

# ISOLASI BAKTERI DAN JAMUR PENGHASIL ENZIM GLUKOAMILASE PADA TANAH LIMBAH PENGGILINGAN PADI DI TANGERANG

Febri Hidayat\*, Ekadipta, Adinda Riskia Indriani Putri

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Institut Sains dan Teknologi Al-Kamal

\*email: [hidayat2368@gmail.com](mailto:hidayat2368@gmail.com)

## ABSTRAK

Dalam industri glucoamilase dipakai pada proses produksi sirup glukosa dan sirup fruktosa dari kimpul. Dengan demikian, pengolahan hasil alam Indonesia yang mengandung amilum atau pati misalnya beras, singkong, dll dapat dilakukan secara optimal. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan mikroba potensial penghasil enzim glucoamilase. Enzim glucoamilase bekerja menghidrolisis amilum atau pati menjadi glukosa. Adapun cara penapisan mikroba, dilakukan dengan cara membiakan mikroba yang terdapat pada tanah tumpukan limbah pada media Nutrien Agar (NA)-Pati dan Potato Dextrose Agar (PDA)-Pati. Pada meda yang ditumbuhi koloni diberi larutan lugol. Adanya daerah bening disekitar koloni menandakan bahwa koloni mikroba tersebut menghasilkan enzim amilase. Koloni kemudian diisolasi dan dimurnikan dengan cara goresan. Adanya glukosa pada media menandakan bahwa mikroba menghasilkan enzim glucoamilase. Identifikasi glukosa pada media dilakukan dengan uji fehling dan metode Kromatografi lapis tipis. Hasil menunjukkan bahwa Pada tanah limbah penggilingan padi didaerah Jati Mauk Tangerang dengan menggunakan metode ini tidak ditemukan bakteri yang positif dapat menjadi mikroba penghasil enzim glucoamilase. Namun ditemukan dua jenis jamur yang potensial penghasil enzim glucoamilase.

**Kata kunci:** Mikroba, Enzim, Glucoamilase, Pati, Amilum.

## ABSTRACT

Industrial glucoamylase used in the production process of glucose syrup and fructose syrup. Thus, the processing of natural products containing starch such as rice, cassava, etc can be done optimally. This Research to find potential microbe glucoamylase-producing enzyme. Enzymes work glucoamylase hydrolyze starch into glucose. The method is the microbial screening, done by culturing the microbial contained in the waste pile soil on media Nutrient Agar (NA)-Starch and Potato Dextrose Agar (PDA)-Starch. In the overgrown colony media given Lugol solution. The existence of a clear area around the colony indicates that microbial colonies are producing the enzyme amylase. The colony is then isolated and purified by scratches. The Presence of glucose in the culture media indicates that the microbes produce enzymes glucoamylase. Identification of glucose in the media made by the Fehling test and thin layer chromatography method. The results showed that there was rice paddy soil in the Jati Mauk area of Tangerang by using this method, it was found that no positive bacteria could be the microbial producing enzyme of glucoamylase. But found two types of fungi that have the potential to inhibit the enzyme glucoamylase.

**Keywords:** Microbes, Enzymes, Glucoamylase, Starch, Amylumstarch.

## 1. PENDAHULUAN

Tanah limbah penggilingan padi mengandung komponen-komponen organik dan anorganik yang merupakan

substrat atau medium yang baik bagi kehidupan mikroorganisme. Mikroorganisme-mikroorganisme penghuni tanah merupakan campuran

populasi dari protozoa, bakteri, alga, dan jamur. Zat karbon merupakan elemen penting dalam kehidupan makhluk. Karbohidrat (gula, tepung), protein, lemak, vitamin-vitamin, semuanya mengandung zat karbon. Elemen ini diudara berupa suatu senyawa CO<sub>2</sub>, dan gas ini merupakan hanya kurang lebih 0.03% dari udara (J. Pelczar, 2009).

Padi (*Oryzae Sativa*) mengandung amilum yang cukup tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai bahan dasar dalam pembuatan glukosa melalui proses hidrolisa pati. Hidrolisa pati merupakan proses pemecahan molekul amilum menjadi bagian-bagian penyusunnya yang lebih sederhana, seperti glukosa. Hidrolisa pati dapat dilakukan dengan cara Hidrolisa Asam dan Hidrolisa Enzim (Risnoyatiningih, 2011).

Hidrolisa enzim dilakukan menggunakan bantuan enzim  $\alpha$ -amilase dan enzim glukoamilase (amiloglukosidase) (Azwar & Risti, 2010). Enzim  $\alpha$ -amilase digunakan pada proses likuifikasi, sedangkan glukoamilase digunakan pada proses sakarifikasi. Hidrolisa enzim lebih banyak memberikan keuntungan dibandingkan dengan hidrolisa asam. Hidrolisa enzim menghasilkan konversi yang lebih besar jika dibandingkan dengan hidrolisa asam (Eni, Sari, & Moeksin, 2015). Hidrolisa enzim juga dapat mencegah adanya reaksi efek

samping karena sifat katalis enzim sangat spesifik, sehingga dapat mempertahankan flavor dan aroma bahan dasar (Risnoyatiningih, 2011).

Proses hidrolisis pati menjadi sirup glukosa dapat menggunakan katalis enzim, asam atau gabungan keduanya. Hidrolisis secara enzimatik memiliki perbedaan mendasar dengan hidrolisis secara asam. Hidrolisis secara asam memutus rantai pati secara acak, sedangkan hidrolisis secara enzimatik memutus rantai pati secara spesifik pada percabangan tertentu (Permanasari & Yulistiani, 2017). Hidrolisis secara enzimatik lebih menguntungkan dibandingkan hidrolisis asam, karena prosesnya lebih spesifik, kondisi prosesnya dapat dikontrol, biaya pemurnian lebih murah, dan kerusakan warna dapat diminimalkan. (Susanti, 2004).

Dewasa ini, pada umumnya pabrik dekstrosa banyak yang menggunakan enzim glukoamilase dibandingkan menggunakan asam secara klasik dalam proses konversi pengolahan produk (Permanasari & Yulistiani, 2017). Dengan katalisator asam pada temperatur yang cukup tinggi akan menghasilkan produk yang mudah berubah kembali dan mudah terdekomposisi. Sejak enzim hidrolisis telah dikarakteristik spesifitasnya, diketahui bahwa amilase fungi dapat menghidrolisis substrat hingga diperoleh sediaan yang mempunyai flavor dan tingkat

kemanisan yang tinggi (Muchtadi, Palupi, 1992). Oleh karena itu, dalam industri glukamilase sering dipakai pada proses produksi sirup glukosa dan sirup fruktosa dari kimpul (Azwar & Risti, 2010).

Enzim glukamilase yang digunakan secara luas dewasa ini untuk memproduksi dekstrosa kristal dari substrat pati. Glukamilase dapat mengkonversi pati menjadi dekstrosa dengan baik pada konsentrasi pati rendah, apabila konsentrasinya dinaikkan, konversinya kurang berlangsung secara progresif (Permanasari & Yulistiani, 2017). Hal ini menyebabkan terjadinya “back polimerization” yang dikatalisis oleh glukamilase membentuk gula reversi, terutama isomaltosa (Naiola, 2006).

Mengingat bahwa mikroba penghasil enzim glukamilase sangat penting dalam bidang industri pangan terutama pada industri dekstrosa di Indonesia, dan mikroba penghasil enzim glukamilase ini dapat mengurangi penggunaan asam pada industri dekstrosa di Indonesia (Eni et al., 2015). Maka penelitian ini perlu dilakukan, untuk itu pada penelitian ini dilakukan penapisan bakteri dan jamur penghasil enzim glukamilase dari tanah limbah penggilingan padi di daerah Jati Mauk Tangerang-Banten.

Tujuan penelitian ini antara lain adalah mencari mikroba potensial

menghasilkan enzim glukamilase pada tanah limbah penggilingan padi.

## **2. METODE PENELITIAN**

### **2.1 Alat**

Inkubator, Neraca (alat timbangan), Autoclave, Penangas air, Lemari aseptis, Bak kromatografi, Kertas duplikator, Colony counter, Penyemprot noda, Pipet kapiler, Alat pengering, Lampu Spiritus, Transfer Pipet, Pin Pipet, mikroskop, Hot Plate, pH Meter, Plat KLT Tipe Silica gel F254.

### **2.2 Bahan**

Tanah tumpukan limbah padat (Sekam Padi) pada penggilingan padi dari daerah Sepatan-Jati Mauk Tangerang. Media Differensial :

- a. Media Nutrien Agar ( NA ) + pati singkong 1%
- b. Media Potato Dextrosa Agar ( PDA ) + pati singkong 1%

### **2.3 Prosedur**

#### **2.3.1 Pengenceran**

Pengenceran dilakukan dengan cara sebagai berikut (Watson, 2015):

- a. Timbang sebanyak 1 g sampel dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan larutan NaCl fisiologis hingga volume 10 ml (Pengenceran konsentrasi  $10^{-1}$ )
- b. Pipet 1 ml dari pengenceran konsentrasi  $10^{-1}$ , Kocok hingga homogen selama  $\pm$  1 menit dan masukkan 1 ml kedalam tabung reaksi

lain yang berisi 9 ml larutan NaCl fisiologis, kocok hingga homogen (Pengenceran konsentrasi  $10^{-2}$ ).

- c. Pengenceran dilakukan dengan larutan NaCl fisiologis mulai konsentrasi  $10^{-1}$  hingga  $10^{-7}$ .
- d. Sebanyak 0.5 ml tiap tiap pengenceran ditanam pada media NA-Pati dan 0.5 ml pada PDA-Pati, kemudian diinkubasi.
- e. Sampel dalam media NA-Pati diinkubasi selama 1-2 hari pada suhu 30 – 35°C.
- f. Sampel dalam media PDA-Pati diinkubasi selama 3-5 Hari pada suhu 20 - 25 °C.

### 2.3.2 Seleksi koloni penghidrolisa pati

Larutan lugol diteteskan merata pada permukaan media yang ditumbuhi koloni dan biarkan selama 5 menit. Amati perubahan terjadi. Terjadinya hidrolisa pati ditandai dengan adanya daerah bening disekitar koloni (Dali, S, Arfah, R, Karim, A & AR, 2013).

### 2.3.3 Isolasi dan pemurnian

Koloni yang memberikan daerah bening pada pengujian dengan larutan lugol disolasi dan dimurnikan beberapa kali dengan cara goresan. Tiap satu jenis koloni murni dibiakkan dalam satu media agar miring yang sesuai (Sutrisno, 2017).

### 2.3.4 Uji kualitatif enzim hidrolisat (glukosa) enzim

Tiap-tiap biakan murni dibiakkan pada media NA dan PDA, mikroba yang

tumbuh dikerik dan dibuang. Media yang ditumbuhi kemudian diencerkan dengan sedikit aquadest.

Kemudian media yang telah ditambahkan 10 ml purified water tersebut, diidentifikasi dengan larutan fehling dan dengan metode kromatografi lapis tipis dengan cara:

#### a. Larutan Fehling

Sebanyak 5 tetes campuran reagen fehling A dan fehling B sama banyak di tambah pada 5 tetes media yang telah diencerkan (larutan A) dan di panaskan diatas bunsen selama 5 menit, dan diamati terjadinya endapan  $\text{Cu}_2\text{O}$  yang berwarna merah (Watson, 2015).

#### b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Adanya glukosa pada media yang memberikan endapan merah dengan uji fehling selanjutnya diidentifikasi/konfirmasi dengan metode KLT. Tiap-tiap enceran media ditotolkan dengan bantuan mikropipet pada garis awal plat kromatografi dengan jarak 1,5 cm, begitu pula larutan pembanding (larutan glukosa). Kromatografi selanjutnya dilakukan dengan cara menaik didalam bak berisi larutan pengembang n-Butanol-Asam asetat-Air (BAA) atau n-Butanol-Etanol-Air (BEA). Setelah mencapai jarak pengembangan 10 cm, segera di angkat dan di keringkan pada suhu kamar kemudian di semprot dengan larutan penampak noda ( $\text{KMnO}_4$ ) dan diberi udara panas dengan

hair dryer sampai bercak terlihat jelas. Adanya glukosa dalam sampel dikonfirmasi dengan cara membandingkan tinggi noda pembanding dengan tinggi setiap noda pada kromatogram (sampel) (Wardani, 2011).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Hasil perhitungan koloni bakteri

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa jumlah koloni bakteri pada pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  adalah terlalu banyak sehingga sulit dihitung. Pada

pengenceran  $10^{-4}$  diketahui terdapat koloni bakteri dengan warna putih sebanyak 1 koloni dan warna kuning sebanyak 28 koloni. Pada pengenceran  $10^{-5}$  terdapat koloni bakteri berwarna putih sebanyak 39 koloni dan warna kuning 91. Pada pengenceran  $10^{-6}$  terdapat koloni yang berwarna putih sebanyak 38 koloni dan yang berwarna kuning sebanyak 87 koloni. Pada pengenceran  $10^{-7}$  terdapat koloni yang berwarna putih sebanyak 24 koloni dan yang berwarna kuning sebanyak 42 koloni.

**Tabel 1.** Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri

| Pengenceran | Total Bakteri Secara Makroskopis |                     |                        |
|-------------|----------------------------------|---------------------|------------------------|
|             | Kuning (Kol/ml)                  | Putih (Kol/ml)      | Total Bakteri (Kol/ml) |
| $10^{-1}$   | Tidak bisa dihitung              | Tidak bisa dihitung | Tidak bisa dihitung    |
| $10^{-2}$   | Tidak bisa dihitung              | Tidak bisa dihitung | Tidak bisa dihitung    |
| $10^{-3}$   | Tidak bisa dihitung              | Tidak bisa dihitung | Tidak bisa dihitung    |
| $10^{-4}$   | 28                               | 1 *                 | 29                     |
| $10^{-5}$   | 91                               | 39                  | 130                    |
| $10^{-6}$   | 87                               | 38                  | 125                    |
| $10^{-7}$   | 42                               | 24                  | 66                     |

Keterangan: \* : Koloni besar dan menutupi permukaan cawan petri.

Berdasarkan data pada tabel 1 diatas, maka dipilih pengenceran  $10^{-5}$  untuk digunakan pada penelitian selanjutnya karena dianggap dapat mewakili seluruh koloni

bakteri yang diperoleh dari setiap pengenceran dengan total bakteri tertinggi sebesar 130 Kol/ml (Ekamaida, 2017).

**Tabel 2.** Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Jamur

| Pengenceran | Total Jamur Secara Makroskopis |                     |                      |
|-------------|--------------------------------|---------------------|----------------------|
|             | Kuning (Kol/ml)                | Putih (Kol/ml)      | Total Jamur (Kol/ml) |
| $10^{-1}$   | Tidak bisa dihitung            | Tidak bisa dihitung | Tidak bisa dihitung  |
| $10^{-2}$   | Tidak bisa dihitung            | 35                  | 35                   |
| $10^{-3}$   | Tidak bisa dihitung            | 28                  | 28                   |
| $10^{-4}$   | 52                             | 26                  | 78                   |
| $10^{-5}$   | 31                             | 3                   | 34                   |
| $10^{-6}$   | 30                             | -                   | 30                   |
| $10^{-7}$   | 6                              | -                   | 6                    |

Keterangan: - : Tidak ada pertumbuhan jamur.

Berdasarkan data pada tabel 2 diketahui bahwa jumlah koloni jamur pada pengenceran  $10^{-1}$  adalah terlalu banyak sehingga sulit dihitung. Pada pengenceran  $10^{-2}$  diketahui terdapat koloni jamur dengan warna putih yang terlalu banyak sehingga sulit dihitung dan warna hitam kehijauan sebanyak 35 koloni. Pada pengenceran  $10^{-3}$  terdapat koloni bakteri berwarna putih yang tidak dapat dihitung dan warna hitam kehijauan sebanyak 28 koloni. Pada pengenceran  $10^{-4}$  terdapat koloni yang berwarna putih sebanyak 52 koloni dan yang berwarna hitam kehijauan sebanyak 26 koloni. Pada pengenceran  $10^{-5}$  terdapat koloni yang berwarna putih sebanyak 31 koloni dan yang berwarna hitam kehijauan sebanyak 3 koloni. Pada pengenceran  $10^{-6}$  dan  $10^{-7}$  berturut-turut diperoleh koloni jamur berwarna putih sebanyak 30 koloni dan 6 koloni.

Berdasarkan data pada tabel 2 diatas, maka dipilih pengenceran  $10^{-4}$  untuk digunakan pada penelitian selanjutnya karena dianggap dapat mewakili seluruh koloni jamur yang diperoleh dari setiap pengenceran dengan total jamur tertinggi sebesar 78 Kol/ml. Hal ini sesuai dengan hasil yang didapatkan oleh Arantika dimana terdapa koloni jamur sebanyak 71 Kol/ml (Arantika, Umboh, & Pelealu, 2019).

### 3.2 Media yang mengandung enzim amilase

Mikroorganisme adalah sumber enzim yang paling banyak digunakan dibandingkan dengan tanaman dan hewan. Sebagai sumber enzim, mikroorganisme lebih menguntungkan karena pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengeturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetic, serta mampu

menghasilkan enzim yang ekstrim (Akhdiya, 2003).

Media yang ditumbuhi bakteri selanjutnya diberi larutan lugol yang mengandung  $I_2$  (Iodium) dan tampak bakteri berwarna kuning dan bakteri berwarna putih memberikan daerah bening disekitar koloni bakteri. Bakteri berwarna kuning dan Bakteri berwarna putih tersebut dimurnikan dengan cara goresan dan di uji kembali apakah memberikan daerah bening di sekitar koloni. Hasil uji terhadap biakan murni bakteri adalah sebagaimana yang terlihat pada gambar 1 dan 2.



**Gambar 1.** Bakteri berwarna kuning penghasil enzim amylase



**Gambar 2.** Bakteri berwarna putih penghasil enzim amylase

Begitu pula pada Media yang ditumbuhi jamur selanjutnya diberi larutan lugol yang mengandung  $I_2$  (Iodium) dan tampak jamur berwarna putih dan jamur

berwarna hitam kehijauan memberikan daerah bening disekitar koloni jamur. Jamur berwarna putih dan jamur yang berwarna hitam kehijauan tersebut dimurnikan dengan cara goresan dan di uji kembali apakah memberikan daerah bening di sekitar koloni. Hasil uji terhadap biakan murni bakteri adalah sebagaimana yang terlihat pada gambar 3.



**Gambar 3.** Jamur berwarna putih penghasil enzim amylase

Dilihat dari hasil pengamatan pada media pembedahan NA + Pati (Gambar 1 dan 2) dan pada media pembedahan PDA + Pati (Gambar 3), Suatu medium yang telah ditanami sampel dan tetesi larutan Lugol (Iodine,  $I_2$ ) terlihat secara kasat mata pati yang berikatan dengan Iodine menghasilkan warna biru dan berdaerah bening disekitar koloni.

Pati yang berikatan dengan iodine ( $I_2$ ) akan menghasilkan warna biru. Sifat ini dapat digunakan untuk menganalisis adanya pati (Dinata, 2011). Menurut Bahl 2010, Reaksi pati dengan iodine menimbulkan warna biru. Iodine biasanya digunakan

untuk menganalisis adanya pati ataupun sebaliknya. Reaksi warna biru menandakan bentuk kompleks iodine yang terselubung dalam fraksi amilose pada pati (Bahl, 2010).

Sehingga berdasarkan teori dan hasil yang pada penelitian ini. Koloni diduga medium yang ditumbuhi oleh bakteri dan jamur positif menghidrolisis enzim amilase.

### 3.3 Hasil pengujian enzim hidrolisat (glukosa) enzim

Dari hari pengujian enzim hidrolisat (glukosa) menggunakan larutan fehling. Terjadi endapan merah pada sampel yang serupa dengan standar, sehingga diduga positif mengandung glukosa. Oleh karena itu uji identifikasi glukosa dilanjutkan dengan metode KLT.



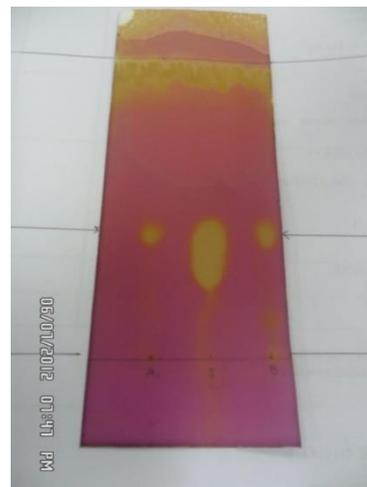
Keterangan:

- A<sub>1</sub> : Jamur 1 (Media Pembenuhan PDA + Pati)
- A<sub>2</sub> : Jamur 2 (Media Pembenuhan PDA + Pati)
- B : Bakteri
- S : Standard (Glukosa)

#### Gambar 4. Uji Kualitatif hidrolisat enzim glukoamilase terhadap medium NA-Pati.

Berdasarkan teori dan harga  $R_f$  diatas dapat diduga bahwa medium yang ditumbuhi jamur terdapat glukosa. Adapun perbedaan harga  $R_f$  antara standar (glukosa) dengan harga  $R_f$  pada medium yang diuji

lebih disebabkan karena bercak standar (glukosa) lebih besar karena konsentrasi penotolan yang lebih tinggi sehingga mempengaruhi titik pengukuran bercak (Watson, 2015).



Keterangan:

- A<sub>1</sub> : Jamur 1 (Media Pembenuhan PDA + Pati)
- A<sub>2</sub> : Jamur 2 (Media Pembenuhan PDA + Pati)
- S : Standard (Glukosa)

#### Gambar 5. Kromatogram, identifikasi glukosa pada medium yang ditumbuhi mikroba dengan eluen BEA

Menurut (Gandjar, G. Dan Rohman, 2007), Pemisahan kromatografi lapis tipis ini pada umumnya dihentikan sebelum semua fase gerak melewati seluruh permukaan fase diam.

Nilai  $R_f$  dihitung menggunakan perbandingan sebagaimana dalam persamaan:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Nilai maksimum  $R_f$  adalah 1 dan Nilai minimum  $R_f$  adalah 0.

Diketahui:

Jarak yang ditempuh jamur ( $A_1$ ) : 3.3

Jarak yang ditempuh Jamur ( $A_2$ ) : 3.2

Jarak yang ditempuh Standard (glukosa) : 2.7

Maka nilai  $R_f$  yang didapat:

1.  $R_{f A_1} = 0.33$

2.  $R_{f A_2} = 0.32$

3.  $R_{f standar} = 0.27$

Berdasarkan teori dan hasil yang didapat pada penelitian ini secara Kualitatif dan dengan metode kromatografi lapis tipis. Koloni diduga medium yang ditumbuhi jamur mengandung glukosa. Berdasarkan hasil perhitungan, diketahui bahwa Harga  $R_f$  standard (Glukosa) yaitu  $R_f = 0.27$ , harga  $R_f$  jamur 1 (Media pembenihan PDA + Pati) yaitu  $R_f = 0.27$ , dan harga  $R_f$  jamur 2 (Media pembenihan PDA + Pati) yaitu  $R_f = 0.27$ . Kesesuaian nilai  $R_f$  glukosa dengan bercak pada  $A_1$  dan  $A_2$  menandakan media tersebut positif glukosa artinya media mengandung enzim glukamilase (Muhdiyah, 2015).

#### 4. KESIMPULAN

Pada tanah limbah penggilingan padi didaerah Jati Mauk Tangerang dengan menggunakan metode ini ditemukan jenis bakteri dan jamur yang potensial menghasilkan enzim glukamilase.

#### DAFTAR PUSTAKA

Akhdiya, A. (2003). Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil. *Buletin Plasma Nutfah*, **9**(2), 38–44.  
Arantika, W., Umboh, S. D., & Pelealu, J. J. (2019). Analisis Tingkat Populasi Jamur Tanah Di Lahan Pertanian

Kentang (*Solanum Tuberosum L.*) Berdasarkan Metode Total Plate Count (Tpc). *Jurnal Ilmiah Sains*, **19**(2), 105.  
Azwar, D., & Risti, L. C. (2010). *Pembuatan sirup glukosa dari kimpul*.  
Bahl, A. (2010). *Advance Organic Chemistry*. Chandigarh: S Chand & Company Limited.  
Dali, S, Arfah, R, Karim, A, & P., & AR. (2013). *Eksplorasi enzim amilase dari mikroba yang diisolasi dari sumber air panas di Sulawesi Selatan dan aplikasinya dalam produksi maltodekstrin*. Makasar.  
Dinata, A. (2011). Pemanfaatan Enzim Mikrobial. In *Inside* (10th ed., pp. 50–51). Jakarta: Litbang Depkes.  
Ekamaida. (2017). Menghitung Total Bakteri Pada Tanah Organik Limbah Rumah Tangga Dan Tanah AnOrganik Dengan Metoda Total Plate Count (TPC). *Agrisamudra*, **4**(2), 87–91.  
Eni, R., Sari, W., & Moeksin, R. (2015). Pembuatan Bioetanol Dari Air Limbah Cucian Beras Menggunakan Enzimatik dan Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*, **21**(1), 14–21.  
Gandjar, G. Dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: pustaka Pelajar.  
J. Pelczar, M. C. E. C. . (2009). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia.  
Muchtadi, Palupi, A. (1992). *Enzim dalam Industri Pangan*. Bogor: Depdikbud.  
Muhdiyah, D. (2015). Isolasi Bakteri dari Tanah Gambut Penghasil Enzim Protease. *Pharmascience*, **2**(2), 71–79.  
Naiola, E. (2006). Karakterisasi Enzim Kasar Glukoamilase Dari *Saccharomycopsis sp* . [Characterization of Crude Glucoamylase from *Saccharomycopsis sp* .]. *Berita Biologi*, **8**(3), 187–192.  
Permanasari, A. R., & Yulistiani, F. (2017). Pembuatan gula Cair dari Pati Singkong dengan menggunakan Hidrolisis Enzimatis. *Fluida*, **11**(2), 9–14.  
Risnoyatiningih, S. (2011). Hidrolisis Pati

- Ubi Jalar Kuning Menjadi Glukosa Secara Enzimatis. *Jurnal Teknik Kimia*, 5(2), 417–424.
- Susanti, H. (2004). Penapisan Bakteri dan Jamur Penghasil Enzim Glukoamilase Dari Tanah Tumpukan Limbah Padat di Sekitar Lokasi Penggilingan Gaplek di Desa Giripurwo Kecamatan Purwosari Kabupaten Gunung Kidul. *FMIPA UII*, 78–83.
- Sutrisno, A. (2017). *Teknologi Enzim*. Malang: UB Press.
- Wardani, S. (2011). Pengembangan Keterampilan Proses Sains Dalam Pembelajaran Kromatografi Lapis Tipis Melalui Praktikum Skala Mikro. *Jurnal Inovasi Pendidikan Kimia*, 2(2), 317–322.
- Watson, D. G. (2015). *Pharmaceutical Analysis E-Book: A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemist*. China: Elsevier Ltd.