/mL and 2.132/mL for 2 hours. The results showed that optimum of liquifications conditions were obtained at temperature of 80^{0}C and agitation rate of 180 rpm with the resulted reducing sugars concentration (7.649 mg/mL). The highest α-amilase enzyme concentration (2.132 U/mL) resulted the highest reducing sugars concentration (14.749 mg/mL).

Keywords : Liquification, glucose syrup, α-amilase enzyme.

PENDAHULUAN

Dalam Codex Alimentarius sirup glukosa didefinisikan sebagai suatu larutan cair sakarida *nutritive* yang diperoleh dari pemecahan pati menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan komponen utamanya adalah glukosa. Pemecahan pati tersebut dapat memantafkan peranan enzim penghidrolisis. Hidrolisis pati dengan enzim mempunyai keuntungan apabila dibandingkan dengan cara perebusan asam, yaitu menghasilkan produk yang lebih murni. Kemajuan dalam konversi enzim telah dapat menghasilkan sirup dengan kadar dekstrosa 95%. Enzim yang digunakan pada pembuatan sirup glukosa adalah enzim α-amilase dan glukoamilase. α-amilase berperan pada tahap likuifikasi, sedangkan glukoamilase pada tahap sakarifikasi. Proses likuifikasi ini merupakan proses pencairan gel pati dengan menggunakan enzim α-amilase yang menghidrolisis pati menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana dari oligosakarida atau dekstrin. Sedangkan proses sakarifikasi adalah pemecahan senyawa-senyawa gula hasil likuifikasi oleh enzim glukoamilse menjadi senyawa glukosa (Haska, 1982).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi optimasi senyawa gula yang dihasilkan pada proses likuifikasi dan sakarifikasi adalah faktor pengadukan, suhu, pH larutan enzim, aktivitas dan kemurnian enzim, konsentrasi substrat dan waktu (Said, 1987).

Proses pembuatan sirup glukosa mempunyai kekurangan yaitu untuk mendapatkan enzim murni dengan aktivitas yang tinggi memerlukan biaya yang mahal. Oleh karena itu untuk mengoptimalkannya harus diperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi proses likuifikasi dan sakarifikasi.

Dari uraian di atas dapatlah dirumuskan masalah, yaitu bagaimana mencari kondisi yang optimum pada proses likuifikasi dan sakarifikasi untuk menghasilkan sirup glukosa dengan kadar gula yang tinggi. Penelitian ini hanya dibatasi pada pengujian kondisi likuifikasi yang akan dilanjutkan kemudian dengan pengujian kondisi sakarifikasi pada penelitian selanjutnya. Penelitian ini akan melakukan pengujian pengaruh suhu, kecepatan pengadukan, konsentrasi enzim dan waktu likuifikasi. Untuk faktor pH dan konsentrasi substrat disesuaikan dengan kondisi pada saat produksi optimasi enzim α-amilase dari penelitian sebelumnya, yaitu pada pH 7 dan konsentrasi substrat pati adalah 12,5% (berat pati/volume larutan enzim). Enzim yang akan digunakan adalah enzim α-amilase hasil produksi dari penelitian sebelumnya, yaitu pada kondisi fermentasi: suhu 30 ^{0}C, kecepatan pengadukan 500 rpm, skala aerasi 1,5 vvm, pH 7, konsentrasi substrat 12,5% dan waktu selama 1 hari.

Senyawa-senyawa gula yang dihasilkan pada proses ini akan dianalisis dengan teknik spektrofotometri (metode Nelson-Somogyi), yang didasarkan pada reaksi reduksi-oksidasi antara gula dengan larutan tembaga (II) sulfat ($CuSO_4$) membentuk endapan tembaga (1) oksida (Cu_2O) yang dapat mereduksi pereaksi arsenomolibdat membentuk senyawa berwarna. Intensitas warna yang terbentuk menunjukkan banyaknya gula pereduksi yang terdapat dalam contoh (Somogyi, 1952). Pada teknik spektrofotometri ini, analisis dari sejumlah mono- dan

disakarida hanya dapat menggambarkan kadar gula total/gula pereduksi (Hart dan Fischer, 1972).

Untuk penelitian selanjutnya akan dilakukan analisis tiap jenis gula yang secara kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) densitometri dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah kapang *Aspergillus oryzae* yang dipelihara dalam medium Potato Dextrosa Agar.

Pati sagu (*Metroxylon* sp.) dan tepung kedelai masing-masing digunakan sebagai sumber karbohidrat dan nitrogen, diperoleh dari sebuah pasar di kota Bandung. Bahan-bahan kimia berasal dari *Mereck* dan *malt extract* dari Diffco.

Metode

Produksi enzim α-amilase

Produksi enzim α-amilase dari *Aspergillus oryzae* pada fermentore skala 2 L adalah sebagai berikut:

a. Penyediaan media pertumbuhan

Komposisi media pertumbuhan yang digunakan adalah: 30 g tepung sagu, 10,56 g tepung bungkil kedelai, 1,35 g *malt ekstrak*, 1,5 g kalium hydrogen fosfat heptahidrat, 0,75 g magnesium sulfat heptahidrat, 0,5 g kalium klorida, 0,015 g Ferosulfat heptahidrat dilarutkan ke dalam 1500 mL air suling. Kemudian dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk, sehingga diperoleh larutan yang homogen. Setelah didinginkan pada suhu kamar, pH media diatur hingga 7 dengan menambahkan asam klorida atau natrium hidroksida. Kemudian larutan dimasukan ke dalam *culture vessel* fermentor lalu disterilisasi pada 121^0C, 1 atm selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi siap untuk diinokulasi setelah didinginkan pada suhu kamar.

b. Inokulasi

Media fermentasi diinokulasi secara aseptis dalam ruang *laminar flow* dengan biakan *Aspergillus oryzae* yang telah ditumbuhkan pada media potato dextrose agar selama 7 hari dengan perbandingan 12,5 mL inokulum untuk 100 mL media. Sebagai pensuspensi spora digunakan larutan Tween 80, 0.01 %.

c. Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan dalam fermentor dengan volume kerja 1500 mL pada suhu 30^0C, aerasi 1,5 vvm selama 1 hari.

d. Analisis

Pengukuran dilakukan terhadap aktivitas α-amilase yang dihasilkan pada akhir fermentasi. Aktivitas α-amilase ditentukan dengan metode Folin-Wu untuk penentuan gula pereduksi. Pereaksi yang digunakan adalah: buffer fosfat 0,1 pH 7: larutan natrium klorida 0,85%; substrat pati 1%; natrium wolframat 10%; Pereaksi tembaga (II); dan pereaksi asam molibdat.

Cara penentuannya adalah sebagai berikut: Larutan reaksi terdiri dari 7 mL larutan substrat pati terlarut 1% dalam buffer fosfat 0,1 M (pH 7) dan larutan natrium klorida 0,85% sebanyak 0,5 mL. Campuran substrat ini diinkubasi selama 5 menit dalam penangas air pada suhu 40^0 C. kemudian ditambahkan 1 mL sampel enzim ke dalam campuran substrat dan inkubasi diteruskan selama 30 menit secara tepat. Reaksi enzim-substrat dihentikan dengan penambahan asam sulfat 2/3 N sebanyak 1,5 mL dan protein enzim diendapkan dengan natrium wolframat 10%. Selanjutnya campuran reaksi dikocok kemudian disaring dan filtrat ditentukan kadar gula pereduksinya. Sebagai pembanding digunakan larutan kontrol dengan cara pembuatannya hampir sama seperti pada sampel, hanya dibedakan sampel enzimnya diinaktifkan dulu dengan asam sulfat 2/3 N. untuk larutan blanko dibuat seperti pada larutan sampel kecuali 1 mL enzim digantikan dengan 1mL air suling.

Penetuan kadar gula pereduksi: 1 mL filtrat direaksikan dengan 1 mL pereaksi tembaga (II). Campuran ini dipanaskan di atas penangas air mendidih selama enam menit, setelah itu segera ditambahkan 1 mL pereaksi asam molibdat, kemudian pemanasan diteruskan lagi selama 2 menit. Selanjutnya tabung ini didinginkan dengan air kran hingga mencapai suhu kamar, kemudian volume total dibuat menjadi 10 mL dengan penambahan air suling. Serapan ditentukan dengan menggunakan spektrometer pada panjang gelombang 420 nm. Aktivitas α-amilase ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva α-amilase standar. Sebagai standar digunakan enzim α-amilase murni (Wako Pure Chemical Industries, No. Co. 015-03731).

Aktivitas α-amilase dinyatakan dalam unit/mL supernatan, yaitu banyaknya enzim yang dapat melepaskan 1 mg glukosa dari substrat pati terlarut dalam waktu 30 menit pada pH 7 dan suhu 40^0 C.

Pengujian kondisi likuifikasi dan analisis gula pereduksinya

a. Pengujian kecepatan pengaduan likuifikasi

0,125 g pati sagu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL enzim α-amilase dan diukur pH-nya sampai pH 7. tabung selanjutnya ditutup untuk menghindari penguapan.

Shaker water-bath dipasang pada variasi kecepatan pengadukan 100 rpm, 140 rpm dan 180 rpm. Tiap-tiap kecepatan pengadukan dilakukan pada suhu perlakuan 80^0 C dan 90^0 C. setiap perlakuan likuifikasi disediakan 5

tabung reaksi dengan waktu likuifikasi selama 2 jam. Pengambilan sampel dilakukan pada waktu 30, 45, 60, 90, 120 menit sejak dijalankan alat. Dilakukan dengan cara mengambil satu tabung reaksi pada masing-masing waktu tersebut. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar gula pereduksi dengan menggunakan metode Nelson-Somogyi.

b. Pengujian suhu likuifikasi

Perlakuannya hampir sama seperti pada pengujian kondisi kecepatan pengadukan tetapi yang membedakannya adalah perlakuan variasi konsentrasi enzim dari hasil pemekatan dengan proses likuifikasi dilakukan pada suhu dan kecepatan pengadukan yang terbaik. Waktu likuifikasi yang dilakukan adalah 0,15,30,45,60 menit.

Cara penentuan analisis gula pereduksi dengan metode Nelson-Somogyi : 1 mL sampel dimasukan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL pereaksi Nelson (1mL Nelson A : 25 mL Nelson B). Kemudian dididihkan pada penangas air selama 20 menit. Setelah itu didinginkan dengan cepat dan ditambahkan mL pereaksi arsenomolibdat, dikocok dan diencerkan dengan air suling sampai volume 10 mL.Serapannya diukur pada panjang gelombang 520 nm. Kadar gula pereduksi ditentukan dengan mengguinakan kurva glukosa standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi enzim α-amilase

Proses fermentasi yang dilakukan dalam fermentor dengan volume kerja 1500 mL pada suhu 30 ^{0}C, aerasi 1,5 vvm selama 1 hari menghasilkan aktivitas enzim sebesar 1,038 U/mL.

Pengujian kondisi likuifikasi dan analisis gula pereduksinya

a. Pengujian kecepatan pengadukan likuifikasi

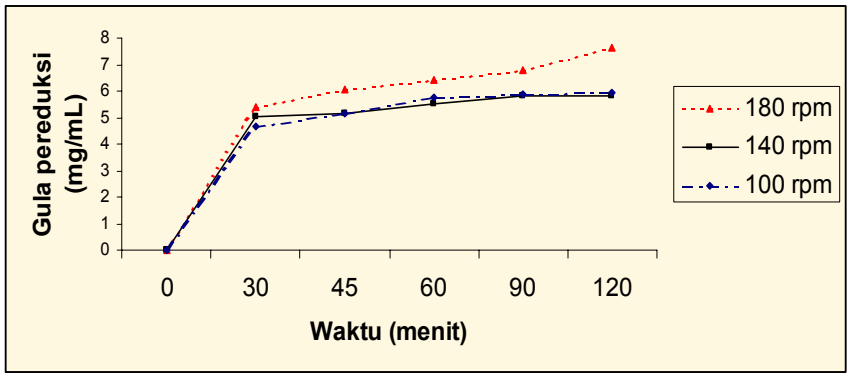
Hasil perhitungan kadar gula pereduksi dari hasil pengujian kecepatan pengaduan likuifikasi 100 rpm, 140 rpm, 180 rpm pada suhu 80^{0}C dan 90^{0}C dapat dilihat pada Tabel 1 dan pada Gambar 1 dan 2.

Pada gambar 1 dapat ditunjukkan bahwa gula pereduksi pada kecepatan 180 rpm memberikan hasil yang lebih tinggi daripada kedua kecepatan pengaduan lainnya. Kadar gula pereduksi yang dihasilkan meningkat sejalan dengan penambahan waktu. Peningkatan pada waktu 60 menit sampai 120 menit sedikit sekali, bahkan pada kurva hampir mendatar. Pada kecepatan 140 rpm. Peningkatan gula pereduksi pada 30 menit pertama lebih tinggi daripada kecepatan putaran 100 rpm. Setelah 30 menit peningkatannya hampir mendatar dan berada di bawah gula pereduksi yang dihasilkan pada kecepatan 100 rpm.

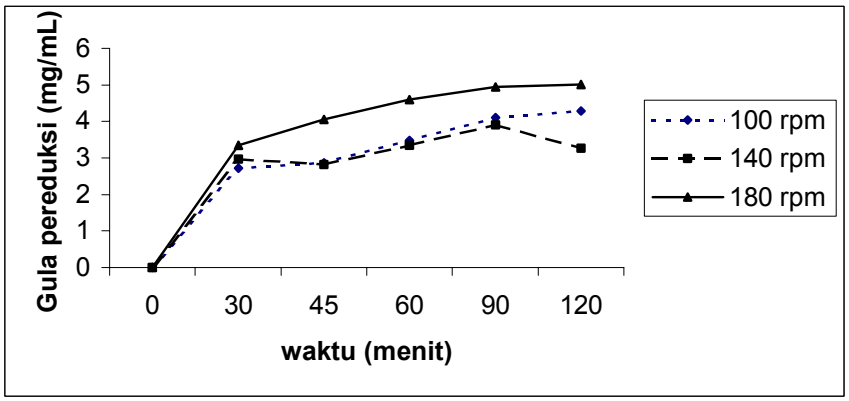
Pada kecepatan 180 rpm, proses likuifikasi menghasilkan gula pereduksi yang meningkat terus sejalan dengan pertambahan waktu.

Tabel 1. Data pengamatan kadar gula pereduksi pada kecepatan pengadukan likuifikasi 100 rpm, 140 rpm, suhu 80^0C dan 90^0C

Suhu (^{0}C)	Kecepatan Putaran (rpm)	Waktu (menit)	Serapan (A)	Kadar Gula Pereduksi (mg/mL)
80	100	30	0,236	4,658
		45	0,259	5,143
		60	0,287	5,733
		90	0,293	5,859
		120	0,297	5,943
	140	30	0,254	5,037
		45	0,259	5,143
		60	0,276	5,501
		90	0,290	5,796
		120	0,291	5,817
	180	30	0,270	5,374
		45	0,303	6,069
		60	0,321	6,449
		90	0,336	6,765
		120	0,378	7,649
90	100	30	0,144	2,720
		45	0,151	2,868
		60	0,180	3,478
		90	0,210	4,111
		120	0,218	4,279
	140	30	0,156	2,973
		45	0,149	2,826
		60	0,174	3,352
		90	0,200	3,899
		120	0,170	3,268
	180	30	0,174	3,352
		45	0,207	4,047
		60	0,232	4,595
		90	0,250	4,953
		120	0,253	5,016



Gambar 1. Kadar gula pereduksi pada kecepatan pengadukan likuifikasi 100rpm, 140 dan 180 rpm, suhu 80 ^{0}C



Gambar 2. Kadar gula pereduksi pada kecepatan pengadukan likuifikasi 100 rpm, 140 rpm dan 180 rpm

Dari ketiga kecepatan pengaduan proses likuifikasi pada suhu 80^{0}C dsapat dijelaskan bahwa dengan peningkatan kecepatan pengaduan skala yang besar (80 rpm) sejalan dengan bertambahnya waktu likuifikasi akan meningkatkan kadar gula pereduksi.

Pada gambar 2 dapat ditunjukkan bahwa gula pereduksi pada kecepatan 180 rpmmemberikan hasil yang lebih tinggi daripada kedua kecepatan pengadukan lainnya. Kadargula pereduksi yang tertinggi yang dihasilkan pada kecepatan 180 rpm yaitu sebesar 5,016mg/mL pada waktu likuifikasi 120 menit. Sedangkan pada kecepatan 100 rpm dan 140 rpm masing-masing memberikan hasil sebesar 4,279 mg/mL pada waktu 120 menit dan 3,899 mg/mL pada waktu 90 menit. Pada kecepatan 100 rpm, gula pereduksi yang dihasilkan meningkat sejalan dengan

penambahan waktu. Pada kecepatan 140 rpm, gula pereduksi yang dihasilkan meningkat pada 30 menit pertama dan menurun pada selang waktu 30 sampai 45 menit. Kemudian meningkat kembali dengan kadar gula pereduksi berada di bawah pada kecepatan 100 rpm. Pada selang waktu 90 menit sampai 120 menit terjadi penurunan kadar gula pereduksi. Pada kecepatan 180 rpm, gula pereduksi yang dihasilkan meningkat sejalan dengan pertambahan waktu.

Dari ketiga kecepatan pengadukan proses likuifikasi pada suhu 90 0C dapat dijelaskan bahwa dengan peningkatan kecepatan pengadukan dengan skala yang besar (80 rpm) sejalan dengan bertambahnya waktu likuifikasi akan meningkatkan kadar gula pereduksi.

Dari hasil percobaan ini ada kecenderungan bahwa dengan semakin tinggi kecepatan pengadukan dengan skala besar (80 rpm) sejalan dengan bertambahnya waktu likuifikasi maka akan semakin banyak kadar gula pereduksi yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena faktor kecepatan pengadukan dapat meningkatkan homogenetis enzim α-amilase dengan substrat pati sehingga dapat meningkatkan reaksi enzimatiknya. Tetapi perlu diperhatikan bahwa kondisi kecepatan pengadukan yang terlalu tinggi dapat menyebabkan pengurangan aktivitas enzim, karena struktur protein enzim dapat mengalami kerusakan. Oleh karena perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari kondisi optimumnya.

b. Pengujian suhu likuifikasi

Kadar gula pereduksi yang dihasilkan oleh pengaruh suhu likuifikasi 80 0C dan 90 0C dengan kondisi kecepatan pengadukan terbaik yaitu pada 180 rpm dapat ditunjukkan pada tabel 1 dan lebih terperinci pada gambar 1 dan 2.

Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa kadar gula pereduksi suhu 80 0C mempunyai hasil yang lebih tinggi dibandingkan suhu 90 ^{0}C. yaitu masing-masing sebesar 7,649 mg/mL dan 5,016 mg/mL. Hasil tersebut menjelaskan bahwa kondisi optimum suhu likuifikasi berada di sekitar 80 ^{0}C mempunyai hasil yang lebih tinggi dibandingkan suhu 90 ^{0}C, yaitu masing-masing sebesar 7.649 mg/mL dan 5,016 mg/mL. Hasil tersebut menjelaskan bahwa kondisi optimum suhu likuifikasi berada di sekitar 80 ^{0}C, yaitu suhu yang sesuai untuk pencarian gel pati (E.G.,Said, 1989) dan relatif aman untuk aktivitas enzim α-amilase. Suhu likuifikasi pada 90 ^{0}C dapat menyebabkan struktur protein enzim cepat rusak sehingga dapat mempercepat pengurangan aktivitas katalitiknya.

c. Pengujian konsentrasi enzim α-amilase

Data kadar gula pereduksi yang diperoleh dari hasil likuifikasi dengan variasi konsentrasi enzim α-amilase dan pada kondisi suhu dan kecepatan pengadukan terbaik dapat ditunjukkan pada Tabel 2 dan Gambar 3.

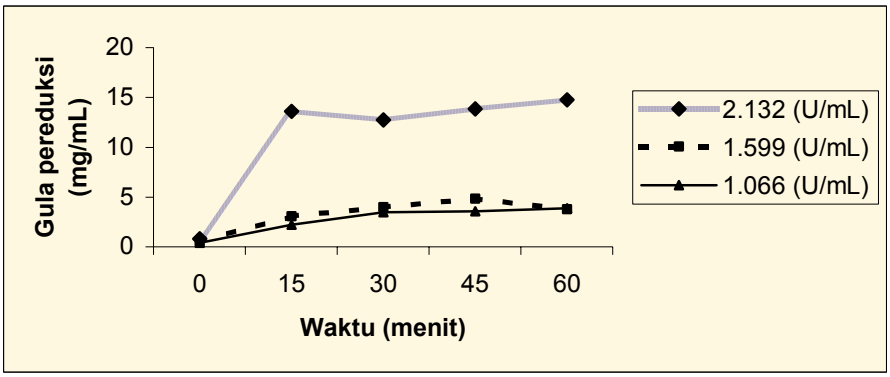
Tabel 2. Kadar gula pereduksi pada variasi konsentrasi enzim, suhu 80^0C dan kecepatan 180 rpm.

Konsentrasi Enzim (U/mL)	Serapan (A)	Waktu (menit)	Faktor Pengenceran	Kadar Gula Pereduksi (mg/mL)
2,132	0	0,400	10	0,811
	15	0,660	100	13,590
	30	0,621	100	12,769
	45	0,673	100	13,864
	60	0,715	100	14,749
1,599	0	0,278	10	0,554
	15	0,160	100	3,057
	30	0,204	100	3,984
	45	0,244	100	4,827
	60	0,195	100	3,795
1,066	0	0,202	10	0,394
	15	0,120	100	2,215
	30	0,180	100	3,479
	45	0,184	100	3,563
	60	0,199	100	3,879

Dari gambar terlihat bahwa pada konsentrasi enzim 2,132 U/mL., terjadi peningkatan gula pereduksi yang tinggi pada 15 menit pertama. Selanjutnya menurun pada selang waktu 15 menit 30 menit dan meningkat kembali sampai waktu 60 menit. Pada enzim dengan konsentrasi 1,599 U/mL, kadar gula pereduksi terus meningkat sampai waktu 45 menit, kemudian menurun sampai waktu 60 menit. Pada konsentrasi 1,066 U/mL, gula pereduksi yang dihasilkan meningkat sejalan dengan pertambahan waktu.

Dari ketiga konsentrasi enzim yang digunakan, enzim dengan konsentrasi 2,132 U/mL menghasilkan kadar gula pereduksi tertinggi yaitu sebesar 14,749 mg/mL. Selanjutnya diikuti secara berturut-turut oleh konsentrasi 1,599 U/mL dan 1,066 U/mL dengan kadar gula pereduksi masing-masing sebesar 4,827 mg/mL dan 3,879 mg/mL.

Dari hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi enzim dapat meningkatkan kadar gula pereduksi. Hal ini disebabkan karena konsentrasi enzim merupakan besarnya kemampuan atau aktivitas enzim dalam melakukan reaksi katalitiknya.



Gambar 3. Kadar pereduksi pada variasi konsentrasi enzim, suhu 80^0C dan kecepatan 180 rpm.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari data yang diperoleh pada hasil pengujian kondisi likuifikasi: kecepatan pengaduan, suhu dan konsentrasi enzim dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Kecepatan pengadukan 180 rpm menghasilkan kadar gula pereduksi tertinggi, yaitu sebesar 7,649 mg/mL. Kemudian diikuti oleh skala 100 rpm dan 140 rpm dengan nilai masing-masing sebesar 5,943 mg/mL dan 5,817 mg/mL Hasil tersebut menunjukkan kadar gula pereduksi dapat meningkat dengan peningkatan kecepatan pengadukan dengan skala besar (80 rpm).
2. Suhu 80^0C adalah kondisi terbaik untuk pencairan gel pati dan tidak merusak struktur enzim α-amilase sehingga aktivitasnya tetap dipertahankan pada proses likuifikasi.
3. Peningkatan konsentrasi enzim α-amilase akan meningkatkan kadar gula pereduksi. Konsentrasi enzim merupakan kemampuan atau aktivitas dalam melakukan reaksi katalitiknya.

Saran

Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan beberapa teknik pemurnian enzim α-amilase sebelum melakukan proses likuifikasi. Sedangkan untuk analisis gula pereduksi harus dikembangkan dengan menggunakan metode Kromatografi Lafis Tipis densitometri dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Hart, A.M.L and H.J. Fischer, 1972, Modern Food Analysis, Springler Verlag, New York.

Haska, N., 1982, Pembuatan Sirup Dari Pati Sagu Secara Enzimatis, Jurusan IPN, SPS IPB, Bogor.

Julia, Karossi, A.T. and A.S. Pramudi, 1993, The Use of Titrimetric, Nelson Somogyi and HPLC Methods for The Analysis of The Cashew Juice Fermentation Broths. Indonesian Journal of Applied Chemistry, Volume 3 No.1, 11-16.

Karossi, A.T., A.Sidik, S.Pujiharti dan I.P.Maksum, 1997, Produksi α-amilase oleh Aspergillus oryzae dengan Variasi Aerasi dan Penggunaannya. Seminar Nasional VI Kimia dalam Industri Lingkungan, JASA KIAI, Jogjakarta.

Fuji, T. Homma, and M. Taniguchi, 1988, Synergism of α-amilase and Glucoamylase on Hidrolysis of Native Starch Granules, Biotechnology and Bioengineering. Vol. 32,32, 910-915.

Said, E.G., 1989, Bioindustri, Penerapan Teknologi Fermentasi, Mediyatama Sarana Perkasa, Jakarta.