

ISOLASI ENZIM AMILASE DARI KECAMBAH BIJI JAGUNG LOKAL SERAYA (*Zea mays L.*) UNTUK HIDROLISIS PATI

Sri Wahjuni*, Putu Suarya dan I Made Ary Saputra

Program Studi Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Badung, Bali 80361

*E-mail: sriwahjunimanuaba@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu optimum dari amilase yang dapat menghasilkan aktivitas enzim tertinggi dan untuk mengetahui konsentrasi garam ammonium sulfat optimum untuk mendapatkan aktivitas amilase tertinggi dari perkecambahan jagung lokal Seraya. Aktivitas amilase diperoleh dari mereaksikan ekstrak enzim yang telah dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7 dengan substrat pati. Campuran diinkubasi pada suhu 70°C selama 20 menit. Hasil reaksi yang berupa gula pereduksi dianalisis dengan reagen DNS menggunakan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 515,6 nm. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa aktivitas amilase tertinggi didapat dari perkecambahan biji jagung pada jam ke-42 dan fraksinasi garam ammonium sulfat dengan konsentrasi 0-20% jenuh.

Kata kunci : amilase, *Zea mays L.*, amonium sulfat, DNS fraksinasi

ABSTRACT

This research is about the determination of amylase enzyme activity of sprouts of Seraya local maize (*Zeamays L.*) seed. The purpose of this research was to determine the optimum time of amylase showing the highest enzyme activity and to determine the optimum concentration of ammonium sulphate resulting the highest amylase activity of Seraya local corn germination. Amylase activity was obtained by reacting the enzyme extract that dissolved in phosphate buffer of pH 7 with starch substrate. The mixture was incubated at 70 °C for 20 minutes. The results of the reaction was a reducing sugar that measured by using DNS reagent and spectrophotometric method at a wavelength of 515.6 nm. The results showed that the highest amylase activity was observed in the corn seed germination in 42 hours and fractionation of ammonium sulphate with the concentration of 0-20%.

Keywords : ammonium sulphate, amylase, DNS, fractionation, *Zea mays L.*

PENDAHULUAN

Jagung adalah tanaman semusim yang pada saat pertumbuhan awal (berkecambah) dapat menghasilkan enzim amilase yang cukup banyak. Pertumbuhan tanaman yang berasal dari biji diawali dari proses perkecambahan. Dalam partumbuhannya memerlukan energi, dan energi tersebut berasal dari perombakan bahan-bahan organik seperti karbohidrat, lemak dan protein. Enzim yang digunakan untuk merombak protein adalah enzim protease, perombak lemak adalah enzim lipase dan pati memerlukan enzim amilase. Enzim-enzim tersebut secara bersamaan dihasilkan

tumbuhan selama proses perkecambahan (Bahri *et al*, 2012). Suarni dan Patong (2007) menambahkan waktu permulaan perkecambahan yaitu setelah 6 jam Giberellic Acid (GA) membentuk enzim α -amilase. Kemudian enzim tersebut dalam 12-18 jam perkecambahan (hari pertama) mencerna amilosa dan amilopektin pada pati kecambah.

Enzim adalah protein yang terdiri atas serangkaian asam amino dalam komposisi dan susunan rantai yang teratur dan tetap. Di dalam sel, enzim memegang peranan dalam berbagai reaksi biokimia, antara lain: konversi energi, metabolisme pertahanan sel, komunikasi antar sel

sampai ke konversi sifat keturunan. Enzim juga berperan sebagai biokatalis dan berfungsi untuk mengkatalisis reaksi-reaksi metabolisme yang berlangsung pada makhluk hidup (Bahri *et al.*, 2012). Salah satu enzim yang saat ini sangat besar penggunaannya dalam industri makanan dan minuman Indonesia adalah α -amilase. Amilase adalah enzim hidrolase glikosida yang mengkatalisis pemecahan pati menjadi gula. Amilase merupakan salah satu enzim yang paling penting dalam bioteknologi saat ini (Souza dan Magalhaes, 2010).

Sriwahyuni *et al* (2015) telah berhasil melakukan penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi enzim amilase dari biji durian (*Durio, sp.*) yaitu aktivitas enzim tertinggi diperoleh dengan konsentrasi ammonium sulfat 60% jenuh pada suhu optimum 40°C. Suarni dan Patong (2007) telah melakukan penelitian bahwa kecambah kacang hijau berpotensi sebagai sumber enzim α -amilase dengan suhu optimum yaitu 30°C. Pada umumnya aktivitas enzim α -amilase terjadi pada suhu 30-40°C dengan rentang pH 4,8-8,5 dan aktivitasnya akan mengalami penurunan pada kisaran suhu 45-50°C. Hal ini disebabkan enzim mengalami denaturasi akibatnya molekul-molekul enzim rusak sehingga kehilangan spesifitasnya. Bahri *et al* (2012) melakukan penelitian mengenai karakterisasi enzim amilase dari kecambah biji jagung ketan (*Zea mays ceratina* L.) dengan metode *salting out* menggunakan amonium sulfat teknis dengan konsentrasi optimum 55% jenuh. Dalam penelitian tersebut waktu perkecambahan optimum yaitu pada 36 jam dengan aktivitas 0,0557 detik⁻¹, pada pH optimum 9, konsentrasi substrat maksimum 12,5% dan temperatur optimum 70°C.

Ammonium sulfat sering digunakan dalam pengendapan protein untuk proses pemurnian melalui salting-out karena memiliki kekuatan ionik yang cukup tinggi, tidak menimbulkan kerusakan pada protein, memiliki kelarutan tinggi dalam air, relatif murah, tidak berbahaya, dan memiliki efek penstabil pada beberapa enzim (Suprihana, 2013). Ammonium sulfat dipilih dikarenakan kelarutan protein yang berinteraksi polar dengan molekul air, interaksi ionik protein garam dengan garam dan daya tolak menolak protein bermuatan sama. Kenaikan konsentrasi garam akan meningkatkan kekuatan ion larutan. Sampai saat ini masih belum

diperoleh informasi konsentrasi garam ammonium sulfat yang optimum untuk isolasi enzim dari jagung lokal Seraya.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, variasi terhadap temperatur, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, konsentrasi garam ammonium sulfat dan waktu perkecambahan serta sumber enzim sangat berpengaruh terhadap isolasi enzim amilase. Dengan demikian, dalam penelitian ini dilakukan isolasi enzim amilase dari jagung dengan varietas lain yaitu jagung lokal Seraya.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pati murni; biji jagung lokal Seraya tua; akuades; garam amonium sulfat, reagen DNS (3,5 asam dinitrosalisilat) dan buffer fosfat.

Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas; kertas saring; pH meter; blender; sentrifuges; neraca analitik; lemari pendingin; stopwatch; inkubator; botol vial; rak tabung reaksi; filler dan spektrofotometer UV-VIS1800 Shimadzu.

Cara Kerja

Tahap perkecambahan

Sebanyak 200 g biji jagung, direndam dalam akuades selama 24 jam. Setelah itu ditiriskan dan selanjutnya dimasukkan ke dalam gelas beaker yang telah diisi dengan kapas basah, lalu ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi selama A = 12 jam, B = 18 jam C = 24 jam, D = 30 jam, E = 36 jam, F = 42 jam, dan G = 48 jam.

Tahap ekstraksi

Kecambah A, B, C, D E, F dan G diblender dengan masing-masing ditambahkan buffer fosfat pH 7 sebanyak 300 mL. Selanjutnya bubur kecambah disaring dan didekantasi sehingga terpisah antara filtrat dan endapan pati. Filtrat disentrifugasi dengan putaran 2000 rpm selama 15 menit, selanjutnya supernatan yaitu enzim amilase (ekstrak kasar) dapat diuji aktivitasnya.

Presipitasi α -Amilase dengan pengendapan ammonium sulfat

Pemurnian enzim amilase dari ekstrak kecambah jagung dilakukan dengan metode *salting out* menggunakan amonium sulfat. Pemurnian enzim amilase ini dilakukan untuk waktu optimum dari tahap ekstraksi yang paling tinggi aktivitas enzimnya. Perlakuan terdiri atas 3 tingkat kejenuhan, yaitu 0-20%; 20-50%; 50-70%. Setelah bahan pengendap dimasukkan ke dalam gelas kimia yang berisi 10 mL ekstrak enzim pada suhu 2-4 °C sambil diaduk dengan pengaduk magnetik sampai homogen, campuran didinginkan selama 24 jam sampai terjadi koagulasi. Endapan diperoleh kembali dengan sentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 20 menit sebanyak 4 kali, kemudian endapannya dilarutkan dengan 5 mL buffer fosfat pH 7 kemudian diuji aktivitasnya.

Uji aktivitas α -Amilase

Aktivitas amilase secara kuantitatif dapat ditentukan dengan menggunakan reagen DNS menggunakan metode spektrofotometri. Sampel disiapkan dengan mereaksikan 1 mL enzim dengan 1 mL substrat dalam 0,2M buffer fosfat pH 7 dan divortex untuk menghomogenkan larutan, kemudian diinkubasi pada temperatur 70°C selama 20 menit. Lalu ke dalam sampel (1 mL) ditambahkan 1,5 mL reagen DNS. Campuran dihomogenisasi dengan vorteks dan suhu dinaikkan pada 100°C selama 10 menit. Setelah itu, campuran didinginkan pada suhu ruang selama 20 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 515,6 nm. Aktivitas enzim amilase dinyatakan dalam unit per mL, di mana satu unit enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan 1,0 μ mol gula pereduksi per menit di bawah kondisi pengujian. Tiap sampel pengujian aktifitas enzim dibuat ulangannya sebanyak tiga kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Ekstrak Kasar Amilase Kecambah Biji Jagung Lokal Seraya

Ekstrak kasar amilase merupakan hasil sentrifugasi dari bubur kecambah biji jagung lokal Seraya. Filtrat (hasil penyaringan bubur kecambah) diperoleh dari biji jagung seraya yang telah

direndam selama 24 jam dan dilakukan tahap perkecambahan. Selanjutnya kecambah diblender dengan penambahan buffer fosfat dingin pH 7. Setiap 100 gr jagung ditambahkan buffer fosfat sebanyak 150 mL.

Hasil sentrifugasi yang diperoleh berupa filtrat berwarna kuning Muda. Supernatan yang diperoleh disebut supernatan I. Air yang diserap pada proses perkecambahan biji memiliki peran untuk mengaktifkan makromolekul dan organel sel di dalam biji. Selama proses perkecambahan sebagian besar enzim dalam biji menjadi aktif diantaranya enzim α -amilase. Larutan buffer fosfat dengan pH 7 digunakan dalam proses ekstraksi karena dapat menghindari terjadinya inaktivasi enzim akibat pH yang berubah. Enzim akan mengalami denaturasi jika pelarut yang digunakan berupa larutan asam, basa, atau pelarut organik. Denaturasi ini menyebabkan enzim menjadi tidak aktif atau tidak dapat bekerja (Sriwahyuni *et al*, 2015).

Aktivitas Amilase Sampel

Aktivitas amilase dideskripsikan sebagai kemampuan enzim amilase untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis substrat pati membentuk produk gula penyusunnya yang diwakili oleh gula pereduksi. Glukosa merupakan salah satu jenis gula pereduksi. Secara umum menurut IUBMB (International Union of Biochemistry and Molecular Biology), satu unit aktivitas enzim (satu IU) adalah jumlah enzim yang mengkatalisis pembentukan 1 μ mol produk per menit (1 μ mol/menit) pada kondisi pH, temperatur, dan kadar substrat tertentu. Khusus pada penelitian ini, definisi satu unit aktivitas enzim amilase adalah jumlah amilase yang mengkatalisis pembentukan 1 μ mol glukosa per menit pada kondisi pH 7, dalam temperatur 70°C, dan kadar substrat pati sebesar 1%.

Pada penelitian ini uji aktivitas amilase dilakukan dengan reagen DNS menggunakan metode spektrofotometri. Reaksi antara substrat dengan sampel amilase kecambah biji jagung seraya dilakukan selama 20 menit pada suhu 70°C dan pH 7. Setelah ditambahkan reagen DNS suhu dinaikkan mencapai 100°C selama 10 menit. Tahap Inkubasi bertujuan untuk memberi kondisi reaksi antara enzim dengan substrat, sehingga

enzim amilase dapat bekerja mengkatalisis reaksi hidrolisis pati selama 20 menit. Penggunaan suhu inkubasi 70°C dan pH larutan dipertahankan pada pH 7 karena pada kondisi suhu dan pH tersebut kestabilan enzim tetap terjaga (Bahri *et al*, 2012). Perlakuan peningkatan suhu menjadi 100°C ditujukan untuk untuk menghentikan reaksi enzimatik pada pengujian aktivitas amilase karena suhu tinggi dapat mendenaturasi protein enzim sehingga struktur tiga dimensi enzim terganggu, dengan berubahnya struktur tiga dimensi yang dimiliki menyebabkan enzim menjadi tidak aktif.

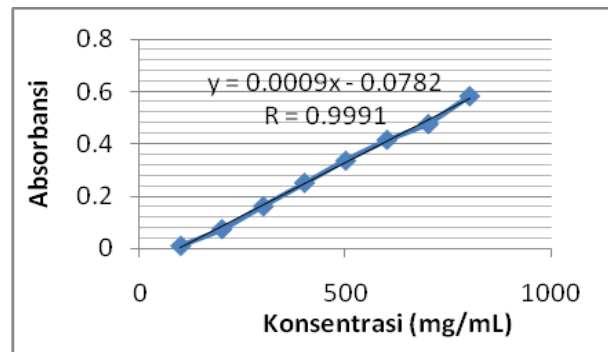
Hidrolisis ikatan glikosida merupakan suatu reaksi yang melibatkan pemutusan ikatan C-C (ikatan glikosidik) dan pemindahan gugus fungsional glikosida yang melibatkan molekul air pada ikatan spesifik dengan substrat (Lehninger, 1990). Amilase dalam reaksi hidrolisis bertindak sebagai nukleofil, yang secara umum akan bereaksi dengan atom karbon karbonil pada ikatan peptida sehingga membentuk intermediet tetrahedral. Produk yang dilepaskan peptida mengandung asam amino ujung C dari sisi aktif yang digantikan secara bersamaan dengan satu molekul air, sehingga terbentuk intermediet tetrahedral kedua (Pakpahan, 2009). Dari reaksi tersebut menghasilkan salah satu produk gula pereduksi yaitu glukosa. Kadar gula pereduksi (*mg/mL*) hasil hidrolisis tersebut sebanding dengan aktivitas amilase kecambah biji jagung lokal Seraya. Apabila semakin banyak gula pereduksi hasil hidrolisis yang terbentuk maka semakin besar aktivitas amilase yang diperoleh atau semakin banyak molekul Pati yang dipecah menjadi monomernya.

Ekstrak amilase yang telah dipreparasi diuji aktivitasnya menggunakan metode Spektrofotometri. Nilai absorbansi yang diperoleh dari masing-masing sampel menunjukkan produk (gula pereduksi) yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Nilai absorbansi tertinggi yaitu ditunjukkan pada perkecambahan sampel 42 jam. Selanjutnya dengan menggunakan standar glukosa (Gambar 1) dilakukan perhitungan konsentrasi (*mg/mL*) dari gula pereduksi sehingga dapat ditentukan aktivitas (*Unit/mL*) amilase dari masing-masing sampel. Aktivitas amilase sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Absorbansi ekstrak kasar amylase

Ekstrak amilase	Ulangan	Absorbansi
Sampel 12 jam	1	0,0990
	2	0,1008
	3	0,1011
Sampel 18 jam	1	0,1948
	2	0,1942
	3	0,1942
Sampel 24 jam	1	0,2335
	2	0,2339
	3	0,2306
Sampel 30 jam	1	0,2576
	2	0,2582
	3	0,2538
Sampel 36 jam	1	0,2958
	2	0,2944
	3	0,2920
Sampel 42 jam	1	0,4025
	2	0,4005
	3	0,4011
Sampel 48 jam	1	0,0961
	2	0,0951
	3	0,0940



Gambar 1. Kurva Standar Glukosa

Tabel 2. Aktivitas Amilase Rata-rata Sampel

Larutan (jam)	Aktivitas amilase rata-rata (Unit/mL)
Sampel 18	84,1358
Sampel 24	95,9465
Sampel 30	103,3128
Sampel 36	114,8971
Sampel 42	148,0147
Sampel 48	53,4774

Selanjutnya ekstrak amilase yang menunjukkan aktivitas tertinggi digunakan dalam presipitasi menggunakan garam ammonium sulfat.

Presipitasi Amilase dengan Garam Amonium Sulfat

Ekstrak kasar amilase (supernatan I) yaitu sampel ke-42 jam dengan aktivitas amilase rata-rata sebesar 148,0147 Unit/mL difraksinasi menggunakan metode *salting out* dengan menambahkan garam ammonium sulfat dengan konsentrasi 0-20%, 20-50% dan 50-70% jenuh. Metode *salting out* berperan dalam mengendapkan protein enzim amilase yakni dengan membuat gaya tarik antar protein semakin kuat sehingga protein dapat mengendap. Ion-ion garam ammonium sulfat akan berkompetisi dengan protein untuk menarik molekul air, sehingga ion garam akan menarik molekul air yang mengelilingi protein enzim. Protein-protein enzim akan saling berdekatan membentuk gumpalan dan mengendap. Garam ammonium sulfat sering digunakan untuk *salting out* karena kelarutannya sangat tinggi, memberikan efek menstabilkan enzim dan tidak merusak struktur protein (GE Healthcare Life Sciences, 2011).

Pengendapan protein menggunakan garam ammonium sulfat dilakukan secara bertahap untuk masing-masing kejenuhan. Supernatan I diendapkan dengan menambahkan garam ammonium sulfat dengan konsentrasi 0-20% jenuh. Penambahan garam ammonium sulfat dilakukan sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan *magnetik stirrer* selama 20 menit sampai garam ammonium sulfat tercampur semua pada suhu rendah yang bertujuan mencegah kerusakan enzim. Hal ini didukung penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Suarni dan Patong (2007) menggunakan suhu 5 °C.

Supernatan I yang mengandung garam ammonium sulfat 0-20% jenuh, kemudian disentrifugasi sehingga diperoleh supernatan II dan endapan protein. Supernatan II dipisahkan dari endapan yang dihasilkannya dan endapan ini disebut fraksi 0-20% jenuh. Supernatan II digunakan kembali untuk proses *salting out* dengan garam ammonium sulfat 20-50% jenuh dan dilanjutkan dengan garam ammonium sulfat 50-70% jenuh. Endapan yang dihasilkan dalam proses

salting out dilarutkan dengan buffer fosfat 0,2 M pH 7. Pelarutan dengan buffer fosfat bertujuan untuk melarutkan protein globular serta menjaga stabilitas struktur protein enzim agar tidak terdenaturasi (Praharaningsih, 2006). Buffer yang digunakan berada pada pH 7 karena pada pH tersebut protein tetap stabil (Wuryanti, 2004). Selanjutnya dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515,6 nm. Hasil pengukuran absorbansi dapat dilihat pada Tabel 3.

Untuk mendapatkan amilase yang lebih murni selanjutnya dapat menggunakan metode SDS-PAGE (Sodium Dodecylsulphate polyacrilamid Gel Electro-phoresis) yaitu teknik elektroforesis yang menggunakan *polyacrylamide* sebagai bahan pemisah. SDS-PAGE digunakan untuk memisahkan protein berdasarkan sifat electrophoretic mobility (pemisahan komponen atau molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasi dan berat molekulnya (BM) dalam sebuah medan listrik). Protein yang dipisahkan dengan SDS-PAGE dapat dikarakterisasi berdasarkan berat molekulnya dengan satuan Kilo Dalton (kDa). Satu dalton sama dengan satu hidrogen molekul (Fahrur, 2014).

Aktivitas Amilase Hasil *Salting Out*

Aktivitas amilase tertinggi ditunjukkan pada fraksi ammonium sulfat 0-20% jenuh. Hasil tersebut diperoleh dari perhitungan absorbansi menggunakan standar glukosa pada gambar 1 sehingga dapat ditentukan aktivitas amilasena. Hasil perhitungan aktivitas amilase hasil *salting out* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Absorbansi hasil *salting out*

Fraksi (Jenuh)	Ulangan	Absorbansi
0-20%	1	0,4577
	2	0,4660
	3	0,4613
20-50%	1	0,4365
	2	0,4360
	3	0,4355
50-70%	1	0,3370
	2	0,3463
	3	0,3458

Tabel 4. Hasil perhitungan Aktivitas amilase hasil *salting out*

Fraksi	Ulangan	Kadar Glukosa (mg/mL)	Aktivitas Protease (U/mL)	Aktivitas Amilase rata-rata (U/mL)
Fraksi 1 (0-20%)	1	595,4444	165,4012	166,6255
	2	604,6667	167,9630	
	3	599,4444	166,5123	
Fraksi 2 (20-50%)	1	571,8889	158,8580	158,7073
	2	571,3333	158,7073	
	3	570,7778	158,5494	
Fraksi 3 (50-70%)	1	461,3333	128,1481	130,0103
	2	471,6667	131,0185	
	3	471,1111	130,8642	

Pada penelitian sebelumnya Bahri *et al* (2012) menggunakan garam ammonium sulfat (teknis) optimum dengan konsentrasi 55% jenuh untuk karakterisasi enzim amilase dari kecambah biji jagung ketan..

Catherine *et al* (1996) pada penelitiannya yang menghasilkan aktivitas spesifik α -Amilase sebesar 171,4 U/mg ((NH₄)₂SO₄ 40%) dalam pemurnian α -amilase dari *B. flavothermus* serta Sriwahyuni *et al* (2015) menggunakan garam ammonium sulfat optimum 60% jenuh untuk mengisolasi enzim amilase dari biji durian. Hasil yang berbeda untuk garam ammonium sulfat optimum yang didapat dari setiap penelitian berbeda disebabkan faktor lingkungan seperti suhu, pH, konsentrasi substrat yang berbeda serta sumber sampel yang digunakan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Lama perkecambahan biji jagung lokal Seraya dengan waktu 42 jam menghasilkan aktivitas amilase tertinggi yaitu rata-rata sebesar $148,0147 \pm 0,3172$ Unit/mL.
2. Kejenuhan garam ammonium sulfat yang optimum untuk mengendapkan enzim amilase yaitu 0-20% jenuh dengan aktivitas amilase rata-rata sebesar $166,6255 \pm 1,2846$ Unit/mL.

Saran

Perlu dilakukan pemurnian amilase dengan metode Dialisis untuk mendapatkan enzim amilase yang lebih murni serta perlu dilakukan pengecekan kemurnian dari masing-masing fraksi ammonium sulfat dengan metode SDS PAGE.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Bapak Dr. I Nengah Wirajana, S.Si., M.Si., Bapak Dr. Drs. Ketut Gede Dharma Putra, M.Sc., dan Bapak Drs. I Wayan Suarsa, M.Si., serta Ibu Dra. Ida Ayu Raka Astiti Asih, M.Si. yang telah banyak membantu, memberikan dukungan dan nasehat selama dilakukan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahri, S., Mirzan, Moh., dan Hasan, Moh., 2012, Karakterisasi Enzim Amilase Dari Kecambah Biji Jagung Ketan (*Zea mays ceratina* L.), *Jurnal Natural Science*, 1 (1): 132-143
- Fahrur R.S., 2014, Aplikasi Metode SDS-Page (Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Elektrophoresis) untuk Mengidentifikasi Sumber Gelatin pada Kapsul Keras, *Skripsi*, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta
- GE Healthcare Life Sciences, 2011, *Instructions 28-9955-33 AB Hydrophobic interaction media Capto™ Phenyl (high sub)*, General Electric Company
- Lehninger, A.L., 1990, *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*, a.b Thenawidjaja, M., Erlangga, Jakarta
- Pakpahan, R., 2009, Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Protease Termofilik dari Sumber Air Panas Sipoholon Tapanuli Utara Sumatera Utara, *Tesis*, Universitas Sumatera Utara, Medan
- Praharaningsih, E., 2006, Pengaruh Jenis Presipitan Pada Proses Isolasi Enzim Bromelin dari Buah Nanas Terhadap Aktivitas Proteolitik Enzim Pada Hidrolisis Kasein, *Skripsi*, Universitas Indonesia

- Sriwahyuni, L., Rosahdi, T.D., dan Supriadin, A., 2015, Isolasi Dan Karakterisasi Amilase Dari Biji Durian (*Durio Sp.*), *al Kimiya*, 2 (10)
- Souza, P.M. and Magalhaes, P.O., 2010, Application of Microbial α -Amylase in Industry – A Review, *Brazilian Journal of Microbiology*, 41: 850-861
- Suarni dan Patong, R., 2007, Potensi Kecambah Kacang Hijau Sebagai Sumber Enzim α -Amilase, *Indo., J., Chem.*, 7: 332-336
- Sugiarto, 2008, Peningkatan Produksi dan Mutu Jagung, *Makalah Seminar: Mekanisasi Pertanian: Peran Strategis Mekanisasi Pertanian dalam Pengembangan Agroindustri Jagung*, Jakarta, 20 Desember 2004, h. 6
- Suprihana, M.S., 2013, Fraksinasi Enzim Lipase Dari Endosperm Kelapa Dengan Metode Salting Out, *Agritech*, 33 (4)
- Wuryanti, 2004, Isolasi Dan Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim Bromelin Dari Buah Nanas (*Ananas comosus L.*), *JKSA*, 7 (3): 83-87
- Yusuf, R.P., 2009, Kajian Pendapatan Petani pada Usahatani Jagung (Kasus di Desa Sangalangit, Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng, Manajemen Produksi dan Pemasaran Agribisnis, *SOCA*, 9 (3): 263-390