SAKARIFIKASI PATI UBI KAYU MENGGUNAKAN AMILASE ASPERGILLUS NIGER ITB CC L74

Ukan Sukandar*, Achmad Ali Syamsuriputra, Lindawati, dan Yadi Trusmiyadi
Kelompok Keahlian Perancangan dan Pengembangan Produk Teknik Kimia
Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung
Jalan Ganesha 10 Bandung 40132
Email : usukandar@che.itb.ac.id

Abstrak

Bioetanol merupakan produk turunan ubi kayu yang sekarang sedang giat dikembangkan. Salah satu program riset bioetanol Kelompok Keahlian Perancangan dan Pengembangan Produk Teknik Kimia, FTI, ITB tahun 2008 adalah peningkatan produktivitas dan kinerja enzim α -amilase dan glukamilase *Aspergillus niger* ITBCC L74 untuk proses sakarifikasi pati ubi kayu pada produksi bioetanol. Sehubungan dengan kondisi optimum proses sakarifikasi, penelitian tentang pengaruh pH, temperatur, konsentrasi Ca^{2+} , konsentrasi substrat, dan persentase volume enzim, telah dilakukan. Analisis kinerja kompleks amilase yang dilakukan meliputi analisis kinerja enzim α -amilase dengan metode iodin dan analisis kinerja enzim glukamilase dengan metode Somogyi-Nelson. Variabel yang diteliti untuk menentukan kondisi optimum kinerja ekstrak amilase adalah pH (3,5–7,5), temperatur (25–80 °C), konsentrasi Ca^{2+} (25–200 ppm) konsentrasi substrat (0,5–20 %-b/v) dan persentase volume enzim (1–50 %-v). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinerja kompleks enzim amilase optimum berada pada pH 4,5, temperatur 60 °C, konsentrasi Ca^{2+} 75 ppm, dan konsentrasi substrat 7 %-b/v. Kinerja kompleks amilase makin baik seiring dengan peningkatan persentase volume enzim, namun peningkatan ini dibatasi oleh kandungan glukosa dalam enzim yang dapat menyebabkan inhibisi terhadap aktivitas enzim.

Kata kunci: amilase, glukamilase, *Aspergillus niger*, sakarifikasi, pati

Abstract

Bioethanol is a derivative product from cassava that is thoroughly developed nowadays. One of the bioethanol research program of the Chemical Engineering Product Design and Development Research Group, Faculty of Industrial Technology, Institut Teknologi Bandung in the year of 2008 was to increase productivity and the performance of α -amylase and glucoamylase from *Aspergillus niger* ITB CC L74 for saccharification of cassava starch in bioethanol production. In conjunction with the optimum condition of saccharification process, research on the effect of pH, temperature, Ca^{2+} concentration, substrate concentration, and enzyme volume percentage have been carried out. The performance of α -amylase was determined by the iodine method while the performance of glucoamylase was done by the Somogyi-Nelson method. Research variable to determine the optimum performance condition of amylase extract were pH (3.15–7.0), temperature (30–89 °C), Ca^{2+} concentration (0–200 ppm), substrate concentration (0.5–20 %-w/v), and enzyme volume percentage (1.0–50 %-v). The results of this research showed that the optimum performance of amylase complex were pH 4.5, temperature 60 °C, Ca^{2+} concentration 75 m/L, and substrate concentration 7 %-w/v. The performances of amylase complex increased with the increase in the amount of enzyme percentage, but the increase was limited by the amount of glucose that could inhibit enzyme activity.

Keywords: amylase, glucoamylase, *Aspergillus niger*, saccharification, starch

*korespondensi

1. Pendahuluan

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi telah berhasil mengungkapkan betapa penting dan potensialnya bahan-bahan yang mengandung pati sebagai bahan baku untuk industri fermentasi bioetanol. Pati, suatu polisakarida yang dibentuk oleh monomer-monomer glukosa, banyak terdapat di alam dalam bentuk cadangan bahan makanan dari tumbuh-tumbuhan. Yang termasuk kelompok bahan baku yang mengandung pati antara lain adalah padi-padian dan umbi-umbian. Sebagai bahan baku untuk pembuatan bioetanol, jenis padi-padian yang banyak digunakan di negara-negara Asia yaitu beras, sedang di Amerika Serikat umumnya jagung. Umbi-umbian seperti kentang merupakan salah satu jenis bahan baku untuk industri fermentasi bioetanol yang biasa digunakan di kebanyakan negara-negara Eropa.

Ubi kayu merupakan salah satu jenis tanaman yang umbinya banyak mengandung pati. Jenis tanaman ini banyak dibudidayakan masyarakat Indonesia baik dalam skala kecil maupun besar. Ketersediaan ubi kayu cukup banyak, tetapi nilai jualnya rendah. Oleh karena itu, konversi ubi kayu menjadi produk lain yang bernilai jual lebih baik merupakan hal yang sangat penting untuk diperhatikan.

Bioetanol merupakan produk turunan ubi kayu yang sekarang sedang giat dikembangkan di Indonesia. Rute utama produksi bioetanol dari bahan-bahan yang mengandung gula adalah fermentasi. Karena pati ubi kayu tidak dapat digunakan secara langsung oleh ragi yang umum digunakan pada proses produksi etanol, tahapan proses konversi pati menjadi gula yang dapat difermentasi oleh ragi perlu dilakukan terlebih dahulu.

Sebagai pelarut, alkohol beratอม karbon dua ini banyak digunakan di industri-industri farmasi, kosmetik, zat warna, dan resin. Etanol juga merupakan senyawa antara yang bermanfaat untuk pembuatan produk-produk industri kimia seperti etilen, asetaldehid, butadien, aseton, bahkan polistiren, polietilen, dan polivinil klorida. Selain itu, etanol juga dapat digunakan sebagai bahan bakar (Balat dkk., 2008).

Proses konversi pati menjadi glukosa sebagai senyawa antara pembuatan bioetanol merupakan proses yang sangat penting sehingga penelitian kinerja amilase dari *Aspergillus niger* ITB CC L74 dalam

sakarifikasi pati ubi kayu merupakan penelitian yang menarik untuk dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan kondisi proses yang dapat menghasilkan perolehan glukosa paling tinggi. Variabel proses yang diamati adalah temperatur, pH, penambahan ion Ca^{2+} , konsentrasi substrat, dan konsentrasi enzim.

Pati

Pati merupakan polisakarida yang banyak ditemukan pada tanaman. Senyawa ini disimpan dalam bentuk granula dengan ukuran dan karakteristik yang spesifik untuk setiap spesies tanaman (van der Maarel dkk., 2002). Beberapa contoh tanaman yang memiliki kandungan pati dengan konsentrasi tinggi adalah jagung, gandum, beras, kentang, ubi jalar dan ubi kayu.

Pati merupakan polimer yang tersusun dari unit satuan α -D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4 glikosidik dan ikatan α -1,6 glikosidik pada percabangan rantainya. Secara alami, pati merupakan campuran dari amilosa dan amilopektin yang kedua-duanya merupakan suatu polimer dari α -D-glukosa. (Kunamneni dkk., 2005; van der Maarel dkk., 2002).

Amilosa merupakan suatu polimer rantai tunggal tidak bercabang, terbentuk dari 500-20.000 monomer α -D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4 glikosidik (Myers dkk., 2000). Kelarutannya dalam air sangat terbatas, dan memberikan warna biru dengan iodine. Amilopektin merupakan suatu polimer rantai bercabang, terbentuk dari 100.000 monomer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,4 glikosidik pada rantai utama dan α -1,6 glikosidik pada percabangannya (Kunamneni dkk., 2005; Myers dkk., 2000).

Amilase

Berdasarkan kemampuan hidrolitiknya, enzim amilase dikelompokkan menjadi dua kelompok besar yaitu α -amilase yang mampu menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik dan glukamilase yang menghidrolisis ikatan α -1,6-glikosidik. Berdasarkan tempat pemotongan ikatannya, amilase dikelompokkan menjadi tiga, yaitu *exospliting*, *endospliting*, dan *debranching* (Pandey dkk., 2000; Moo-Young, 1985).

Enzim α -amilase

Enzim α -amilase (*endo- α -1,4-glucan glucanohydrolase*, EC. 3.2.1.1) merupakan

enzim amilase *endospliting* yang memutuskan ikatan glikosidik pada bagian dalam rantai pati secara acak. Enzim α -amilase hanya spesifik untuk memutuskan atau menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik tetapi mampu melewati titik percabangan (ikatan α -1,6-glikosidik) untuk memutuskan ikatan α -1,4-glikosidik disebaliknya sehingga menghasilkan isomaltase. Hasil hidrolisis pati dan glikogen oleh α -amilase adalah oligosakarida (maltodekstrin), maltosa, dan sejumlah kecil glukosa yang mempunyai konfigurasi gula α , seperti substrat awal (Sivaramakrishnan dkk., 2006; Kunamneni dkk., 2005).

Amiloglukosidase

Enzim amiloglukosidase (*exo- α -1,4-glucan glucanohydrolase*, EC. 3.2.1.3) merupakan enzim amilase *exospliting*. Amiloglukosidase yang lebih dikenal dengan glukoamilase mampu memutuskan ikatan α -1,4-glikosidik maupun α -1,6-glikosidik (Sivaramakrishnan dkk., 2006; Kunamneni dkk., 2005). Substrat enzim glukoamilase dapat berupa amilosa, amilopektin, glikogen, dekstrin dan maltosa. Hasil hidrolisis pati oleh amiloglukosidase adalah α -D-glukosa.

Faktor-faktor yang mempengaruhi kinerja enzim amilase

Aktivitas atau kinerja enzim dipengaruhi oleh banyak faktor. Terdapat lima faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim yaitu; pH, temperatur, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, dan konsentrasi kofaktor.

pH

Enzim umumnya aktif pada rentang pH yang sempit. Karena enzim merupakan protein, perubahan pH dapat mempengaruhi gugus-gugus amino dan karboksilat dari protein enzim. Perubahan pH dapat mengakibatkan terjadinya perubahan bentuk ionik dari sisi aktif enzim. Di luar pH optimumnya, enzim memperlihatkan aktivitas katalitik yang rendah atau kehilangan aktivitas katalitiknya (Sukandar, 2002).

Temperatur

Pada suatu reaksi enzimatik, temperatur mempengaruhi kestabilan enzim. Kenaikan temperatur sampai sedikit di atas temperatur optimumnya dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim, sedangkan pada

temperatur jauh di atas temperatur optimumnya enzim akan mengalami denaturasi hingga enzim kehilangan aktivitas katalitiknya (Shuler dan Kargi, 2002).

Konsentrasi enzim

Pada konsentrasi substrat tetap, dalam batas tertentu, laju suatu reaksi enzimatik meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi enzim (Sukandar, 2002). Hal ini berarti makin banyak enzim, sampai batas tertentu, makin banyak substrat yang terkonversi karena makin tinggi aktivitas enzim.

Konsentrasi substrat

Konsentrasi substrat dapat mempengaruhi laju produksi dan aktivitas katalitik enzim. Laju pembentukan produk meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat hingga dicapai laju reaksi maksimum untuk kemudian turun kembali mulai harga konsentrasi substrat tertentu. (Bailey dan Ollis, 1986).

Penambahan kation

Jenis enzim yang memerlukan kofaktor berupa ion logam disebut metaloenzim. Di dalam beberapa metaloenzim, komponen logamnya itu sendiri ada yang telah memiliki aktivitas katalitik. Aktivitas enzim akan memperoleh peningkatan sangat besar setelah bergabung dengan kofaktor logamnya. Sebagai contoh, enzim amilase dan protease akan memiliki stabilitas dan aktivitas katalisik lebih tinggi apabila terdapat ion kalsium (Sukandar, 2002).

2. Metodologi

Langkah-langkah percobaan yang dilakukan adalah : produksi kompleks enzim amilase, ekstraksi kompleks enzim amilase, dan analisis kinerja kompleks enzim amilase.

Peralatan

Fermentasi dilaksanakan di dalam labu Erlenmeyer 2L yang dilengkapi dengan sistem aerasi dan direndam di dalam *water bath* untuk mempertahankan temperatur operasi. Peralatan yang digunakan pada uji kinerja enzim amilase adalah spektrofotometer tipe Genesys™ 10 Series.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam percobaan meliputi *stillage* singkong, pati

terlarut, dan reagen uji. *Stillage* singkong yang digunakan sebagai bahan baku untuk produksi enzim merupakan limbah produksi etanol dari singkong. Pati terlarut digunakan sebagai substrat pada reaksi uji kinerja kompleks enzim, sementara reagen uji yang digunakan adalah iodine untuk uji pati dan reagen Somogyi-Nelson (Nelson, 1944) untuk uji konsentrasi glukosa.

Analisis

Analisis kinerja α -amilase dilakukan dengan menentukan kadar pati yang tersisa setelah reaksi konversi pati menjadi dekstrin yang dikatalisis enzim α -amilase berlangsung. Penentuan kadar pati dilaksanakan dengan menggunakan metode iodine (Chinoy dkk., 1934).

Analisis kinerja enzim glukoamilase dilakukan dengan menentukan kadar glukosa yang terbentuk setelah konversi dekstrin menjadi glukosa oleh enzim glukoamilase berlangsung. Penentuan kadar glukosa dilaksanakan dengan menggunakan metode Somogyi-Nelson (Nelson, 1944)

Variasi percobaan

Variasi percobaan meliputi; temperatur operasi (25, 30, 40, 50, 60, 62,5, 70, 80, dan 89 °C), pH operasi (3,15, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, dan 7,5), penambahan konsentrasi Ca^{2+} (0, 12,5, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, dan 200 mg/L), konsentrasi substrat (0,1, 1, 3, 5, dan 7 %-b/v), dan persentase volume ekstrak enzim sebanyak (1, 10, 20, 30, dan 50 %-v/v).

3. Hasil dan Pembahasan

Pengaruh temperatur terhadap kinerja kompleks enzim amilase

Gambar 1 dan Gambar 2 memperlihatkan bahwa kenaikan temperatur sampai titik tertentu meningkatkan kinerja enzim. Temperatur saat aktivitas enzim maksimum disebut temperatur optimum kinerja enzim. Hasil penelitian menunjukkan bahwa temperatur optimum enzim α -amilase dan temperatur optimum enzim glukoamilase adalah 60°C, sementara hasil regresi persamaan kuadratnya menunjukkan bahwa temperatur optimum enzim α -amilase 61,3°C dan temperatur optimum enzim glukoamilase 61,1°C.

Mula-mula kenaikan temperatur dapat mempercepat laju reaksi. Pada temperatur optimum, kinerja enzim maksimum, untuk

kemudian menurun setelah melampaui temperatur optimumnya. Penurunan kinerja enzim ini disebabkan oleh penurunan aktivitas katalitik enzim. Temperatur pada saat aktivitas enzim mulai menurun kembali merupakan temperatur saat protein enzim mulai terdenaturasi. Berdasarkan hasil regresi pangkat dua diperoleh temperatur denaturasi untuk α -amilase dan glukoamilase dari *A. niger* ITB CC L74 berturut-turut adalah 100 °C dan 96 °C.

Gambar 1. Pengaruh temperatur terhadap aktivitas enzim α -amilase

Gambar 2. Pengaruh temperatur terhadap aktivitas enzim glukoamilase

Temperatur optimum kerja enzim amilase *A. niger* ITB CC L74 sama dengan temperatur optimum kerja enzim amilase dari *A. niger* hasil penelitian Omemu dkk. (2005), kecuali puncak kurva untuk enzim amilase *A. niger* ITB CC L74 lebih landai daripada puncak kurva untuk amilase hasil penelitian Ommemu. Hal ini menunjukkan bahwa kompleks enzim amilase *A. niger* ITB CC L74 relatif stabil pada temperatur tinggi.

Pengaruh pH terhadap kinerja kompleks enzim amilase

Nilai pH yang menunjukkan kinerja enzim mencapai maksimum disebut pH optimum. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH optimum untuk enzim α -amilase

dan glukoamilase dari *A. niger* ITB CC L74 adalah sama yaitu 4,5. Hasil regresi persamaan kuadrat menunjukkan pH optimum α -amilase dan glukoamilase adalah 5. Nilai pH tersebut berada dalam rentang pH enzim amilolitik fungi berdasarkan Caballero (2003) yaitu pada pH 4-5.

Gambar 3. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim α -amilase

Dari Gambar 3 dan Gambar 4 dapat dilihat bahwa kurva aktivitas enzim terhadap pH untuk α -amilase dan glukoamilase, kurva aktivitas glukoamilase lebih curam daripada kurva aktivitas enzim α -amilase. Hal ini menunjukkan bahwa enzim α -amilase relatif lebih stabil terhadap perubahan pH dibandingkan dengan enzim glukoamilase. Enzim α -amilase cukup stabil pada pH 3,5-6 sedangkan enzim glukoamilase stabil pada rentang pH lebih sempit yaitu 4,5-5.

Gambar 4. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim glukoamilase

Di luar nilai pH optimumnya, kinerja kompleks enzim rendah. Perubahan pH mengakibatkan terjadinya perubahan bentuk ionik dari sisi aktif enzim dan perubahan struktur tiga dimensi enzim sehingga aktivitas enzim mengalami penurunan yang drastis.

Pengaruh penambahan ion Ca^{2+} terhadap kinerja kompleks enzim amilase

Gambar 5 dan Gambar 6 menunjukkan bahwa penambahan ion Ca^{2+} dapat meningkatkan aktivitas enzim. Aktivitas maksimum α -amilase dan glukoamilase diperoleh saat penambahan ion Ca^{2+} 75 ppm. Penambahan ion kalsium pada titik optimum ini dapat meningkatkan stabilitas enzim terhadap perubahan temperatur dan pH.

Gambar 5. Pengaruh penambahan Ca^{2+} terhadap aktivitas enzim α -amilase

Stabilitas dan aktivitas enzim α -amilase diketahui dipengaruhi oleh kofaktor ion kalsium (Moo-Young, 1985). Penambahan ion Ca^{2+} diatas 75 m/L dapat mengakibatkan penurunan aktivitas enzim yang cukup drastis.

Gambar 6. Pengaruh penambahan ion Ca^{2+} terhadap aktivitas enzim glukoamilase

Secara molekuler, penyebab peristiwa ini masih belum diketahui secara pasti. Namun demikian, kejadian tersebut diduga disebabkan oleh konsentrasi ion Ca^{2+} yang terlalu tinggi mendorong ion-ion Ca^{2+} untuk berinteraksi dengan enzim di luar sisi aktifnya yaitu bagian apoenzim, sehingga dapat terjadi presipitasi enzim (Leveque dkk., 2000). Perolehan (konversi) glukosa selama 10 menit proses hidrolisis pada temperatur, pH, dan penambahan ion Ca^{2+} ini mencapai 11-24%.

Verifikasi kondisi optimum kinerja kompleks enzim amilase

Analisis aktivitas enzim diverifikasi (dianalisis ulang) pada kondisi optimum kinerja enzim α -amilase dan glukoamilase. Verifikasi aktivitas enzim ditinjau dari glukosa sebagai produk akhir yang dihasilkan dengan metode Somogyi-Nelson. Kondisi optimum yang diperoleh adalah; temperatur 60 °C, pH 4,5, dan penambahan Ca^{2+} 75 ppm. Hasil analisis ulang sebanyak enam kali ditampilkan pada Gambar 7.

Gambar 7. Verifikasi kinerja kompleks enzim amilase pada kondisi optimum

Rata-rata unit aktivitas enzim dan perolehan glukosa pada kondisi optimum dengan volume kerja 2 mL dan substrat pati 1% adalah 2,08 unit satuan aktivitas enzim glukoamilase dan 20,08%. Dengan menggunakan toleransi (*error*) 10% terhadap nilai unit aktivitas yang didapatkan terlihat ada satu tempuhan analisis yang hasilnya berada di luar rentang toleransi 10%. Selisih hasil tempuhan ketiga mencapai 11,17%. Mengingat bahwa analisis aktivitas enzim merupakan analisis berorde mikron maka data tempuhan ketiga masih dapat ditolelir dan hasil analisis dapat dikatakan stabil dan benar (*valid*).

Pengaruh konsentrasi substrat dan persen volume enzim terhadap kinerja enzim amilase

Persentase pati yang terkonversi menunjukkan efisiensi reaksi. Pada jumlah enzim yang sama, kenaikan konsentrasi substrat menyebabkan penurunan persen konversi karena jumlah enzim tidak cukup untuk mengkonversi pati. Pada konsentrasi yang rendah, efisiensi konversi pati sangat tinggi. Namun demikian, perlu diingat bahwa efisiensi yang tinggi pada konsentrasi substrat

yang rendah hanya mengkonversi pati dalam jumlah yang kecil. Sebaliknya, pada konsentrasi pati yang tinggi, meski efisiensi konversinya rendah, jumlah pati yang terkonversinya bisa saja lebih banyak.

Gambar 8. Pengaruh konsentrasi pati pada konversi pati

Banyaknya pati yang terkonversi menunjukkan produktivitas reaksi. Gambar 8 menunjukkan banyaknya pati yang terkonversi mengalami kenaikan seiring dengan kenaikan konsentrasi pati. Kenaikan ini disebabkan oleh kemungkinan kontak antara pati dengan enzim yang makin besar seiring dengan kenaikan konsentrasi pati. Setelah melalui titik optimum, jumlah pati yang terkonversi menurun kembali karena mulai dari konsentrasi substrat tersebut reaksi enzimatik mengalami inhibisi (Shuler dan Kargi, 2002). Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi pati optimum adalah 5%.

Gambar 9 memperlihatkan kecenderungan konversi pati yang meningkat seiring dengan peningkatan persen volume enzim. Bentuk grafik yang landai menunjukkan bahwa peningkatan yang terjadi sangat kecil. Kenaikan persen konversi pati tidak sebanding dengan kenaikan persen volume enzim. Hal ini diduga disebabkan oleh daya katalitik enzim yang tinggi sehingga persen volume enzim yang kecil telah dapat mengkonversi pati dalam jumlah yang banyak.

Pada 50 %-v/v ekstrak enzim dengan konsentrasi substrat 7 %-v/v, dapat dilihat bahwa jumlah glukosa yang terbentuk mengalami penurunan. Hal ini disebabkan oleh konsentrasi dekstrin sebagai substrat bagi enzim glukoamilase optimum. Pada konsentrasi pati 5 %-v/v, yang merupakan konsentrasi optimum bagi enzim α -amilase, jumlah dekstrin yang terbentuk paling

banyak. Karena itu, pada konsentrasi pati 5 %-v/v, diduga jumlah dekstrin yang ada menyebabkan terjadinya inhibisi substrat pada enzim glukoamilase sehingga pembentukan glukosa terhambat. Pada konsentrasi pati 7 %-v/v, pembentukan dekstrin menurun akibat adanya inhibisi pati pada α -amilase sehingga jumlah dekstrin yang terbentuk menurun dan menghasilkan konsentrasi optimum bagi enzim glukoamilase sehingga jumlah glukosa yang dihasilkan maksimum.

Gambar 9. Pengaruh banyaknya enzim pada konversi pati

Kenaikan persen volume ekstrak enzim dapat mengakibatkan kenaikan jumlah glukosa yang terkonversi. Kenaikan ini disebabkan oleh adanya kemungkinan kontak antara pati dengan enzim yang semakin besar seiring dengan kenaikan konsentrasi pati. Kenyataan ini sesuai dengan ketentuan umum yang menyatakan bahwa peningkatan kecepatan suatu reaksi enzimatis sebanding dengan peningkatan konsentrasi enzim yang mengkatalisis reaksi tersebut (Sukandar, 2002).

4. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian yang telah dilakukan adalah : Pertama, proses hidrolisis pati menjadi glukosa oleh ekstrak enzim amilase dari *Aspergillus niger* ITB CC L74 berlangsung optimum pada temperatur 60 °C, pH 4,5, dan penambahan ion kalsium (Ca^{2+}) 75 ppm. Kedua, Peningkatan konsentrasi pati dapat meningkatkan jumlah pati yang terkonversi sampai konsentrasi pati mencapai konsentrasi optimum yaitu 5%. Ketiga, peningkatan persen volume enzim, walau tidak signifikan, dapat meningkatkan jumlah glukosa yang terbentuk. Keempat, perolehan glukosa maksimum dihasilkan oleh reaksi hidrolisis

pada temperatur 60 °C, pH 4,5, penambahan ion kalsium (Ca^{2+}) 75 ppm, konsentrasi pati 5%, dan persen volume enzim 50%.

Daftar Pustaka

Bailey, J. E.; Ollis, D.F., *Biochemical Engineering Fundamental*, 2nd Ed. McGraw-Hill Book Co., New York, 1986.

Balat, M.; Balat, H.; Oz, C., *Progress in bioethanol processing*, Progress in Energy and Combustion Science, 2008, Vol. 34(5), 551-573.

Caballero, B.; Trugo, L.; Finglas, P.M., *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*, Vol. 4, 2nd Ed., Academic Press, Inc., London, 2003.

Chinoy, J.J.; Edwards, F.W.; Nanji H.R., *A new iodine method for the determination of starch*, Analyst, 1934, Vol 59, 673-680.

Kunamneni, A.; Permaul, K; Singh, S., *Amylase production in solid state fermentation by the thermophilic fungus Thermomyces lanuginosus*, Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005, Vol. 100(2), 168-171.

Leveque, E.; Janecek, S.; Haye, B.; Belarbi, A., *Thermophilic archaeal amylolytic enzymes*, Enzyme and Microbial Technology, 2000, Vol. 26(1), 3-14.

Moo-Young, M., *The Practice of Biotechnology: Specialty Products and Service Activities*, in *Comprehensive Biotechnology*, 1st Ed., Vol. 4, Pergamon Press Ltd., Great Britain, 1985, 330-336.

Myers, A.M.; Morell, M.K.; James, M.G.; Ball, S.G., *Recent progress towards understanding biosynthesis of the amylopectin crystal*, Plant Physiology, 2000, Vol. 122(4), 989-997.

Nelson, N., *A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose*, Journal of Biological Chemistry, 1944, Vol. 153, 375-380.

Omemu, A.M.; Akpan, I.; Bankole, M.O.; Teniola, O.D., *Hydrolysis of raw tuber starches by amylase of aspergillus niger am07 isolated from the soil*, African Journal of Biotechnology, 2005, Vol. 4(1), 19-25.

Pandey, A.; Nigam, P.; Soccol, C.R.; Soccol, V.T.; Singh, D.; Mohan, R., *Advances in microbial amylases*, Biotechnology and Applied Biochemistry, 2000, Vol. 31(2), 135-152.

Shuler, M.L.; Kargi, F., *Bioprocess Engineering*, 2nd Ed., Prentice Hall International, New Jersey, 2002, 60–78.

Sivaramakrishnan, S.; Gangadaran, D.; Nampoothiri, K.M.; Soccol, C.R.; Pandey, A., *α -Amylase from microbial sources – An overview on recent developments*, Food Technology and Biotechnology, 2006, Vol. 44 (2), 173–184.

Sukandar, U., *Proses Metabolisme*, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung, 2002, 77–108.

Van der Maarel, M.J.E.C.; van der Veen, B.; Uitdehaag, J.C.M.; Leemhuis, H.; Dijkhuizen, L., *Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family*, Journal of Biotechnology, 2002, Vol. 94(2), 137-155.