

## **Production of Complex Amylase Enzymes From *Aspergillus Awamori* KT-11. Its Application To Hydrolyze Cassava and Taro Starch**

**Ruth Melliawati dan Nuryati**

Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Jln. Raya Bogor KM 46. Cibinong 16911  
ruthmell2000@yahoo.com

**Abstract.** Indonesia as an agricultural country rich in various types of plants including tubers. The purpose of this study was to produce and apply complex amylase enzymes from *Aspergillus awamori* KT-11 in hydrolyzing cassava and taro starch to liquid sugar. The production of complex amylase enzymes is carried out in a liquid and solid medium. The hydrolysis of starch into sugar is carried out with several enzyme concentrations (2-10%) and starch concentrations (5-25%) at room temperature (30°C) and 60°C for 3 hours, 24 hours - 72 hours. TLC tests were carried out on sugar from hydrolysis of cassava starch and taro flour to determine the type of sugar formed. As a result, the highest enzyme activity was obtained in the solid medium formation (242.83 Units/ml). The best condition for hydrolyzing starch is 15% starch concentration, 10% enzyme concentration at 60°C for 72 hours. The results of hydrolysis sugar were 9.52 mg / ml (taro) and 9.37 mg/ml (cassava) respectively, with an incubation time of 72 hours. The TLC analysis showed that sugar R<sub>f</sub> from cassava was detected as lactose and R<sub>f</sub> from Talas flour as maltose.

**Keywords:** *Aspergillus awamori* KT-11, complex amylase enzyme, sugar, TLC



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2017 by author.

### **1. PENDAHULUAN**

Indonesia dikenal sebagai negara pertanian yang kaya dengan berbagai jenis tanaman, sayuran, buah buahan maupun umbia umbian. Umbi umbian seperti ubikayu, talas, ubi jalar, kentang, suweg, kimpul, kentang hitam dsb merupakan bahan baku yang mengandung karbohidrat. Ubikayu, talas, ubi jalar, kentang, sudah diolah dan dikemas menjadi makanan yang lebih mempunyai nilai tambah. Kandungan pati/karbohidrat dari umbi umbian tersebut mempunyai kadar yang berbeda beda. Ubikayu dan talas masing masing mengandung pati sebanyak 80% (El-Sharkawy 2012) dan talas antara 70-80% (Kaushal *et al.* 2015). Umbi talas merupakan bahan pangan yang mempunyai nilai gizi yang cukup baik selain ubikayu. Selain komposisi makronutrien dan mikronutrien juga talas mempunyai nilai lebih, karena ukuran granulanya cukup kecil (1-4µm) dan dapat mengatasi masalah pencernaan (Nurbaya dan Estiati, 2013). Patinya mengandung amilosa cukup banyak antara 20-25%. Umbi talas dapat digunakan diet individu yang memiliki alergi terhadap gluten, karena talas bebas dari gluten (Annisa, 2014) Kandungan pati atau karbohidrat yang tinggi dari kedua umbi tersebut

mempunyai potensi untuk dikembangkan dalam mewujudkan ketahanan pangan nasional. Pati dikelompokkan menjadi 2 jenis yaitu amilosa dan amilopektin. Amilosa merupakan polimer rantai lurus yang terdiri dari ribuan glukosa dengan ikatan  $\alpha$ -1,4 glukosida. Sementara amilopektin mengandung percabangan rantai akibat adanya ikatan  $\alpha$ -1,6 glukosida di beberapa bagiannya (Nangin dan Aji, 2015). Amilopektin tidak larut dalam air (Chafid dan Galuh, 2010). Amilosa memberikan sifat keras sedang amilopektin bersifat lengket, amilosa memberi warna ungu pekat sedang amilopektin tidak bereaksi (Devita, 2013). Secara umum, rasa manis dari umbi-umbian ini diperoleh melalui proses penguraian karbohidrat (pati) oleh enzim amilase menjadi gula. Gula yang dihasilkan dari proses penguraian tersebut adalah glukosa, maltosa, maltotriosa, fruktosa, dan berbagai jenis  $\alpha$ -limit dektrin yaitu oligosakarida yang terdiri dari 4 atau lebih residu gula yang semuanya mengandung ikatan  $\alpha$ -1,6. (Winarno, 1986). Jenis gula inilah yang membuat rasa manis dari tiap jenis umbi. Rasa manis pada umbi ini berhubungan dengan jumlah gula yang ada, terutama gula pereduksinya seperti glukosa dan fruktosa (Alkayyis & Susanti 2016).

Beberapa penelitian tentang gula cair dari umbi umbian telah dilakukan, diantaranya pembuatan gula cair dari singkong (Permatasari, dan Yulistiani, 2015., Sutamihardja dkk., 2015), dari tepung ubi ungu (Robi'a & Sutrisno, 2015), ubijalar (*Ipomeae batatas L*) Cilembu (Mahmudatuss'adah, 2014), gula cair kimpul (Rejeki dkk., 2017), produksi gula cair pati ubi talas (Putra dkk., 2015), ketetika kimia glukosa dari pati umbi talas (Wahidah, 2017). Penelitian tersebut dilakukan untuk mendapatkan informasi dan solusi dalam menanggulangi kebutuhan pangan nasional.

Gula merupakan salah satu kebutuhan masyarakat Indonesia yang cukup tinggi, baik untuk konsumsi, bahan tambahan untuk mengolah makanan/minuman maupun untuk keperluan industri. Di samping gula pasir, gula cair juga mulai banyak digunakan oleh industri makanan dan minuman, karena memiliki beberapa kelebihan antara lain tidak mengkristal, lebih mudah diproses karena lebih mudah larut, dan lebih praktis. Permintaan pasar yang tinggi membuat angka impor gula cair semakin tinggi, menurut Prasetyo (2017) pada tahun 2015 produksi gula cair sebanyak 2,9 juta ton sedangkan permintaan gula cair di pasar sebesar 5,9 juta ton, oleh karena itu dibutuhkan impor gula sebesar 3 juta ton. Mengingat bahan baku yaitu pati/karbohidrat banyak terdapat di alam Indonesia, maka Indonesia dimungkinkan mampu memenuhi kebutuhan gula cair tersebut tanpa harus impor. Namun kenyataannya sampai saat ini masih impor karena jumlah kebutuhan gula, lebih besar dari pada hasil produksi dalam negeri.

Ada dua cara untuk menghidrolisis pati menjadi gula yaitu dengan cara kimiawi dan enzimatik. Metode enzimatik lebih dipilih, karena produk yang dihasilkan lebih baik juga lebih aman untuk dikonsumsi dibandingkan hidrolisis asam (Melliawati *et al.* 2006). Hidrolisis secara enzimatik terjadi dalam 2 tahapan, yaitu likuifikasi dan sakarifikasi (Risnoyatiningsih, 2011). Menurut Machovic & Janecek, (2007), kedua proses ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, pH, suhu, waktu proses dan adanya senyawa-senyawa penghambat. Secara umum, proses hidrolisis pati dengan menggunakan enzim amilase, akan menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik saja, sedangkan ikatan  $\alpha$ -1,6 glikosidiknya tidak bisa dihidrolisis, sehingga masih menghasilkan produk berupa dektrin. Untuk melanjutkan proses sakarifikasi diperlukan enzim amiloglukosidase. Penggunaan enzim ini, maka ikatan  $\alpha$ ,

1,6 glikosidik akan terhidrolisis sehingga produk dekstrin yang dihasilkan pada tahap pertama akan terkonversi menjadi glukosa.

Enzim amilase dapat diperoleh dari mikroorganisme, hewan dan tanaman. Enzim dari mikroorganisme lebih banyak dipilih karena mudah diperoleh/diperbanyak dari pada dari tanaman. *Aspergillus awamori* KT-11 merupakan salah satu koleksi kapang Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, yang potensial menghasilkan amilase ( $\alpha$ -glukosidase,  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase) (Anindyawati *et al.* 1998). Penelitian telah banyak dilakukan dengan menggunakan *Aspergillus awamori* KT-11, selain untuk produksi enzim (Melliawati *et al.* 1995a;1995b,1995c, 2013; Prayitno dkk, 1995), juga untuk produksi asam suksinat, asam sitrat (unpublish). Oleh karena itu maka dalam penelitian ini dicoba mengaplikasikan enzim amilase kompleks dari *Aspergillus awamori* KT-11 untuk menghidrolisis pati ubikayu dan talas menjadi gula cair.

## 2. BAHAN DAN METODA PENELITIAN

Mikroorganisme. Dalam penelitian ini, mikroorganisme yang digunakan adalah *Aspergillus awamori* KT-11, yang merupakan koleksi kapang Pusat Penelitian Bioteknologi – LIPI. Kapang ini potensial untuk menghasilkan enzim amylase. Kapang *A. awamori* KT-11 ditumbuhkan pada media PDA dan inkubasi selama 5 hari pada suhu ruang. Suspensi kapang disiapkan dengan cara ,5 ml aquadest steril dituangkan ke dalam tabung reaksi yang berisi kapang, kemudian dilarutkan dengan menggunakan jarum ose.

Media. Media untuk fermentasi digunakan 2 macam media yaitu media cair dan padat. Komposisi media cair : 4% pati singkong, 0,24% Urea, 0,0036%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,08% TSP. (Melliawati *et al.* 1995). Komposisi media padat : 100 gram Wheat brand, 1% D-glucose, 0,24% Urea, 0,0036%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,08% TSP (diaduk rata). Media tersebut disterilisasi pada 121° C selama 15 menit. Kemudian didinginkan. Bahan yang digunakan untuk produkksi gula cair adalah pati singkong (menti 1) dan tepung talas.

Fermentasi. Pembuatan enzim dilakukan dengan menginokulasikan suspensi *Asp. Awamori* KT-11 sebanyak 4% ke dalam media cair kemudian diinkubasi pada shaker incubator ,suhu ruang selama 5 hari. Sementara itu untuk media padat (wheat brand) , kultur *Asp. Awamori* KT-11 sebanyak 5% , kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari.

Ekstraksi enzim. Ekstraksi enzim dilakukan pada ke dua medium dengan cara : Pada medium cair, dilakukan penyaringan crude enzyme lebih dulu menggunakan kertas saring kemudian dilanjutkan sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit. Crude enzim dipisahkan dari biomasa. Sedang pada medium padat tambahkan aquades steril sebanyak 800 ml kemudian simpan pada suhu dingin selama 2 jam, disaring dan disentrifugasi 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan

Fermentasi pati menjadi gula. Pati ditimbang sebanyak (5%, 10% , 15 % , 20% dan 25%) masukkan ke dalam tabung besar ( 0,75 gram dalam 5 ml aquadaest /buffer sitrat phosphate pH 4,8) selanjutnya pati dilarutkan dengan cara dipanaskan pada hot plate suhu 60° C sampai pati larut homogen. Larutan dibiarkan dingin setelah itu inokulasi dengan enzim ( beberapa konsentrasi enzim antara 2% -10%), kemudian tabung yang berisi pati dan enzim diinkubasi dalam incubator shaker pada suhu 30°C dan 60°C. Proses hidrolisis dilakukan selama 3 jam dan 24 - 72 jam. Pemanenan gula cair dengan cara disentrifugasi pada 3500 rpm (2 kali) selama 20 menit.

Analisis. Pengukuran kadar gula menggunakan metoda Somogi Nelson (1941), untuk mengetahui jenis gula yang terbentuk menggunakan TLC. Kadar protein menggunakan Hanson & Phillip (1981).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

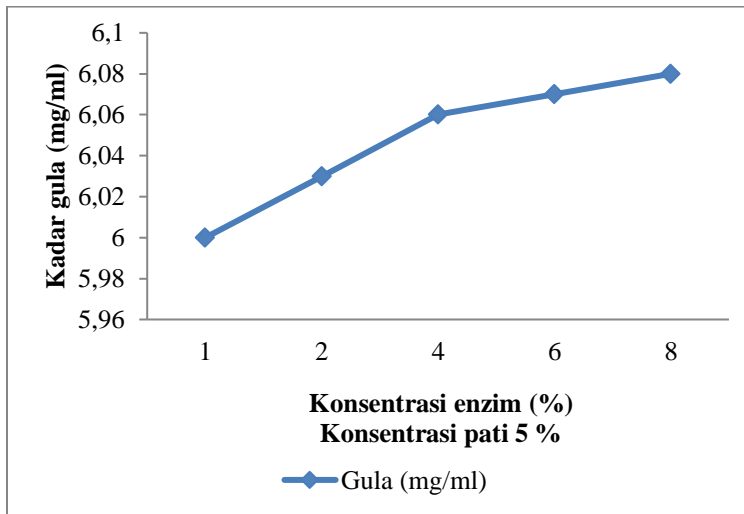
Hasil produksi enzim oleh kapang *A. awamori* KT-11 pada media cair dan media padat, dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil uji pada medium cair diperoleh aktivitas enzim, gula pereduksi dan kadar protein masing masing sebesar 16.568 Unit, 13.225 mg/ml dan 2.79 mg, sementara pada medium padat masing masing diperoleh 220.97 Unit, 2.175 mg/ml dan 28.33 mg. Terlihat bahwa aktivitas enzim yang diperoleh dari medium cair lebih kecil dari pada medium padat. Hal ini kemungkinan karena dalam medium cair, pati ubikayu yang digunakan adalah 4%, sementara dalam medium padat, medium yang digunakan adalah wheat bran (tidak ditambahkan pati) karena menurut Palmarola-Adrados *et al.*, (2005) bahwa wheat bran merupakan limbah kulit gandum yang masih mengandung pati sebesar 34%.

Tabel 1. Aktivitas enzim, gula pereduksi dan protein pada 2 macam medium fermentasi oleh *Aspergillus awamori* KT-11

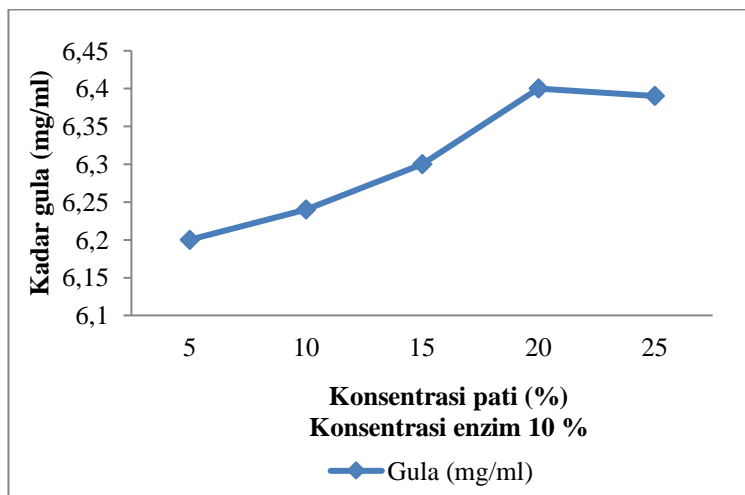
Medium	Gula pereduksi (mg/ml)	Aktivitas enzim (Unit/ml)	Kadar Protein (mg)
Cair	13,225	16,568	2,79
Padat	2,175	220,74	28,33

Kandungan pati yang berbeda menyebabkan aktivitas enzim berbeda. Selain itu, dalam medium padat, miselium/hipa kapang *A. awamori* KT-11 dapat berkembang dengan cepat masuk kedalam wheat bran secara bebas, serta kelembaban pada medium padat, cocok untuk pertumbuhan kapang, sehingga kemungkinan kapang dapat mengeluarkan enzim lebih optimal dari pada dalam medium cair. Untuk membuktikan kestabilan aktivitas enzim yang diperoleh pada medium padat, maka produksi enzim pada medium padat dilakukan ulang dengan perlakuan yang sama. Hasil pengulangan tidak berbeda nyata hanya sedikit lebih tinggi, yaitu diperoleh aktivitas enzim sebesar 242,83 Unit/ml, gula pereduksi sebesar 0,013 mg/ml dan protein 30,363 mg. Hasil tersebut, bila dibandingkan dengan aktivitas enzim yang dibuat dari media kulit singkong (Urip *et al.* (2017), hasil aktivitas enzimnya masih lebih kecil (karena aktivitas enzim dari kulit ubikayu dicapaisekitar 400 Unit/ml). Selanjutnya untuk mengaplikasikan kemampuan enzim dalam menghidrolisis pati, maka enzim ini digunakan untuk menghidrolisis pati ubikayu dan talas. Enzim yang digunakan adalah berupa ekstrak enzim dari medium padat (242,83 unit/ml). Penelitian awal dilakukan terhadap 5 % pati (ubikayu Menti) dengan perlakuan beberapa konsentrasi enzim (2-8 %) selama 3 jam dalam shaker incubator (30° C). Hasilnya menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim yang diberikan, maka semakin tinggi pula gula yang dihasilkan (Gambar 1), Hal ini karena semakin banyak enzim dalam suatu media tertentu maka semakin banyak pati yang dihidrolisis oleh enzim tersebut, sehingga jumlah gula yang terhidrolisis semakin banyak. Penelitian selanjutnya dicoba konsentrasi enzim 10 % dengan perbedaan konsentrasi pati yaitu antara 5-25%. Penelitian ini dilakukan dengan kondisi yang sama yaitu dalam shaker incubator (30°C) selama 3 jam. Hasilnya diperlihatkan pada Gambar 2.

Hasilnya, semakin tinggi konsentrasi pati diperoleh gula yang semakin tinggi kecuali pada konsentrasi pati 25 % hasilnya sedikit menurun tetapi tidak berbeda nyata. Hal ini kemungkinan pada konsentrasi pati 25 % proses gelatinisasi agak sulit karena semakin kental, sehingga kemungkinan enzim sulit untuk dapat mendegradasi pati yang kental walaupun menggunakan shaker incubator, sehingga gula dihasilkan sedikit menurun.



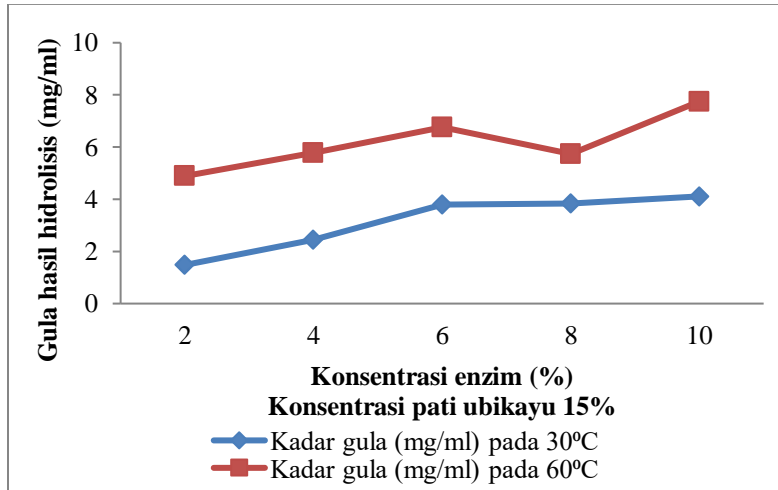
Gambar 1. Hasil hidrolisis pati ubikayu (menti 1 sebanyak 5 %) selama 3 jam oleh enzim dari *A. awamori* KT-11 (1 - 8 %).



Gambar 2. Hasil hidrolisis pati ubikayu menti 1(5 - 25%) selama 3 jam oleh enzim dari *A. awamori* KT-11.

Penelitian selanjutnya dicoba perbedaan 2 temperatur yaitu pada suhu ruang 30° C dan suhu 60° C dan diinkubasi selama 24 jam. Konsentrasi pati ubikayu menggunakan 15% karena hasil gula menggunakan pati 15 % dan 20% tidak berbeda nyata. Enzim yang digunakan antara 2-10 % Hasilnya diperlihatkan pada Gambar 3. Proses hidrolisis pati menjadi gula yang berlangsung pada suhu 30°C dengan pelarut aguadest dihasilkan gula lebih kecil dari pada

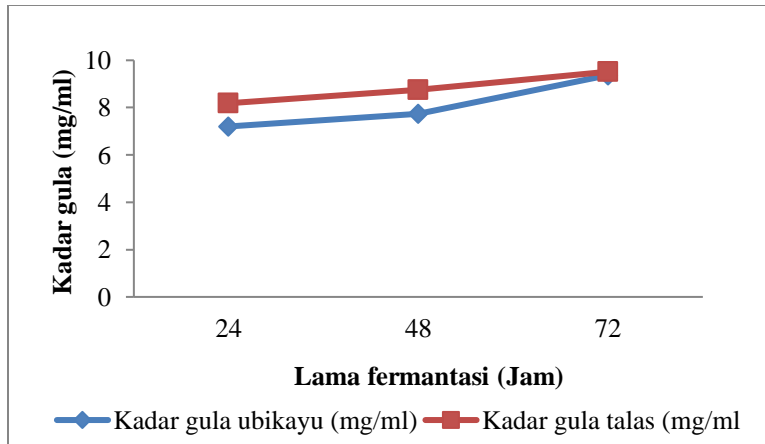
proses hidrolisis yang berlangsung pada suhu 60° C dengan pelarut buffer sitrat fosfat pH 4,8 (Gambar 3). Hal ini kemungkinan selain kondisi suhu, juga bahan pelarut yang digunakan dalam proses gelatinisasi. Buffer menjaga kestabilan enzim dan kondisi suhu juga berpengaruh terhadap kerja enzim. Beberapa penelitian tentang enzim dari *A. awamori* KT-11 (Melliawati dkk. 1993) melaporkan bahwa untuk mengukur aktivitas enzim dilakukan pada suhu 60°C. Jadi kemungkinan, kerja enzim kurang optimal bila berlangsung pada suhu ruang. Oleh karena itu gula yang dihasilkan melalui proses hidrolisis pada suhu 60°C memberikan hasil gula cair lebih tinggi (7,75 mg/) dari pada suhu ruang (4,11 mg).



Gambar 3. Kadar gula hasil hidrolisis pati ubikayu pada suhu 30°C dan 60°C selama 24 jam.

El-Sharkawy (2012) melaporkan bahwa ubikayu mengandung pati sebanyak 80% dan talas antara 70-80% (Kaushal *et al.* 2015). Mengingat kandungan karbohidratnya cukup tinggi dan bahan baku cukup banyak, maka kedua umbi ini mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku untuk membuat gula cair. Aplikasi enzim selanjutnya menggunakan pati ubikayu dan tepung talas pada suhu 60°C, dengan konsentrasi pati/tepung 15 %, konsentrasi enzim 10 % selama 24- 72 jam. Hasil hidrolisis dari tepung talas dan pati ubikayu diperoleh gula masing masing sebesar 9,52 mg/ml dan 9,37 mg/ml (dengan waktu hidrolisis 72 jam). Sementara penelitian Wahidah (2017), hasil hidrolisis terhadap umbi talas diperoleh kadar gula tertinggi 6,21 % ( dengan waktu hidrolisis 120 jam).

Pada penelitian ini gula yang dihasilkan oleh kedua umbi, tidak jauh berbeda pada masa inkubasi 72 jam dan kemungkinan masih akan meningkat, bila masa inkubasi diperpanjang.



Gambar 4. Kadar gula hasil hidrolisis ubikayu dan talas pada suhu 60°C selama 24-72 jam

Untuk mengetahui jenis gula yang dihasilkan oleh kedua umbi, maka dilakukan analisis menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Hasil KLT diperlihatkan pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Hasil KLT Gula ubikayu

No.	Keterangan	Nilai Rf dari Gulastandar dan gula pati ubikayu
1	Manosa	-
2	Arabinosa	0,625
3	Galaktosa	0,6125
4	Laktosa	0,4625
S	Sampel gula ubi kayu	0,4625
5	Maltosa	0,5167
6	Sukrosa	0,5812
7	Glukosa	0,6687
8	Fruktosa	0,6625

Tabel 3. Hasil KLT gula talas

No.	Keterangan	Nilai Rf dari Gula standar dan gula pati talas
1	Manosa	-
2	Arabinosa	0,5875
3	Galaktosa	0,6
4	Laktosa	0,475
S	Sampel gula Talas	0,5125
5	Maltosa	0,5125
6	Sukrosa	0,5812
7	Glukosa	0,675
8	Fruktosa	0,6625

Pada Tabel 2. diperlihatkan nilai Rf dari gula standard dan gula ubikayu. Nilai Rf gula ubikayu diperoleh 0,4625 yang nilai Rf nya sama dengan gula standar laktosa. Laktosa merupakan gula disaccharida yang dapat dipecah lebih sederhana menjadi glukosa dan galaktosa. Laktosa dimanfaatkan untuk pemanis buatan dalam makanan dan minuman. Sementara itu nilai Rf gula talas diperoleh 0,5125 yang nilai Rf nya sama dengan maltose (Tabel 3).. Maltosa juga merupakan disaccharida yang dapat terurai menjadi 2 molekul glukosa. Maltosa merupakan hasil hidrolisis amilosa dari pati. Maltosa diperlukan oleh pengusaha makanan dan minuman sebagai pemanis buatan untuk ditambahkan ke dalam es krim, roti, cokelat, selai, permen dan permen karet.

Hasil analisis KLT terdeteksi bahwa gula dari talas adalah maltosa dan dari ubikayu adalah laktosa (disakarida). Hal ini kemungkinan hidrolisis belum sempurna karena belum terurai menjadi gula monosakarida (glukosa). Kemungkinan penambahan waktu hidrolisis, akan menyempurnakan proses hidrolisis dan sekaligus meningkatkan kadar gula. Penelitian ini masih perlu dilanjutkan untuk mengetahui hasil yang optimal, dengan memperpanjang waktu hidrolisis dan perlu dilakukan pengujian menggunakan HPLC untuk mengetahui secara kuantitatif.

#### **4. KESIMPULAN**

Amilase kompleks tertinggi diproduksi pada medium padat wheat bran dengan aktivitas enzim sebesar 242,83 Unit/ml. Kondisi optimal untuk menghidrolisis pati, dengan konsentrasi pati 15% , enzim 10%, dan suhu 60° C selama masa inkubasi 72 jam. Gula pereduksi tepung talas dan pati ubikayu diperoleh masing masing sebesar 9,52 mg/ml dan 9,37 mg/ml. Analisis KLT menunjukkan gula ubikayu terdeteksi sebagai laktosa dan gula tepung talas sebagai maltose.

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terima kasih disampaikan kepada kepala laboratorium biokatalis dan fermentasi yang telah memberi kesempatan dalam melakukan penelitian ini. Ucapan Terima kasih juga disampaikan kepada Dr. N. Sri Hartati M.Si. yang telah memberikan sampel pati ubikayu sebagai bahan penelitian, sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Al-Kayyis H, Susanti H. 2016. Perbandingan Metode Somogyi-Nelson dan Anthrone-Sulfat pada Penetapan Kadar Gula Pereduksi dalam Umbi Cilembu (*Ipomea Batatas L.*). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 13(2):81-89.
- Anindyawati, T., R. Melliawati, K. Ito, M. Iizuka and N. Minamiura, 1998. Three Different Type of amylases from *Aspergillus awamori* KT-11. Their purifications, Properties and Specificities. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62(7), 1351-1357 (1998).
- Annisa, Zhafirah. 2014. "Ebook Umbi Talas". [www.Academiedu.com](http://www.Academiedu.com)
- Chafid, A., dan Galuh, K. 2010. Modifikasi tepung sagu menjadi maltodekstrin menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase. *Skripsi Teknik*.



- Devita Christianti. 2013. Perbandingan metode hidrolisis menggunakan enzim amylase dan asam dalam pembuatan syrip glukosa dari pati ubijalar ungu. (*Ipomea batatas* L) *Skripsi Sainskimia*.
- El-Sharkawy M. 2012. Stress-tolerant cassava: The role of integrative ecophysiology-breeding research in crop improvement. *Journal of Soil Science*. 2: 162-186.
- Hanson, R.S., and J.A.Philips.1981. Manual of methods for general bacteriology. American Society for Microbiol. Washington DC. p.359-360.
- Kaushal, P., Kumar V., Sharma H. 2015. Utilization of taro (*Colocasia esculenta*): a review. *Journal of Food Science and Technology*.
- Machovic, M., & Janecek, S. 2007. Amylolytic enzyme : Types, structures, and specificities. Dalam Polaina, J dan MacCabe, A.P. *Industrial Enzyme*. Springer: Netherlands
- Mahmudatussa'adah, A. 2014. Chemical composition of Cilembu sweet potato (*Ipomoea batatas* L) at various storage time as raw material of liquid sugar. *Pangan*, 23(1), 53-64.
- Melliawati, R. 2013. Pengaruh lama fermentasi tepung tape dari ubikayu Adira I terhadap produksi enzim amilase oleh *Aspergillus awamori* KT-11. *Prosiding Seminar Nasional Ke 50. Seminar Nasional XXI. Kimia Dalam Industri dan Lingkungan. Perkembangan Mutakhir dalam Teori, Instrumentasi dan Penerapan*. Yogyakarta 6 Desember 2012. Hal. 61-66
- Melliawati, R., A.M. Fuad., Y. Rachmat dan N.R. Prayitno. 1995c. Optimasi dan penggandaan skala produksi enzim amiloglukosidase oleh *Aspergillus* sp. KT-11 pada media ubikayu parut segar. *Prosiding pameran ilmiah*. FMIPA. UNPAK. Bogor, 5-6 Desember. hal. 155-160.
- Melliawati, R., N. Rosalinda dan E. Sukara. 1993. Pengaruh magnesium sulfat dan kalium dihidrogen fosfat terhadap produksi enzim amiloglukosidase dari pati singkong oleh *Aspergillus* sp. KT-11. Kongres Nasional VI Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Surabaya, 2-4 Desember 1993.
- Melliawati, R., N.R. Prayitno dan E. Sukara. 1995a. Optimasi media untuk produksi enzim amiloglukosidase oleh kapang *Aspergillus* sp. KT-11 pada singkong parut segar. *Prosiding Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II*. Puslitbang Bioteknologi LIPI, Cibinong, Bogor, 6-7 September. hal.333-339.
- Melliawati, R., Nita Rosalinda dan Endang Sukara.1995b. Pengaruh penambahan magnesium sulfat dan kalium dihidrogen fosfat terhadap produksi enzim amiloglukosidase dari *Aspergillus* sp. KT-11 pada media pati singkong. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 3(1):20-26.
- Melliawati, R., R.S. Suherman dan B. Subardjo. 2006. Pengkajian kapang endofit dari Taman Nasional Gunung Halimun sebagai penghasil glukamilase. *Berkala Penelitian Hayati (Journal of Biological Researches)* 12(1) : 19-25.
- Nangin Debora, Aji Sutrisno. 2015. Enzim amilase pemecah pati mentah: Kajian pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3(3) : 1032-1039.
- Nelson, N. 1941. A Photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 153: 375-380.
- Nurbaya, S.R., T. Estiasih. 2013. Pemanfaatan talas berdaging umbi kuning (*Colocasia esculenta*(L). Schott) dalam pembuatan cookies. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 1(1) :46-55.

- Palmarola-Adrados, B., Borska, P.C., Galbe, M., & Zacch, G. 2005. Ethanol production from non-starch carbohydrates of wheat bran. *Biores. Technol.*, Vol. 96. Hal: 843–850.
- Permatasari, A.R., F. Sulistiani. 2015. Making liquid sugar from cassava starch by using enzymatic hydrolysis. *Jornal Science and Technology*, 11(2), 9-14.
- Prasetyo, B.D. 2017. Menuju Industri Gula yang Berdaya Saing. Seminar Nasional
- Prayitno, N.R., R. Melliawati, R. Wiryasmita dan E. Sukara. 1995. Peningkatan proses produksi amiloglukosidase dengan menggunakan serbuk inokulum *Aspergillus* sp. KT-11 pada medium singkong parut segar. *Prosiding Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II*, Puslitbang Bioteknologi LIPI, Cibinong, Bogor, 6-7 September.
- Putra, K. A. W., A.Hartiati., I. B. W. Gunam.2015. Effect of temperature and concentration of the enzyme amiloglukosidase on the saccharification process on the production of liquid sugar of sweet potato starch (*Colocasia esculenta*). *Journal of Agro-Industry Engineering and Management*, 3(2), 130-139.
- Rejeki, F.S., D.Puspitasari, dan E. R. Wedowati. 2017. The competitive advantage of kimpul liquid sugar. *Journal of Research and Technology*, 3(1), 46-53.
- Risnoyatningsih, Sri. 2011. Hidrolisis Pati Ubi Jalar Kuning Menjadi Glukosa Secara Enzimatis. UPN Veteran Jawa Timur: *Jurnal Teknik Kimia*. Vol.5(2).
- Robi'a ., A. Sutrisno. 2015. Characteristics of glucose syrup from purple sweet potato flour (Study of liquidation temperature and  $\alpha$ -amylase concentration) literature review. *Journal of Food and Agro-Industry*, 3(4), 1531-1537.
- Sutamihardja, RTM., Srikandi., D. P. Herdiani. 2015. Hydrolysis of chloride acid starch from cassava starch (*Manihot esculenta* Crantz) in making liquid sugar. *Journal of Natural Sciences*, 5(1), 83-91
- Urip, P., Nuryati, R.Melliawati and Yopi. 2017.Packaging evaluation related to the survival of the *Acetobacter* sp.. RMG-2 and bioselulosa products in inokulum paste. *Proceedings The 6 th International Symposium for Sustainable Humanosphere*. p.182-188.
- Wahidah, N. 2017. Kinetika kimia glukosa dari pati umbi talas (*Colocasia esculenta* L. Schoott) dengan katalisator enzim  $\alpha$ - amylase dan glukamilase. Skripsi. 81 halaman.
- Winarno, F.G. 1986.Enzim pangan. Buku cetakan kedua. Penerbit PT. Gramedia.