PERPUSTAKAAN PUSAT UNIV. HASANUDDIN
Tgl. terima | 11 - 9 - 1991
Asal | Fak. pertanian
Jml. | 1 eks.
Jenis | Hadiah
No. Inventaris | 91 09 1730
No. Klas | 213/3

SELEKSI KAPANG PENGHASIL ENZIM ALFA - AMILASE YANG POTENSIAL UNTUK MEMECAH PATI

OLEH :

PALALLA PONGSAPAN

85 05 015

JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

UJUNG PANDANG

1 9 9 1

FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS HASANUDDIN

JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN

==========

SELEKSI KAPANG PENGHASIL ENZIM ALFA-AMILASE YANG POTENSIAL UNTUK MEMECAH PATI

LAPORAN PRAKTEK LAPANG

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar

SARJANA PERTANIAN

Pada Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian

UNIVERSITAS HASANUDDIN

Oleh

PALALLA PONGSAPAN

85 05 015

Disetujui :

Ujung Pandang, 1991

Ir. Maryati Bilang, DEA.
Dosen Pembimbing

Ujung Pandang, 11-9 1991

Dr. Ir. Elly Ishak, MSc.
Dosen Pembimbing

Ujung Pandang, 1991

Ir. Abubakar
Dosen Pembimbing

Ujung Pandang, 11-9-1991

Disahkan Oleh :

Dr. Ir. Elly Ishak, MSc.
Ketua panitia ujian

Seleksi aktivitas alfa-amilase di dalam berbagai proporsi media organik dilakukan untuk mengetahui pengaruh perbandingan jumlah media organik terhadap produksi enzim alfa-amilase yang maksimal. Dan diperoleh bahwa perbandingan yang optimal adalah proporsi dengan perbandingan 6 gram ampas tebu, 3 gram dedak padi, 1 gram tepung tapioka dengan aktivitas enzim sebesar 600,80 mg pati per menit per kultur kering.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis berikan kepada Bapa di Surga, karena anugerahNya penulis dapat menyelesaikan Laporan Praktek Lapang ini, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian pada Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin.

Laporan Praktek Lapang ini merupakan hasil penelitian yang dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian, pada bulan Oktober sampai dengan' bulan Februari 1991.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis ucapkan kepada :

1. Ibu Ir.Maryati Bilang, DEA, Ibu Dr. Ir. Elly Ishak, M.Sc. dan Bapak Ir. Abu Bakar selaku dosen pembimbing yang telah memberi bimbingan dan mengarahkan penulis, mulai dari pembuatan usulan Praktek Lapang hingga selesainya laporan ini.
2. Seluruh Dosen dan Karyawan Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin atas bimbingan dan bantuannya selama penulis menuntut ilmu.
3. Rekan-rekan yang telah memberi bantuan dalam rangka penyusunan Laporan Praktek Lapang ini.
4. Ayah, Ibu, Adik tercinta, serta seluruh keluarga yang senantiasa berdoa dengan penuh kesabaran dan selalu memberi dorongan dan perhatian sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan di Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa Laporan Praktek Lapang ini masih belum sempurna, untuk itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan.

Semoga Laporan Praktek Lapang ini dapat bermanfaat bagi pihak yang membutuhkannya.

Ujung Pandang, Juli 1991



Penulis

DAFTAR TABEL

Halaman

1. Sifat-sifat enzim alfa-amilase dari beberapa sumber mikroba 10

2. Hasil uji aktivitas enzim alfa-amilase di cawan petri setelah 72 jam 23

3. Hasil analisa enzim alfa-amilase di dalam subtrat organik 25

4. Hasil analisa aktivitas enzim alfa-amilase di dalam berbagai proporsi media organik 26

DAFTAR GAMBAR

Halaman

1. Mekanisme pemecahan enzim amilase pada struktur pati 4

2. Proses pemecahan dan penyerapan zat makanan melalui hifa 8

3. Perkembangan diameter zone bening pada medium selama 72 jam fermentasi 19

4. Perkembangan diameter zone bening sesudah penambahan larutan lugol ke dalam medium PDA ... 20

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

1. Komposisi dedak padi yang berasal dari tiga tempat (Barru, Wajo, dan Soppeng) 31
2. Komposisi kimia dari tepung tapioka 32
3. Komposisi kimia dari bagase tebu 33
4. Perkembangan diameter koloni mikroba sebelum dan sesudah penambahan larutan lugol ke dalam medium PDA 34
5. Hasil pengamatan absorban kurva standar pada pH 5,0 dan suhu 55°C dengan selang waktu 7,5 menit. 35
6. Hasil pengamatan absorban pada uji aktivitas enzim dari Aspergillus oryzae pada pH 5,0 dan suhu 55°C. 36
7. Hasil pengamatan absorban pada uji aktivitas enzim dari Aspergillus niger pada pH 5,0 dan suhu 55°C. 37
8. Proporsi substrat organik yang digunakan sebagai media aplikasi dari hasil uji dalam media sintetik
9. Metode operasional penelitian produksi enzim alfa-amilase 38
10. Diagram alir pengujian aktivitas alfa-amilase secara semi kuantitatif 39

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1. LATAR BELAKANG	1
1.2. TUJUAN DAN KEGUNAAN	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. PATI	3
2.2. PRODUKSI ENZIM	5
2.3. FERMENTASI KERING	11
2.3. PEMILIHAN MEDIA	13
III. METODE PENELITIAN	14
3.1. WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN	14
3.2. BAHAN DAN ALAT	14
3.3. PROSEDUR KERJA	15
3.4. PENGAMATAN	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
V. KESIMPULAN DAN SARAN	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN - LAMPIRAN	30

I. PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Dewasa ini pemanfaatan enzim sebagai biokatalis dalam industri pangan dan non pangan akhir-akhir ini meningkat pesat sejalan dengan semakin berkembangnya bioteknologi. Pada seminar-seminar bioteknologi di Indonesia sering ditekankan perlunya melakukan penelitian dasar guna menunjang era bioteknologi yang disesuaikan dengan potensi yang dimiliki oleh negara kita.

Indonesia yang kaya akan sumber pati seperti : singkong, sagu, talas, biji-bijian, dan lain-lain yang dapat digunakan langsung sebagai bahan pangan juga dapat dikonversi dalam bentuk lain dengan menggunakan enzim-enzim pemecah pati sehingga menjadi produk-produk industri pangan dan non pangan seperti alkohol, sirup glukosa, sirup maltosa, sirup fruktosa, dekstrin, dan lain-lain.

Enzim merupakan produk yang mempunyai nilai ekonomis cukup tinggi, sehingga peranannya sangat dirasakan dalam menunjang berbagai proses industri. Produk enzim terutama dari golongan kapang dan bakteri semakin berkembang karena relatif mudah dan prosesnya cepat. Bagi Indonesia tidak tertutup kemungkinan untuk mengembangkan enzim, mengingat banyaknya sumber daya mikroba seperti kapang yang dapat menghasilkan enzim pemecah pati.

Berbagai penelitian dilakukan untuk memproduksi enzim pemecah pati yang berasal dari kapang atau bakteri. Di antara penelitian tersebut meliputi seleksi mikro-organisme, media pertumbuhannya, serta kondisi yang optimal (pH, temperatur) selama proses produksi.

Produksi enzim dari mikroorgamisme lebih cepat dan murah serta mudah dikendalikan dibandingkan jika di-produksi dari hewan dan tumbuham. Produksi enzim alfa-amilase dari sumber mikroorganisme dapat dilakukan kapan saja pada substrat organik yang murah seperti limbah industri hasil pertanian, baik dengan menggunakan sistim fermentasi kering (solid state fermentation) maupun dengan menggunakan sistim basah (submerged fermentation).

1.2 TUJUAN DAN KEGUNAAN

Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi kapang penghasil enzim alfa-amilase yang potensial untuk memecah pati dan mencoba mengaplikasikan hasil seleksi kapang yang mempunyai aktivitas amilase maksimum pada media limbah hasil pertanian berupa ampas tebu, dedak padi, dan tepung kanji.

Kegunaan penelitian ini adalah sebagai bahan informasi yang diharapkan dapat menunjang penelitian-penelitian selanjutnya yang dilakukan secara bertahap dan berkesinambungan dengan teknik *scale up* atau transfer data dari skala kecil ke skala industri enzim komersial.

II. TINJAUAN PUSTAKA

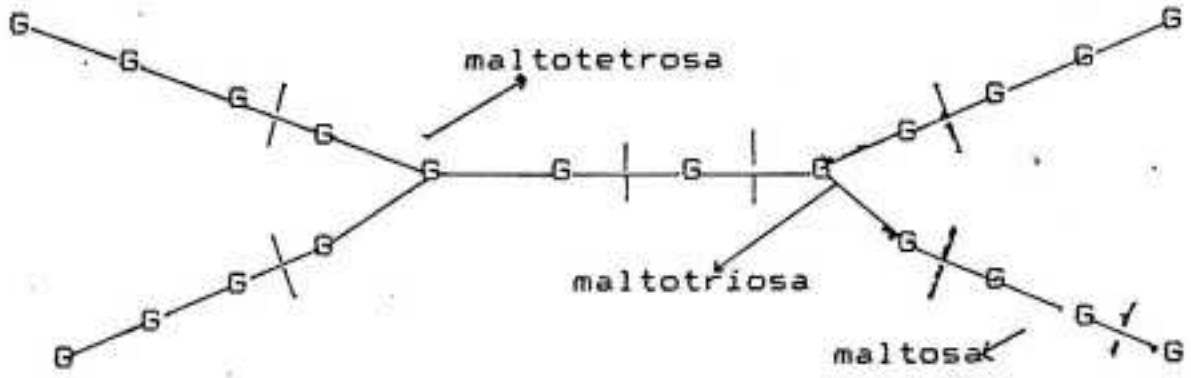
2.1 P A T I

Pati merupakan cadangan makanan yang terdapat di dalam biji-bijian atau umbi-umbian. Pati atau karbohidrat secara umum merupakan bahan organik pertama yang diproduksi dari reaksi antara karbondioksida dari udara dan air dari dalam tanah, pada suatu proses fotosintesa dengan menggunakan energi kimia pada substansi atau zat yang dapat dimakan oleh manusia (Muchtadi, 1988).

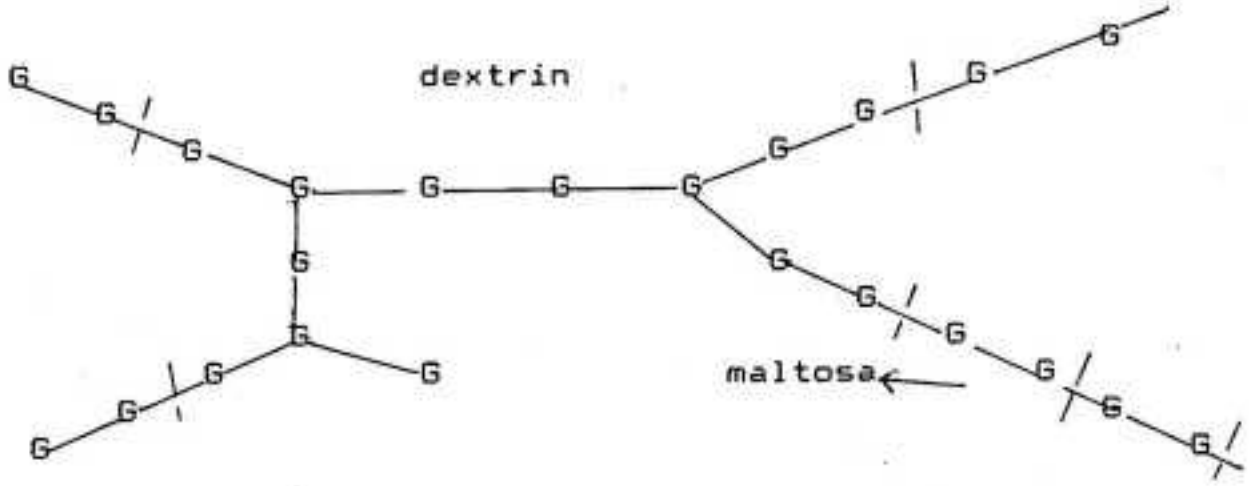
Pati terdiri dari dua polisakarida yang berbeda, yaitu amilosa dan amilopektin. Kedua polisakarida tersebut berbeda dalam struktur serta sifat-sifat fisik dan kimia seperti kelarutan dalam air, ukuran molekul, kepekaan terhadap degradasi oleh enzim. Amilosa merupakan polisakarida yang tersusun linear dan tidak bercabang, sedangkan amilopektin bercabang (Bull, 1979).

Pati tersusun paling sedikit tiga komponen utama yaitu amilosa, amilopektin, serta material antara (intermediate). Pati mengandung 15 - 30 % amilosa, 70 - 85 % amilopektin dan 5 - 10 % material antara. Struktur dan jenis material antara tiap sumber pati berbeda tergantung pada sifat-sifat botani sumber pati tersebut. Secara umum dapat dikatakan bahwa pati biji-bijian mengandung bahan yang lebih besar dibanding pati batang dan umbi-umbian (Muchtadi, 1988).

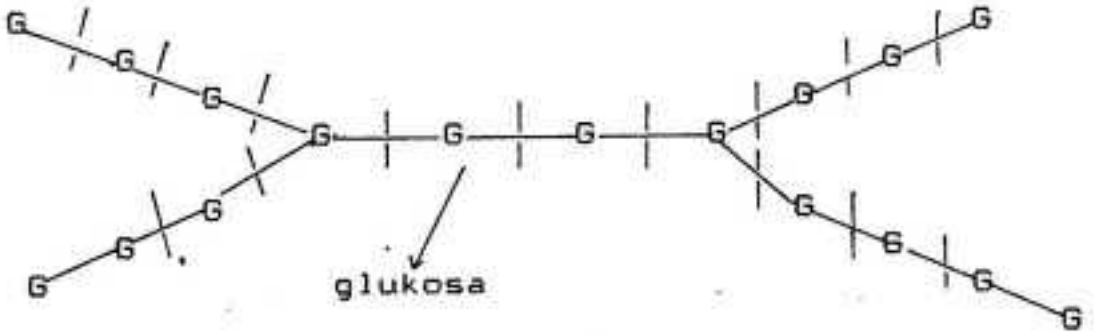
a. Alfa-amilase yang memotong rantai pati secara acak acak pada ikatan alfa-1,4



b. Beta-amilase yang memotong rantai amilosa menjadi maltosa, enzim ini tidak dapat memotong enzim amilopektin.



c. Amiloglukosidase yang memotong rantai patisecara acak menjadi molekul-molekul glukosa.



Gambar 1. Mekanisme pemecahan enzim amilase pada struktur pati (Tjokroadikoesoemo, 1989)

2.2 PRODUKSI ENZIM

2.2.1 Gambaran Umum Enzim Mikroba

Enzim adalah protein yang diproduksi oleh sel hidup dan digunakan oleh sel-sel tersebut untuk meng-katalisa reaksi-reaksi kimia yang spesifik (Boing, 1982). Berdasarkan proses pembentukannya, enzim dibagi dua jenis yaitu yang terbentuk sebagai respon terhadap senyawa tertentu dalam media (enziminducible) dan yang diproduksi mikroorganisme tanpa dipengaruhi oleh media (Casida, 1968). Selanjutnya Wolf (1949), membagi enzim ke dalam dua golongan berdasarkan lokasi kerjanya yaitu enzim eksoselluler dan endoselluler. Enzim eksoselluler adalah enzim yang dihasilkan dalam sel tetapi dikeluarkan ke media fermentasi untuk menghidrolisa dan mendegradasi senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang mudah larut dan diserap oleh mikroba. Misalnya Enzim tersebut adalah enzim alfa-amilase dan amiloglukosidase. Enzim endo- selluler dihasilkan di dalam sel yaitu pada membran sitoplasma dan berfungsi untuk melakukan aktivitas metabolisma di dalam sel.

Boing (1982), mengemukakan bahwa enzim amilolitik yang dapat menghidrolisis pati atau polisakarida, dikelompokkan menjadi dua golongan utama yaitu golongan alfa-1,4 glukanase dan alfa-1,6 glukanase. Selanjutnya Fogarty dan Kelly (1979), membagi enzim pendegradasi pati yang dapat juga menghidrolisa

glikogen dan polisakarida pada ikatan glikosidik alfa-1,4 dan alfa-1,6 menjadi empat kelompok sebagai berikut :

a. Alfa-amilase yang aktif sebagai endoamilase dengan menghidrolisa ikatan glukosidik alfa-1,4 menghasilkan maltosa dan dekstrin.
b. Beta-amilase yang menghidrolisa ikatan alfa-1,4 secara berselang dari sisi luar non pereduksi dengan menghasilkan glukosa.
c. Amiloglukosidase yang menghidrolisa ikatan glukosidik alfa-1,4 dari sisi non pereduksi dengan menghasilkan glukosa.
d. Enzim debranching menghidrolisa ikatan glukosidik alfa-1,6 pada amilopektin dan glikogen.

2.2.2 Proses Produksi Enzim dari Mikroba

Ada dua metode fermentasi yang digunakan untuk produksi enzim mikroba yaitu fermentasi terendam (submerged kultur) yang menggunakan media air dan fermentasi medium padat (Aunstrup, 1979). Selanjutnya Chalal (1985), mengatakan bahwa fermentasi medium padat adalah proses fermentasi di mana substrat tidak larut dan tidak mengandung air bebas, sedangkan fermentasi medium cair adalah proses fermentasi yang substratnya larut dan tersuspensi dalam fase cair.

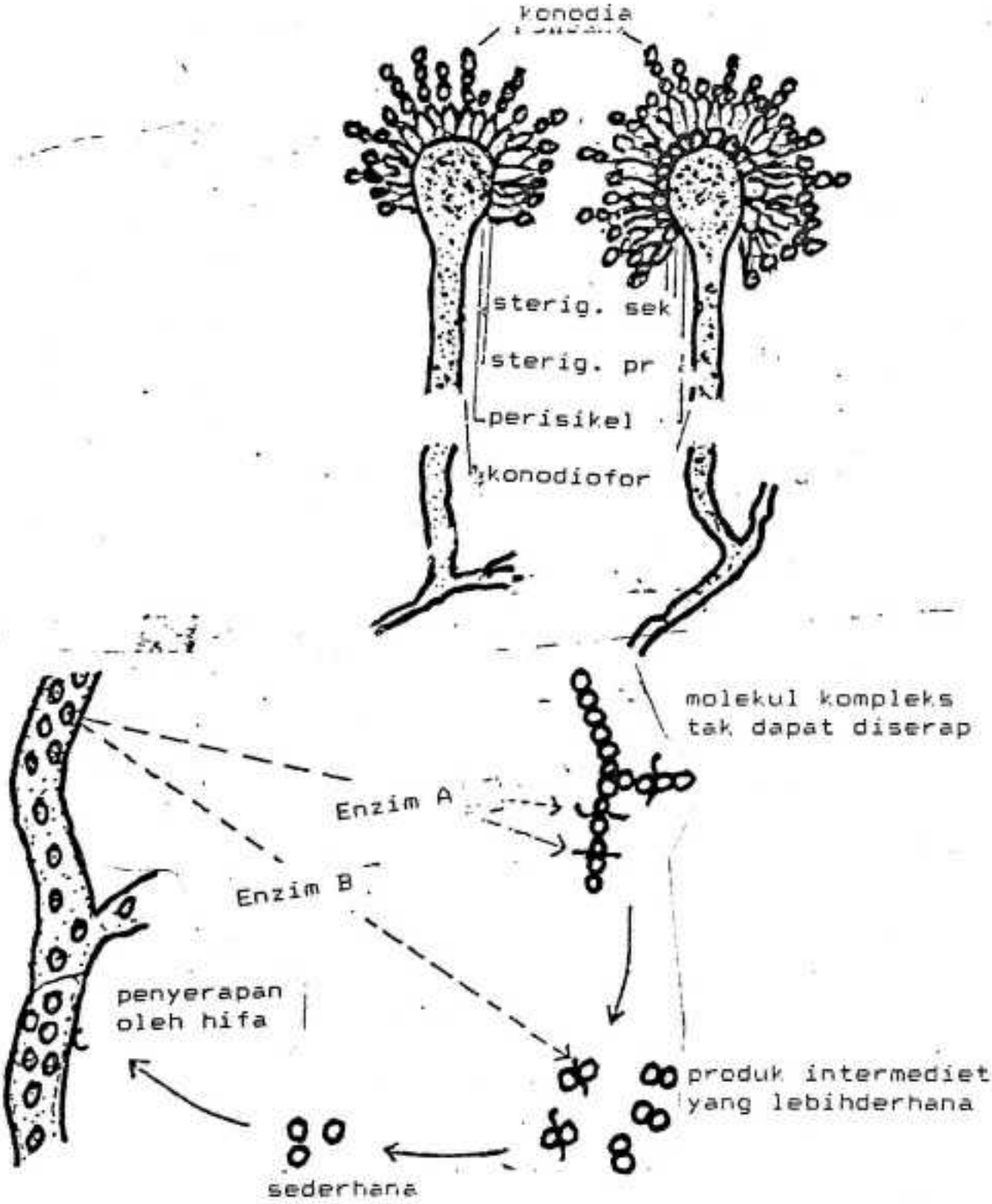
Boing (1982), mengatakan bahwa dalam memproduksi enzim organisme yang digunakan harus stabil dan dapat

tumbuh pada media yang murah dan produktivitasnya cukup tinggi. Selain itu mikroba yang digunakan tidak menghasilkan senyawa toksik atau bebas dari aktivitas antibiotika.

Laju pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh konsentrasi komponen penyusun media fermentasi, baik media alami, semi sintetik, maupun sintetik dapat mensuplai kebutuhan unsur elementer sel dari mikroba yang digunakan. Di samping, itu juga dipengaruhi oleh unsur mikro seperti : Cu^{++}, Zn^{++}, Mg^{++}, Na^{+}, K^{+}, dan lain-lain (Stanbury dan Whitaker, 1984). Selanjutnya Aunstrup (1979), mengatakan bahwa pada industri enzim biasanya digunakan kapang jenis *Aspergillus sp* dan bakteri jenis *Bacillus sp* karena kedua mikroba tersebut bersifat saprofit yang tidak berbahaya, cepat tumbuh dan menghasilkan enzim ekstraselluler yang relatif banyak. Wolf (1949), mengatakan bahwa *Aspergillus sp* mempunyai hifa yang bersepta dan dilengkapi dengan spora. Hifa yang berhubungan langsung dengan media berfungsi sebagai penyerap unsur hara dan yang menghadap ke permukaan berfungsi sebagai alat reproduksi.

Molekul-molekul sederhana seperti gula dan komponen lain yang terlarut di sekeliling hifa dapat langsung diserap, sedangkan molekul lain yang lebih kompleks seperti protein, pati, dan sellulosa harus dipecah terlebih dahulu. Untuk itu *Aspergillus sp*

menghasilkan beberapa enzim ekstraselluler seperti : amilase, sellulose, pektinase, katalase, dan lain-lain (Blain, 1975).



Gambar 2. Proses pemecahan dan penyerapan zat makanan melalui hifa (Alexolousus dan Mims, 1979).

2.2.3 Enzim Alfa-Amilase

Enzim alfa-amilase adalah endoenzim yang mampu menghidrolisa pati secara acak pada ikatan alfa-1,4 dari molekul polisakarida. Enzim ini dapat ditemui dalam sistim pencernaan hewan, dalam tumbuh-tumbuhan dan dalam mikroorganisme dengan berat molekul 50.000 (Mauranche dan Cester, 1985).

Enzim alfa-amilase yang ada saat ini diperoleh dengan derajat kemurnian tinggi dalam bentukkristal, di antaranya diperoleh adari malt, kelenjar ludah (salive), manusia, pankreas, *Aspergillus oryzae* dan *Bacillus subtilis* (Marshal, 1972). Selanjutnya Mauranche (1985), mengatakan bahwa hasil akhir hidrolisa alfa-amilase biasanya tergantung dari media dan juga bervariasi menurut asal dari enzim tersebut.

Enzim alfa-amilase yang berasal dari mikroorganisme adalah enzim ekstraselluler atau enzim yang disekresi oleh mikroorganisme ke media tempat tumbuhnya. Beberapa sifat enzim yang berasal dari berbagai mikroorganisme (Tabel 1).

Menurut Fogarty (1976), bahwa stabilitas enzim terhadap tempertur operasional dalam aplikasinya, alfa-amilase dapat dibagi dua golongan yaitu :

Tabel 1. Sifat-sifat enzim alfa-amilase dari beberapa sumber mikroba

Sumber enzim	pH optimum	pH optimum stabilitas	Suhu optimum (^{o}C)
Bacillus acidocaldarius	3,5	1,2 - 4,5	75
B. amyloliquefaciens	5,9	5,9	65
B. caldolyticus	5,4	-	70
B. coagulans	5,2	-	57
B. licheniformis	5,0 - 8,0	6,0 - 11,0	76
B. stearothermopilus	4,6 - 5.1	-	55 - 70
Bacillus sp NRRL B-3881	9,2	7,5 - 10,0	50
Thermoactinomyces vugaris	5,9 - 7,0	5,0 - 9,0	60
Bacillus subtilis	5,3 - 6,4	4,8 - 8,5	50
B. subtilis NRRL B-3411	6,0	5,5 - 9,5	50
Thermonospora curvata	5,5 - 6,0	6,0 - 8,0	65
Trichoderma viride	6,5	6,0	55
Aspergillus oryzae	5,5 - 5,9	5,5 - 8,5	40
Aspergilluss niger			
- stabil terhadap asam	4,0 - 5,0	3,5 - 6,5	50
- tak stabil terhadap asam	5,0 - 6,0	5,0 - 7,25	35

Sumber : Fogarty dan Kelly, 1979.

a. Alfa-Amilase Thermostabil

Enzim ini diproduksi oleh *Basillus amiloquefacieus*, banyak digunakan dalam industri makanan sebagai bahan pengental (thickening agent). Alfa-amilase ini mempunyai sifat yang dapat menurunkan kekentalan larutan dan mempunyai sifat gelatinisasi tinggi sehingga dapat menghindari sifat retrigradasi bahan selama pendinginan. Alfa-amilase ini berbeda dengan kebanyakan alfa-amilase yang berasal dari sumber mikroorganisme lain karena aktivitasnya tidak dipengaruhi oleh ion Ca^{++} (Tjokroadikoesoemo, 1989).

b. Alfa-Amilase Thermolabil

Enzim ini mempunyai kemampuan hidrolisa lebih tinggi dibanding alfa-amilase thermostabil. Enzim ini dapat menghasilkan sirup maltosa dalam jumlah yang relatif tinggi setiap satuan unit enzim, sehingga alfa-amilase jenis ini utamanya digunakan untuk sirup maltosa (Tjokroadikoesoemo, 1981).

2.3 FERMENTASI KERING (SOLID STATE FERMENTATION)

Fermentasi kering merupakan sistim fermentsi di mana medium fermentasi berkondisi kering, dimana media fermentasi tersebut tidak dilarutkan dalam bentuk suspensi (Raimbault, 1981).

Menurut Raimbault (1981), bahwa fermentasi kering sudah lama dipraktekkan secara komersial di negara-negara

Asia seperti Cina, Jepang, Korea, Taiwan, dan negara-negara lainnya karena mempunyai keuntungan di antaranya :

- dapat meningkatkan nilai gizi makanan misalnya dapat meningkatkan kandungan protein, vitamin dan daya cerna.
- dapat meningkatkan daya awet dan sifat organoleptik bahan pangan.
- produksitivitas relatif tinggi untukper satuan volume biokatalis.

Kondisi media yang kering dapat menguntungkan dalam operasional fermentasi karena :

- aerasi lebih mudah karena porositas media cukup baik. ini akan menghemat energi dibandingkan fermentasi basah yang membutuhkan pengadukan dan aerasi yang relatif tinggi.
- kandungan air yang rendah sangat menguntungkan dalam fermentasi skala industri karena :
  a). media kultur mikroba mempunyai volume yang relatif rendah dibanding dengan *submerged fermentation*.
  b). kandungan air yang relatif rendah akan mengurangi resiko kontaminasi bakteri.
  c). pemanenan dapat dilakukan denga mudah, utamanya karena enzim alfa-amilase yang diinginkan adalah enzim ekstraselluler yang disekresi ke dalam media..

2.4 PEMILIHAN MEDIA

Beberapa kriteria yang diperhatikan dalam memilih media fermentasi adalah kualitas media, sifat fisiko kimia, porositas media, serta bentuk dan tekstur media. Untuk media fermentasi kering, kriteria yang harus dipenuhi adalah :

- resistensi terhadap kekuatan mekanik dan mempunyai struktur yang relatif stabil agar dapat digunakan fermentasi dengan ketebalan satu meter.
- porositas harus cukup baik agar aerasi berjalan lancar.
- komponen media harus menyebar dan homogen.
- kemampuannya mengikat air tinggi.
- tidak mengandung lignin dan mengandung relatif sedikit bahan tak terdegradasi.
- mempunyai komposisi kimia yang baik untuk pertumbuhan mikriba, utamanya sumber karbon.

Bahan alamiah yang dapat digunakan sebagai media secara umum dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu media amilosik dan media lignosellulosik. Media amilosik yang sering digunakan antara lain limbah serealia, dedak padi, kentang, singkong,dan lain-lain. Sedangkan media lignosellulosik di antaranya ampas tebu, jerami, daging buah, limbah kayu, dan limbah hasil hutan (Ramachandran, 1979).

III. METODE PENELITIAN

3.1 WAKTU DAN TEMPAT

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian dan Laboratorium Nutrisi Universitas Hasanuddin, berlangsung dari bulan Oktober 1990 hingga Februari 1991.

3.2 BAHAN DAN ALAT

3.2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini :

1. Mikroorganisme (kapang), yang berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pertanian Bogor.
2. Media seleksi yang terdiri dari dua macam :
   a. Media Poteto Dextrose Agar sebagai media perbanyakan kultur kapang yang akan dipindahkan ke media seleksi yaitu *Czapeck Agar*.
   b. Media *Gzapeck Agar* yang ditambahkan Rose benggal. Penambahan *Rouge Benggal* adalah untuk memperlambat pertumbuhan apikal mycelium tanpa mengurangi aktivitas metabolisme kapang dan sebagai bakteriostatik (Ottow, 1972).
3. Media organik berupa campuran dari bagase tebu dengan kadar air 48 % yang diperoleh dari pabrik gula Takalar, dedak padi dari pabrik penggilingan beras yang berasal dari daerah Barru, Wajo, dan

Soppeng, serta tepung tapioka yang diperoleh dari pasar Sentral Ujung Pandang. Komposisi dari ketiga jenis substrat tersebut (Lampiran 1, 2, dan 3).

4. Larutan lugol yang terdiri dari 10 gram Iodium dan 20 gram Kalium yoyida di dalam 1.000 ml air steril.

3.3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari : cawan petri, jarum ose, pemotong prekultur, pipet hisap, pipet otomatis Sequoia-Turner 340, pengaduk magnetik, inkubator Haeraeus D - 6450, thermometer celcius, stop watch CMS. Cat. No. 392 - 396, oven GFL-7106, penangas air, erlenmeyer Duran 500 ml, dan spektrometer Sequoia Turner Model 340, sentrifuge Heraeus Labofuge A max 5000 rpm, Timbangan analitik Sartorius-max 160 gr, water bath Mammert, enchass scientific technical Suplies D-6072 Dreieich West Germany.

3.3. PROSEDUR KERJA

1. Cawan petri yang berisi media *Poteto Dextrosa Agar* di-nokulasi dengan kultur kapang dengan cara goresan, ke-mudian diinkubasikan selama 60 jam pada temperatur 31°C.
2. Cawan petri yang berisi media *Czapeck Agar* yang di-tambah rose benggal yang sebelumnya disiapkan.

3. Biakan dari cawan petri no 1 (media kultur perbanyakan) dipotong kemudian diletakkan di tengah-tengah cawan petri yang berisi media *Czapeck Agar* tersebut di atas, kemudian diinkubasikan pada suhu 31°C selama 72 jam.
4. Hasil seleksi di dalam media Czapeck Agar ditumbuhkan di dalam media organik yang terdiri dari 6 bagian bagase , 2 bagian dedak padi, dan 2 bagian tepung tapioka. Substrat tersebut di atas dimasukkan di dalam erlenmeyer 500 ml, kemudian ditambahkan 10 ml larutan mineral yang terdiri dari 20 gram $NaNO_3$, 3 gram KH_2PO_4, 0,5 gram KCL, 0,2 gram $CaCl_2$ $2H_2O$, dan 0,01 gram $FeSO_4$ $7H_2O$ di dalam 1.00 ml air.

   Erlenmeyer tersebut di atas disterilkan dalam autoklave pada suhu 120°C selama 30 menit. Setelah dingin diinokulasi dengan larutan spora kapang 10^7 per ml yang telah disiapkan sebelumnya dan diinkubasi selama 72 jam. Spora yang digunakan berasal dari kultur kapang di dalam Poteto Dextrose Agar yang telah ditambah air steril. Setelah inkubasi, kultur dihentikan dengan penambahan 200 ml larutan tween 80 sebesar 0,1 % ke dalam kultur dan digoyang dengan menggunakan shaker selama 1 jam agar enzimyang berada di dalam kultur tercuci. Untuk memisahkan substrat dan ekstrak enzim dilakukan penyaringan dan sentrifugasi, kemudian dilakukan analisa aktivitas enzim (Lampiran 9).

3.4 PENGAMATAN

Pengamatan yang dilakukan antara lain :

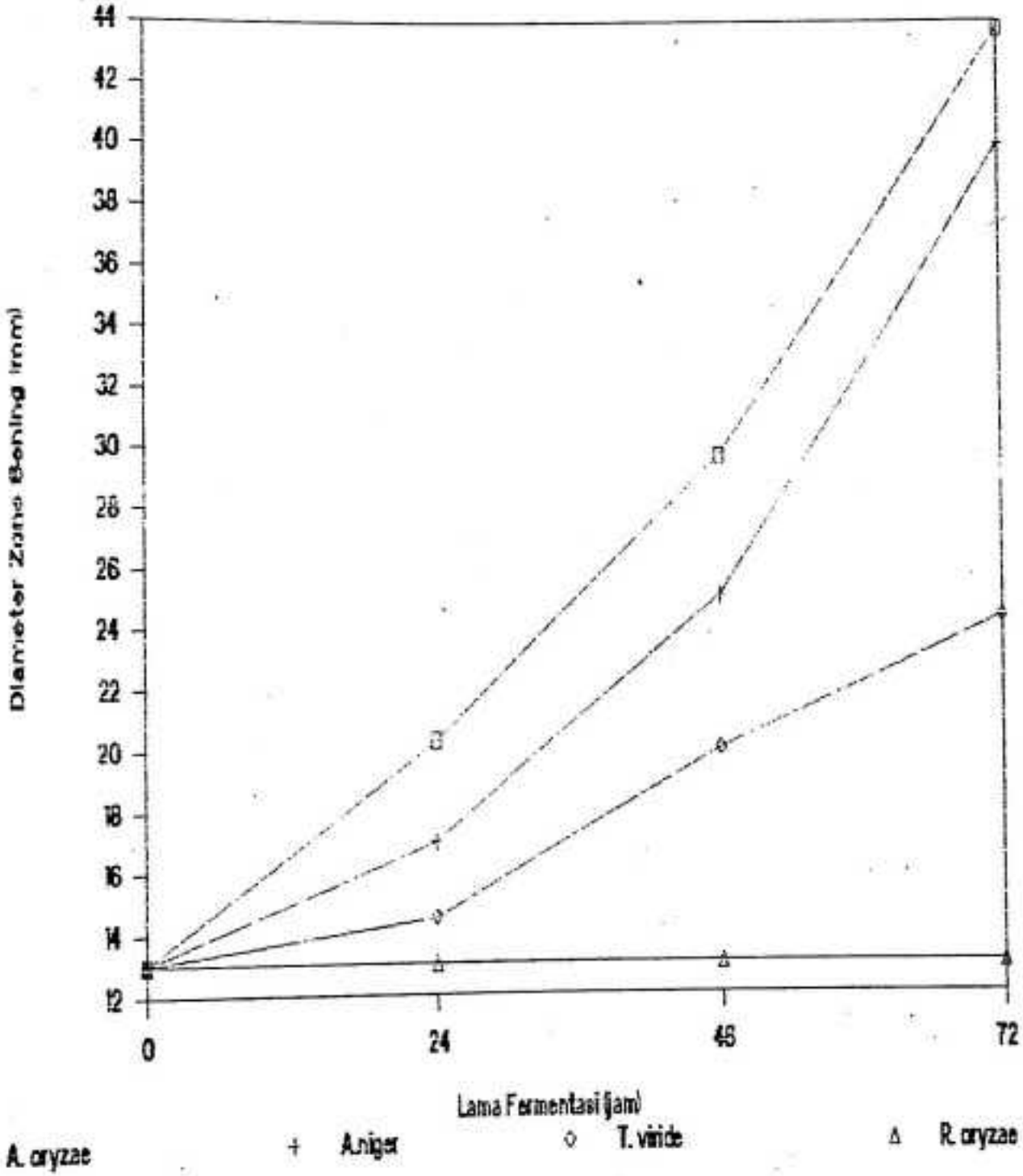
1. Pengamatan setiap 24 jam terhadap perkembangan atau pembesaran diameter zone bening di sekitar koloni kapang. Pada pengamatan terakhir yaitu setelah 72 jam dilakukan penambahan larutan lugol sebagai larutan pengidentifikasi adanya aktivitas enzim alfa-amilase yang disekresi oleh kapang pada media tempat prtumbuhannya. Indeks hidrolisa pati oleh enzim adalah perbandingan diameter koloni kapang yang diberi simbol Q (Lampiran 10).
2. Dosis aktivitas enzim alfa-amilase yang digunakan dalam penelitian ini :
   - 1,8 ml larutan enzim.
   - penghentian reaksi dilakukan dengan selang waktu 7,5 menit.
   - dengan menambahkan 0,4 ml HCl 1 N pada suhu 55°C.
   - kemudian 100 mikroliter dari larutan tersebut di-pindahkan ke kuvet spektrometer yang sudah diisi dengan 2,35 ml hasil campuran dari 46,5 ml air dengan 0,5 ml HCl 1 N dan 50 mikroliter larutan Iod. Pembacaan densiti optik dilakukan dengan bantuan kurva standar yang dibuat dengan larutan pati 1,2 %, 0,9 %, 0,6 %, dan 0,3 %.
   - Satuan aktivitas enzim dinyatakan dalam jumlah mg pati yang dihidrolisa per menit per berat kering substrat mula-mula atau akhir dengan kondisi reaksi pada 5,0 dan suhu 55°C.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

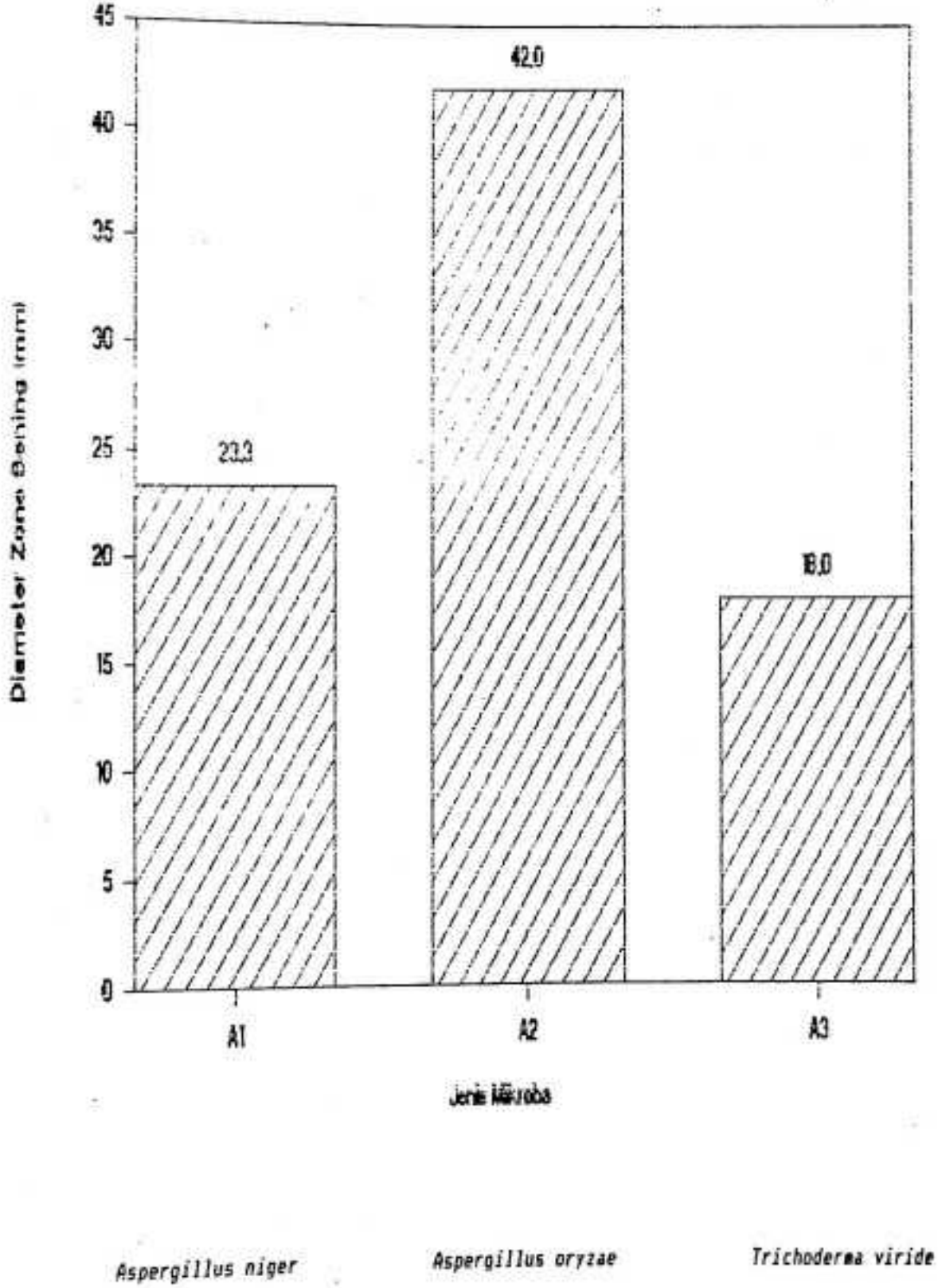
4.1 PERKEMBANGAN DIAMETER KAPANG PADA MEDIA PDA

Hasil pengamatan ysng dilakukan setiap 24 jam selama 72 jam fermentasi di dalam cawan petri dari keempat jenis kapang yaitu *Rhizopus oryzae, Trichoderma viride, Aspergillus oryzae, Aspergillus niger* menunjukkan adanya pembesaran diameter zone bening di sekitar koloni kapang. Pada pengamatan terakhir yaitu setelah 72 jam dilakukan penambahan larutan lugol sebagai larutan pengidentifikasi adanya aktivitas enzim alfa-amilase yang disekresi oleh kapang pada media tempat tumbuhnya. Hasil lengkap pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 4.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perkembangan diameter zone bening selama 72 jam fermentasi meningkat sejalan dengan bertambahnya waktu fermentasi pada kondisi temperatur 31 ^{o}C. Gambar 3 memperlihatkan bahwa perkembangan zone bening kapang agak lambat selama 24 jam pertama fermentasi,hal ini disebabkan karena terjadinya fase adaptasi antara mikroorganisme dengan substrat dan kondisi lingkungannya. Dwidjoseputro, (1989) mengatakan bahwa pada pertumbuhan mikroorganisme terjadi beberapa fase pertumbuhan, di mana fase awal pertumbuhan mikroba belum mengadakan pembiakan melainkan terjadi fase adaptasi antara mikroba dengan substrat dan lingkungan tempat tumbuhnya. Tetapi pada pengamatan 48 jam sampai 72 jam fermentasi, perkembangan diameter zone bening agak besar dibanding 48 jam pertama. Hal ini sisebabkan oleh



Gambar 3. Perkembangan Diameter Zone Bening Pada Media Selama 72 Jam Fermentasi.



Gambar 4. Perkembangan Diameter Zone Bening Sesudah Penambahan Larutan Lugol ke dalam Mediam PDA.

bertambahnya aktivitas metabolisme kapang. Menurut Rehn dan Reet (1981) bahwa untuk memaksimumkan pertumbuhan mikroba dapat dilakukan dengan menetukan nutrien dasar yang dibutuhkan serta kondisi yang baik. Selanjutnya oleh Harjo (1989) bahwa komponen medium haruslah memenuhi kebutuhan elemen dasar untuk pembentukan biomassa dan produk fermentasi serta dapat menyediakan energi yang cukup untuk biosintesa dan pemeliharaan sel.

Gambar 4 menunjukkan rata-rata diameter zone bening *Aspergillus oryzae, Aspergillus niger, Trichoderma viride* masing-masing sebesar 42,0 mm, 23,3 mm, dan 18,0 mm. Menurut Wang, *et.al* (1978) bahwa kemampuan mikroorganisme untuk memanfaatkan nutrien media sebagai sumber energi untuk proses sintesa enzim eksoselluler didukung pula oleh suhu pertumbuhannya, sebab pertumbuhan merupakan hasil akhir dari serangkaian reaksi kimia yang sangat dipengaruhi oleh suhu.

Alfa-amilase adalah endoenzim yang bekerja memutuskan ikatan alfa-1,4 secara acak di bagian dalam molekul polisakarida, menghasilkan dextrin dengan rantai panjang 6 - 10 unit glukosa, dan akan diurai lebih lanjut menjadi glukosa, maltosa, maltotriosa, dan ikatan lain yang lebih panjang (Tjokroadikoesoemo, 1989).

Diduga bahwa adanya zone bening di sekitar koloni kapang itu disebabkan oleh adanya enzim alfa-amilase yang menghidrolisa substrat menjadi glukosa, maltosa, dan maltotriosa yang dengan larutan lugol memberikan warna bening.

4.2 PENGUJIAN AKTIVITAS ENZIM ALFA-AMILASE SECARA SEMI KUANTITATIF

Hasil pengujian yang dilakukan di dalam cawan petri dari keempat jenis kapang yaitu *Aspergillus oryzae, Aspergillus niger,Trichoderma viride, Rhyzopus oryzae* memberikan aktivitas amilasik yang berbeda (Tabel 2). Potensi amilasik tertinggi dari keempat jenis kapang tersebut adalah pada *Aspergillus oryzae* dengan koefisien aktivitas amilasik sebesar 1,68. Adanya zone bening menandakan terhidrolisanya pati pada media di sekitar koloni kapang menjadi maltosa dan maltotriosa oleh enzim alfa-amilase yang disekresi oleh kapang (Fogarty, 1979). Tetapi juga tidak tertutup kemungkinan bahwa di dalam zone bening terdapat pula glukosa yang merupakan hasil hidrolisa lanjut dari maltosa oleh enzim amiloglukosidase.

Enzim eksoselluler adalah enzim yang dihasilkan di dalam sel tetapi dikeluarkan ke media fermentasi untuk menghidrolisa dan mendegradasi senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang mudah larut dan diserap oleh mikroba seperti enzim alfa-amilase dan amiloglukosidase (Wolf, 1949). Selanjutnya Forgaty dan Kelly (1979), mengatakan bahwa enzim pendegradasi pati yang juga dapat menghidrolisa glikogen dan polisakarida pada ikatan glikosidik alfa-1,4 dan alfa-1,6 menjadi empatkelompok di antaranya yaitu alfa-amilase dan amiloglokosidase. Alfa-amilase yang aktif sebagai

endoamilase dengan menghidrolisa ikatan glikosidik alfa-1,4 menghasilkan maltosa dan dextrin, sedangkan amiloglokosidase yang menghidrolisa ikatan glukosidik alfa-1,4 dari sisi non pereduksi dengan menghasilkan glukosa.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas alfa-amilase (Q) di cawan petri setelah 72 jam

Jenis kapang	Diameter zone bening (mm)	Diameter Koloni (mm)	Q
Rhyzopus orizae	13,00	13,00	1,00
Aspergillus oryzae	42,00	25,00	1,68
Aspergillus niger	22,30	14,50	1,50
Trichoderma viride	18,00	14,00	1,29

Q = Indeks Aktivitas Amilolitik.

4.3 AKTIVITAS ENZIM ALFA-AMILASE DI DALAM SUBSTAT ORGANIK

Produksi enzim alfa-amilase dari dua jenis kapang yang terseleksi yang mempunyai aktivitas amilolitik potensial darike empat jenis kapang dilakukan pada substrat organik yang terdiri dari bagase tebu, dedak padi, dan tepung tapioka dengan proporsi 6 : 2 : 2.

Uji aktivitas ensim yang dihasilkan dilakukan pada suhu 55 ^{o}C dan pH 5,0. Hasil analisa (Tabel 3) memperlihatkan bahwa aktivitas alfa-amilase maksimum sebesar 341,95 mg pati per menit per kultur kering diperoleh pada enzim yang diproduksi dari *Aspergillus oryzae.*

Bila dihubungkan antara hasil analisa amilolitik terhadap kedua kultur (*Aspergillus oryzae* dan *Aspergillus niger*) di dalam cawan petri, terdapat korelasi yang positif dengan hasil analisa aktivitas enzim amilolitik yang diwakili oleh enzim alfa-amilase di dalam substrat organik.

Hasil analisa aktivitas enzim alfa-amilase pada substrat organik dapat diduga bahwa dengan adanya substrat organik seperti bagase tebu, dedak padi, dan tepung tapioka merupakan media yang optimum untuk petumbuhan kapang. Menurut Rahman (1989), bahwa sifat porositas medium padat atau semi padat merupakan faktor yang sangat penting dalam suatu fermentasi aerobik. Diduga dengan adanya substrat ampas tebu ini, disamping sebagi sumber energi juga dapat mempertahankan porositas medium sehingga penetrasi udara ke dalam media merata sehingga pertumbuhan dapat terjadi di seluruh bagian media. Ini berarti bahwa pembentukan miselia kapang dalam medium akan meningkat per berat media yang sama. Davies (1963) melaporkan bahwa enzim disekresikan pada miselia kapang.

Diduga bahwa dedak padi yang terdapat pada media pertumbuhan kapang cukup untuk mensuplai energi untuk proses sintesa senyawa-senyawa yang diperlukan selama pertumbuhan. Supratmi (1966) dan Djide (1986), melaporkan bahwa dedak padi cukup mengandung karbohidrat dan senyawa-senyawa nitrogen, mineral mikro seperti

kalsium, posfor, serta unsur prekursor dan kofaktor vitamin B seperti thiamin, riboflavin, niasin, asam pantotenat, dan piridoksin.

Tabel 3. Hasil analisa enzim alfa-amilase di dalam substrat organik (bagase, dedak, tapioka).

Jenis kapang	Aktivitas alfa-amilase * (mg pati menit^{-1}(gr kultur kering)$^{-1}$)
Aspergillus niger	151,71
Aspergillus oryzae	341,95

*) Reaksi dilakukan pada suhu 55 ^{o}C dan pH 5,0.

4.4 SELEKSI AKTIVITAS ALFA-AMILASE DI DALAM BERBAGAI PROPORSI MEDIA ORGANIK

Seleksi ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perbandingan jumlah media organik terhadap produksi enzim alfa-amilase yang maksimal. Hasil dari seleksi ini memperlihatkan bahwa media optimal adalah pada proporsi no. 2 yaitu media dengan perbandingan 6 gram ampas tebu, 3 gram dedak padi, 1 gram tepung tapioka yang memberikan aktivitas enzim alfa-amilase sebesar 600,80 mg pati per menit per berat kultur kering (Tabel 4).

Dari aktivitas enzim yang dihasilkan dapat disimpulkan bahwa 3 gram dedak padi dan 1 gram tepung tapioka, 6 gram bagase tebu merupakan media yang optimum untuk pertumbuhan. Menurut Hardjo (1989), bahwa produksi

enzim dari mikroorganisme secara praktis perlu memperhatikan dua faktor utama yaitu faktor yang berhubungan dengan sifat-sifat mikroorganisme dan faktor yang berhubungan dengan sifat substrat atau media. Faktor yang pertama meliputi : kemampuan genetik mikroorganisme untuk memproduksi enzim, daya tahan sintesa enzim terhadap represi katabolit, sifat khas mikroba terhadap jenis dan kondisi substrat (pH, suhu, Aw,dan lain-lain). Faktor kedua meliputi : jenis substrat, kandungan nutrien dan mineral, jenis fermentasi dan lain-lain. Ini dapat diduga bahwa dengan melakukan seleksi baik seleksi mikroba maupun substrat akan diperoleh enzim yang mempunyai aktivitas yang tinggi.

Tabel 4. Hasil analisa aktivitas enzim alfa-amilase di dalam berbagai proporsi media organik.

Jenis kapang	Aktivitas enzim alfa-amilase * (mg pati per menit per kultur kering)	
Media	1*	2*
Aspergillus oryzae	341,95	600,80

1*) : proporsi media yaitu 6 : 2 : 2

2*) : proporsi media yaitu 7 : 3 : 1

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Dari keempat jenis kapang yaitu : *Aspergillus oryzae, Aspergillus niger, Trichoderma viride, Rhyzopus oryzae* diperoleh potensi amilasik tertinggi pada *Aspergillus oryzae.*

Aktivitas enzim alfa-amilase tertinggi pada kondisi suhu 55°C dan pH 5,0 diperoleh pada enzim alfa-amilase yang diproduksi oleh dari *Aspergillus oryzae* yaitu sebesar 341,95 mg pati per menit per gram kultur kering.

Media terbaik untuk memproduksi enzim dengan aktivitas enzim alfa-amilase tertinggi diperoleh pada proporsi media yang terdiri dari 6 gram ampas tebu, 3 gram dedak padi, dan 1 gram tepung tapioka dengan aktivitas enzim alfa-amilase sebesar 600,80 mg pati per menit per kultur kering.

5.2 SARAN

Disarankan untuk melakukan penelitian terhadap pengujian aktivitas enzim alfa-amilase pada kondisi yang optimum dan dilakukan penelitian untuk memurnikan enzim alfa-amilase tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

Alexpoulos, C. J. dan P.W. Mims. 1979. Introductory Mycology. John Wiley and Sons, New York.

Anonimous, 1986. Daftar Komposisi Bahan Makanan. Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, Bhratara, Jakarta.

Aunstrup, K. 1979. Production, Isolation and Economics of Extracelluler Enzymes. Di dalam L.B. Wingard, E.K. Katzir dan L. Goldstein (eds.). Applied Biocemistry and Bioengineering vol. 2 Enzyme Technology. Academic Press, Inc., New York.

Blain, J. A. 1975. Industrial Enzyme Production. Di dalam J.E. Smith dan D.R. Berry. 1975. The Filamentous Fungi. Vol I: Industrial Mycology. Edward Arnold, London.

Boing, J. T. O. 1982. Enzyme Production. Di dalam G. Reed (ed.). Presscott dan Dunn's Industrial Microbiology 4th. AVI Publishing Co., Wetport Connecticut.

Bull, M. J. 1979. Starch Degrading Enzymes of Microbial Origin. Di dalam Prgress in Industrial Microbiology. Elsevier Scientific Publishing Co., New York.

Casida, L. E. 1968. Industrial Microbiology. John Wiley and Sons, New York.

Chalall, D. S. 1985. Solid-State Fermentation with Trichoreesei for Cellulase Production. Appl. Environ. Microbiol. 49, 205 - 210.

Davies, R. 1963. Microbe Extracelluler Enzymes, Their Role and Some Factors Effecting their Formation. Di dalam Rainbow, C. and A. H. Roose (Eds). Biochemistry of Industrial Microorganisma. University of London Press Ltd. London.

Djide, N., 1986. Identifikasi dan Sifat-sifat Mikroba Pemecah Pati yang Diisolasi dari Limbah Pabrik Tapioka di Daerah Bogor. Fakultas Pasca Sarjana IPB.

Dwidjoseputro, D., 1989. Dasar-dasar Mikrobiologi. Djambatan, Malang.

Fogarty, W. M. dan C.T. Kelly. 1979. Developments in Microbial Extracelluler Enzyme. Di dalam Wisman, A.,ed. Topics in Enzymes and Fermentation Biotecnology, Vol: III. John Willey and Sons, New York.

Fogarty, W. M. 1976. Microbial Enzyme and Biotechnology. Applied Science Publisher - London.

Hardjo, S., N. S. Indrasti, T. Bantacut. 1989. Bioconversi Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian. IPB, Bogor.

Juliono, B.O. 1966. Physico Chemical Data on the Rice Grain IRRI. Technical Bulletin. No. 6.

Marshal, Y. Y. 1972. The Biosynthesis. and Enzimic Degradation. Wellerstein Lab. Commun., 32, 49-98.

Mauranche, A. and C. Cester, 1985. Hydrolase et Depolymerase Enzymes d'Interest Industrial. Bordas, Paris- France.

Muchtadi, Tien R. 1988. Teknologi Pemasakan Ekstruksi. Pusat Antar Universitas IPB, Bogor.

Ottow, J. C. G. 1972. Rose Bengale As a Selective Aid in The Isolation of Fungi and Actinomycetes From Natural Source. J. Mycology No. 64.

Rachman, A. 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB.

Raimboult, M. 1981. Fermentation En Millieu Solid Croissance de Champignous Filamentaux Sur Substrat Amylase. Universite de Toulous, France.

Ramachandran, N., 1979. Influence of Medi Composition on Production of Alfa-amylase and Amyloglukosidase by Stain of *Aspergillus niger*. Starch (Starke) J. 31, hal. 134 - 138.

Reed, G. 1975. Enzymes in Food Processing. Academic Press, New york.

Stanburry, P. F. and A. Whitaker. 1984. Principles of Fermentation Technology. Pergamon Press, New York.

Suprayatmi, M., 1966. Memepelajari Produksi Enzim Alfa-amilase dari Kapang *Aspergillus niger*. Fakultas Teknologi IPB, Bogor.

Suriawiria, M. 1966. Pengantar Mikrobiologi Umum. Angkasa, Bandung.

Tjokroadikoesoemoe, S., 1989. HFS dan Industri Ubi Kayu. Gramedia, Jakarta.

Udiyono. 1982. Pembuatan Enzim Alfa-amilase oleh *Aspergillus oryzae* pada Metode Surface dan Submerged Cultur. Departemen Teknik Kimia. Fakultas Teknologi Industri ITB, Bandung.

Wang, D.I.C., C.L. Croney, A.L. Demain, P. Dunnil, A.E. Humphrey dan M.D. Lilly, 1978. Fermentation and Enzime Technology. John Wiley and Sons, New York.

Wolf, I. F. and A. F. Wolf. 1949. The Fungi, Vol. II. John Willey and Sons, New York.

LAMPIRAN – LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi dedak padi yang berasl dari tiga tempat (Barru, Wajo, dan Soppeng).

	Elemen Penyusun	Kadar
*	Kadar Air Bebas	13 %
	N	2,11 %
	Pata	7,83 %
	Lemak	14,94 %
	Serat kasar	11,60 %
	Thiamin (B_1)	24 (ug/g dry basis)
	Riboflavin (B_2)	2
	Niasin	336
	Piridoksin (B_6)	25
	Asam Pentotenat	27,7
	Biotin	0,6
	Kholin	1700
	Inositol	4627
	Asam -P- Amino Benzoat (PABA)	0,75
	Asam Folat	1,46
***	Kalsium	850 (mg/100 gr bahan)
	Posfor	1750
	Fe	35

Sumber: *** Suriawiria, 1966
** Juliono, 1960
* Udiono, 1982.

Lampiran 2. Komposisi Tapioka

Elemen Penyusun	Kadar
Protein	0,6 gr
Lemak	3,3 gr
Karbohidrat	14,0 gr
Kalsium (Ca)	14,0 gr
Fosfor (P)	13,0 mgr
Besi (Fe)	0,8 mgr
Vitamin A	-
Vitamin B1	-
Vitamin C	-
Kalori	362 kalori

Sumber : Anonimous, 1981.

Lampiran 4. Perkembangan Diameter Koloni Mikroba Sebelum dan Sesudah Penambahan Larutan Lugol ke dalam Medium PDA.

Jenis Mikroba	Diameter Zone Bening (mm)			
	Hari I,	Hari II,	Hari III,	Hari IV*
1. *Aspergillus oryzae*	20,3	29,6	43,7	39,9
2. *Aspergillus niger*	17,0	25,0	39,9	22,3
3. *Trichoderma viride*	14,5	20,0	24,3	18,0
4. *Rhyzopus oryzae*	13,0	13,0	13,0	13,0

*) Setelah ditambah dengan larutan lugol.

Sumber : Hasil pengamatan langsung di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian UNHAS.

Lampiran 5. Hasil Pengamatan Absorbans Kurva Standar pada pH 5,0 dan Suhu 55 ^{o}C dengan Selang Waktu 7,5 menit. *)

Konsentrasi Pati (%)	Ulangan			Rata-rata
	I	II	III	
0,0	0,004	0,007		0,005
0,3	0,294	0,292	0,293	0,293
0,6	0,564	0,561	0,563	0,562
0,9	0,865	0,866	0,864	0,865
1,2	1,130	1,129	1,130	1,129

*) λ = 620 Nm.

Sumber : Hasil pengamatan langsung di Laboratorium Nutrisi, Fakultas Peternakan UNHAS.

Lampiran 6. Hasil Pengamatan Absorbans pada uji aktivitas enzim dari *Aspergillus oryzae* pada pH 5,0 dan suhu 55°C. *)

Konsentrasi Pati (%)	Ulangan			Rata-rata
	I	II	III	
0,3	0,026	0,025	0,027	0;034
0,6	0,034	0,035	0,033	0,034
0,9	0,065	0,081	0,056	0,067
1,2	0,113	0,101	0,098	0,104

*) λ = 620 Nm.

Sumber : Hasil pengamatan langsung di Laboratorium Nutrisi, Fakultas Peternakan UNHAS.

Lampiran 7. Hasil Pengamatan Absorbans pada uji aktivitas enzim dari *Aspergillus niger* pada pH 5,0 dan suhu 55°C. *)

Konsentrasi Pati (%)	Ulangan			Rata-rata
	I	II	III	
0,3	0,131	0,161	0,128	0,140
0,6	0,299	0,297	0,312	0,303
0,9	0,462	0,525	0,590	0,511
1,2	0,629	0,685	0,590	0,635

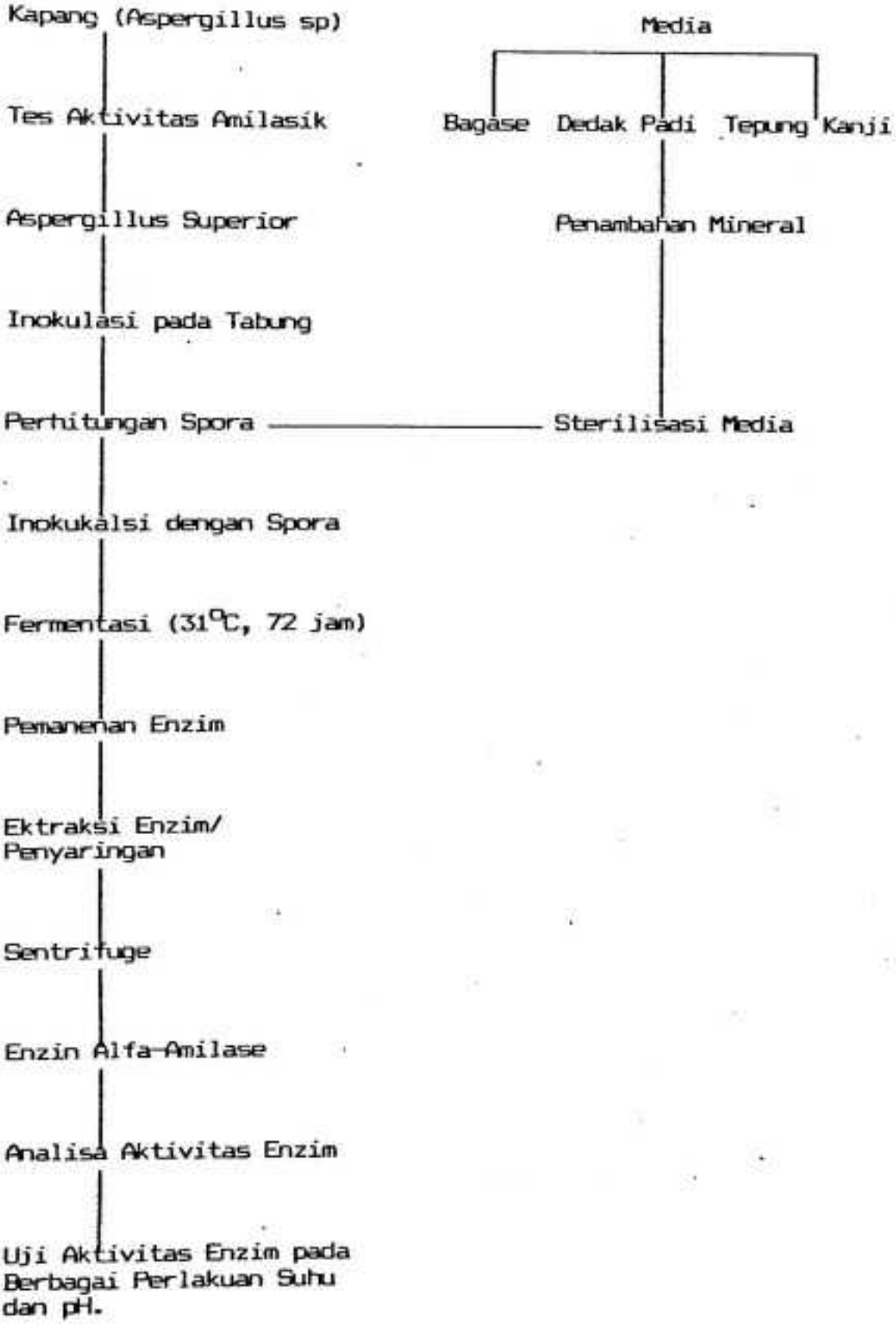
*) λ = 620 Nm.

Sumber : Hasil pengamatan langsung di Laboratorium Nutrisi, Fakultas Peternakan UNHAS.

Lampiran 8. Proporsi Substrat Organik yang Digunakan Sebagai Media Aplikasi dari Hasil Uji dalam Media Sintetik.

No. Proporsi Media	Bagase (gr)	Dedak (gr)	Tapioka (gr)
1	6	2	2
2	6	3	1

Lampiran 9. Metode Operasional Penelitian Produksi Enzim Alfa-amilase.



Lampiran 10. Diagram Alir Pengujian Aktivitas Alfa-amilase Secara Semi Kuantitatif.

