

## **ANALISIS AKTIVITAS ENZIM AMILASE YANG BERASAL DARI BAKTERI TANAH DI KAWASAN UNIVERSITAS JAMBI**

### **ANALYSIS OF AMYLASE ACTIVITY OF SOIL BACTERIA IN JAMBI UNIVERSITY**

**Ika Oksi Susilawati<sup>1\*</sup>, Umni Mardhiah Batubara<sup>1</sup>, dan Hesti Riany<sup>1</sup>**

Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi, Jambi<sup>1\*</sup>  
Jl. Raya Jambi – Muara Bulian KM. 15 Mendalo Darat 36361  
oksy.unja@gmail.com

#### **ABSTRACT**

*Soil is habitat of bacteria, one of them is amylolytic bacteria that have ability to produce amylase. The amylase is used in textile, food, and detergent industry. Jambi University is area that has biodiversity of unexplored microorganism, one of them is amylolytic bacteria. Therefore, were needed screening amylolytic potential bacteria in Jambi University in order to know amylase activity. The aims this research to get amylolytic potential bacteria and know crude amylase activity of amylolytic potential bacteria in soil of Jambi University. Soil bacteria was isolated on Starch Agar medium and tested by Lugol's Iodin reagent for index amylolytic measuring. Then, crude amylase was isolated from isolate that had the highest amylolytic index. Crude amylase activity was measured by Dinitrosalisilic acid method. Isolate characteristic observed were colony morphology, Gram staining, and motility. There were gotten 12 isolates but only 7 isolates that had amylolytic potential. Based on amylolytic index measurement and amylase activity test were known that most potential isolate was HJ03 isolate with 1,2 amylolytic index and 0,157 U/mL amylase activity. Characterization result showed that HJ03 isolate was Gram positive, bacil, and non-motile.*

*Keywords: amylase, soil bacteria, Jambi University*

#### **ABSTRAK**

*Tanah merupakan habitat berbagai bakteri, salah satunya bakteri amilolitik yang berpotensi menghasilkan amilase. Amilase banyak digunakan dalam industri tekstil dan pangan. Kawasan kampus Universitas Jambi merupakan wilayah yang memiliki karakter tanah yang bervariasi dan berpotensi memiliki keanekaragaman mikroorganisme, salah satunya adalah bakteri amilolitik. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri amilolitik yang potensial dan mengetahui aktivitas amilase kasar dari isolat potensial amilolitik yang berasal dari tanah kawasan kampus Universitas Jambi. Bakteri tanah diisolasi di media Starch Agar dan diuji dengan pereaksi Lugol's Iodine untuk diukur indeks amilolitiknya. Selanjutnya amilase kasar diisolasi dari isolat dengan indeks amilolitik tertinggi. Aktivitas amilase kasar diukur menggunakan metode Dinitrosalisilic acid. Karakter isolat yang diamati meliputi morfologi koloni, pewarnaan Gram, dan motilitas. Dari 12 isolat yang ditemukan hanya 7 isolat yang berpotensi amilolitik. Berdasarkan penghitungan indeks amilolitik dan pengujian aktivitas amilase diketahui isolat yang paling potensial adalah isolat HJ03 dengan indeks amilolitik sebesar 1,2 dan aktivitas amilase 0,157 U/mL. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa isolat HJ03 merupakan bakteri Gram positif berbentuk basil, dan tidak motil.*

*Kata kunci: amilase, bakteri tanah, Universitas Jambi*

## 1. PENDAHULUAN

Enzim merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh makhluk hidup dan berfungsi untuk mengkatalisis reaksi biokimia dalam tubuh makhluk hidup, sehingga reaksi dapat berlangsung lebih cepat. Enzim bersifat spesifik terhadap reaksi yang dikatalisis dan molekul yang menjadi substratnya [1]. Kemampuan enzim yang unik dalam melaksanakan transformasi kimianya yang khas ketika diisolasi telah meningkatkan penggunaan enzim dalam berbagai proses industri, seperti industri tekstil, detergen, bahan pangan dan minuman, bahan kimia, obat-obatan, dan kulit [2].

Produksi dan perdagangan enzim didominasi oleh kelompok enzim hidrolitik seperti amilase, protease, dan lipase. Negara industri maju sudah banyak mengekstraksi enzim dari berbagai mikroorganisme. Hal ini disebabkan mikroorganisme menghasilkan enzim yang dapat dimanfaatkan manusia dalam jumlah banyak dan jenis yang bervariasi. Selain itu, mikroorganisme juga mudah dikulturkan dan kecepatan pertumbuhannya relatif cepat, serta skala produksi sel lebih mudah ditingkatkan. Oleh sebab itu, produksi enzimnya melimpah, biaya produksi relatif rendah, kondisi selama produksi tidak tergantung oleh pergantian musim dan waktu yang dibutuhkan dalam proses produksi lebih pendek. Aktivitas enzim yang dihasilkan dari mikroorganisme yang tinggi dan bersifat lebih stabil dibandingkan yang berasal dari tumbuhan atau hewan [3].

Salah satu jenis enzim yang banyak dihasilkan oleh mikroorganisme adalah amilase. Amilase merupakan salah satu enzim hidrolitik yang memiliki kemampuan untuk memutuskan ikatan glikosida pada amilum. Hasil hidrolisisnya berupa molekul-molekul yang lebih kecil seperti glukosa, maltosa, dan dekstrin [4]. Amilase dapat menghidrolisis amilum melalui tiga tahapan utama yaitu gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi [5]. Ketiga proses tersebut mempunyai tingkat konsumsi energi yang tinggi [6].

Penggunaan amilase dilaporkan mengalami peningkatan setiap tahunnya. Amilase secara konstitusi merupakan kelompok enzim yang sangat dibutuhkan dalam bidang industri dengan penguasaan pasar mencapai hampir 80% dari pasaran enzim di dunia. Kebutuhan amilase di dunia sangat tinggi, misalnya pada tahun 1996 mencapai 2.490.396 kg senilai US \$12.181.608. Pada tahun 2004 mencapai penjualan sekitar US \$2 milyar, sedangkan amilase yang digunakan untuk industri makanan dan minuman pada tahun 2004 bernilai sekitar US \$11 juta [7]. Oleh karena nilai komersial yang relative tinggi, maka perlu ditemukan sumber-sumber yang cukup luas sebagai penghasil amilase sesuai dengan karakteristik yang dibutuhkan [8].

Sedikitnya 50% dari produksi amilase yang beredar saat ini, diperoleh dari organisme yang dimodifikasi secara genetik. Dalam industri makanan, aplikasi amilase relative tinggi dan masih menunjukkan dominasi di antaranya enzim yang ada di pasaran.

Beberapa produk yang melibatkan enzim selama tahap pengolahan adalah keju, yoghurt, bir, dan roti [9].

Amilase dapat dihasilkan dari bakteri amilolitik dan jamur amilolitik yang berasal dari tanah maupun sumber air panas [10]. Tanah merupakan suatu media yang digunakan sebagai tempat hidup dan pertumbuhan bakteri secara kompleks. bakteri dapat hidup di tanah dengan memanfaatkan semua nutrien yang ada di dalamnya [11]. Bakteri amilolitik di tanah sangat melimpah sehingga produksi enzim amilase juga melimpah dan dapat memenuhi kebutuhan enzim amilase pada beberapa industri.

Bakteri amilolitik yang diisolasi dari sumber kaya amilum umumnya berpotensi menghasilkan amilase yang lebih baik [12]. Beberapa contoh tanah yang banyak mengandung bakteri amilolitik adalah tanah sekitar penggilingan tepung, tanah dekat pembuangan sampah, dan tanah dekat pembuangan limbah singkong [13]. Universitas Jambi merupakan kawasan yang memiliki tanah mengandung banyak amilum, di antaranya tanah rawa, hutan kampus, dan tanah dekat dengan pembuangan sampah organik seperti limbah tahu. Oleh sebab itu, tanah di area kampus Universitas Jambi sangat berpotensi mengandung bakteri amilolitik yang beragam dan belum tereksplorasi.

Amilase dapat diproduksi oleh beberapa jenis bakteri amilolitik, yaitu *Bacillus aquamaris* MKSC 6.2 [1], *Bacillus amyloliquifaciens* ABBD, *Bacillus subtilis* 65 [14], *Bacillus licheniformis* ATCC 9945a [15], *Streptomyces* sp. [5], *Geobacillus thermodenitrificans*, *Klebsiela pneumoniae* [6], *Clostridium* sp., *Lactobacillus* sp., *Micrococcus* sp., dan *Bacteriodes* sp. [11]. Mengingat bahwa bakteri penghasil amilase sangat berpotensi dalam bidang industri, maka perlu dilakukan penelitian dalam upaya mencari sumber daya alam yang potensial bagi kesejahteraan manusia, dengan cara mengisolasi bakteri penghasil amilase dari tanah di kawasan Universitas Jambi. Hal ini disebabkan di Universitas Jambi memiliki lahan luas yang berpotensi sebagai habitat bakteri amilolitik. Berdasarkan permasalahan yang ada, maka penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat potensial amilolitik dan mengetahui aktivitas enzim amilase kasar dari isolat potensial amilolitik yang berasal dari tanah di kawasan Universitas Jambi.

## **2. METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 1-23 Maret 2015, bertempat di Laboratorium Bioteknologi dan Rekayasa Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi. Penelitian ini menggunakan metode survey. Sampel diambil dari tiga lokasi yaitu tanah dekat pembuangan limbah tahu, dekat kandang bebek, hutan kampus, dan tanah rawa. Sampel diambil sebanyak 3 kali ulangan. Karakteristik bakteri yang diamati adalah pengamatan

morfologi koloni dan sel, serta uji motilitas. Pengujian aktivitas amilase menggunakan metode *Dinitrosalisilic acid* (DNS).

Bakteri amilolitik diisolasi dari tanah dekat pembuangan limbah tahu, hutan kampus, dan tanah rawa. Masing-masing sampel diambil sebanyak 1g dan homogenat diencerkan berseri hingga enam kali ( $10^{-6}$ ) dengan akuades steril. Dari dua pengenceran terakhir ( $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$ ) diambil 0,1 ml dan ditanam duplo secara *spread plate* pada medium NA, dan diinkubasi pada suhu 31 °C selama 2x24 jam [10]. Seleksi bakteri amilolitik dilakukan dengan cara menumbuhkan satu ose isolat yang sudah murni pada medium SA, diinkubasi pada suhu 31 °C selama 2x24 jam. Selanjutnya lugol's iodine ditambahkan pada permukaan bakteri dan diamati pembentukan zona bening di sekitar koloni bakteri. Bakteri yang positif bersifat amilolitik akan membentuk zona bening di sekitar koloni, sedangkan bakteri yang tidak bersifat amilolitik tidak membentuk zona bening pada sekitar koloni. Pengukuran indeks amilolitik (IA) dilakukan dengan cara mengukur rata-rata diameter zona bening yang terbentuk di sekitar koloni dikurangi rata-rata diameter koloni bakteri yang tumbuh, kemudian dibagi dengan diameter koloni bakteri yang tumbuh.

Produksi dan isolasi amilase dilakukan dengan cara menumbuhkan satu ose bakteri amilolitik stok ke dalam 250 mL medium basal cair, kemudian diagitasi selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 31°C. Setelah 24 jam, suspensi bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit dan dipisahkan antara supernatan dan endapannya. Bagian yang diambil adalah supernatan yang mengandung amilase kasar.

Sebanyak 1 mL amilase kasar hasil sentrifugasi dicampur dengan 1 mL pati 1%, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 31°C. Reaksi dihentikan dengan cara menambahkan 2 mL asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS), kemudian dikocok menggunakan vortex dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit, selanjutnya didinginkan di dalam air es selama 20 menit. Setelah dingin, diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. Penggunaan blanko mendapat perlakuan yang sama dengan sampel, tetapi penambahan amilase dilakukan setelah campuran dipanaskan. Selanjutnya nilai absorbansi dikonversi ke dalam kurva standar glukosa. Aktivitas amilase dihitung berdasarkan data kadar glukosa relatif sebagai volume glukosa yang dihasilkan oleh 1 mL filtrat kasar amilase. Besarnya satu unit aktivitas enzim dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$AE = \frac{MG \times 1000}{BMG \times MI}$$

Keterangan: AE = Aktivitas enzim (Unit/mL)

MG = Miligram glukosa yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis pati  
 BMG = Berat Molekul Glukosa (180)  
 MI = Masa Inkubasi (20 menit)

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri yang berasal dari tanah di kawasan kampus Universitas Jambi diperoleh 12 isolat, dengan rincian 2 isolat (PL01, dan PL02) dari tanah dekat pembuangan limbah tahu, tanah dekat kandang bebek (KB01), 5 isolat (HJ01, HJ02, HJ03, HJ04, dan HJ05) dari hutan kampus, dan 4 isolat (RU01, RU02, RU03, dan RU04) dari tanah rawa. Setelah dilakukan seleksi pada 12 isolat yang berpotensi menghasilkan enzim amilolitik hanya terpilih 7 isolat dengan kode PL01, PL02, PL03, HJ02, HJ03, RU02, dan RU04. Data perolehan indeks amilolitik pada 7 isolat bakteri potensial amilolitik dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata indeks amilolitik pada 7 isolat bakteri potensial amilolitik asal tanah di kawasan kampus Universitas Jambi

No.	Karakteristik Lokasi	Kode Isolat	Rata-rata diameter zona bening sekitar koloni (cm)	Rata-rata diameter koloni (cm)	Indeks Amilolitik
1.	Dekat pembuangan Limbah Tahu	PL01	4,02	2,00	1,01
		PL02	3,13	1,43	1,18
2.	Dekat kandang bebek	KB01	3,20	1,50	1,13
3.	Hutan Jambi	HJ02	2,76	1,34	1,05
		HJ03	3,39	1,54	1,20
4.	Rawa Universitas Jambi	RU02	2,12	1,00	1,12
		RU04	3,12	1,42	1,19

Uji aktivitas amilase menggunakan substrat pati 1% yang larut dalam air. Pati merupakan salah satu jenis karbohidrat yang memerlukan enzim amilase untuk mencernanya. Isolasi bakteri yang menghasilkan amilase ekstraseluler terlihat dari pembentukan zona bening di sekitar koloni bakteri. Pembentukan zona bening pada 7 isolat potensial amilolitik menunjukkan bahwa pati yang terdapat di dalam media dihidrolisis oleh amilase menjadi senyawa yang sederhana seperti maltosa, dekstrin, dan glukosa [2]. Untuk memperjelas adanya zona bening, medium pati padat yang telah ditumbuhi bakteri ditetesi larutan *lugol's iodine*. Daerah di luar zona bening akan berwarna biru keunguan setelah diberi larutan tersebut, karena larutan *lugol's iodine* akan bereaksi dengan pati yang tidak dihidrolisis. Zona bening tidak ikut terwarnai karena pati yang terdapat pada zona tersebut sudah terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti disakarida atau monosakarida. Amilase ekstraseluler yaitu enzim yang dikeluarkan dan menghidrolisis pati 1% yang ada di lingkungan luar sel, dan kemudian hasil hidrolisis diserap kembali ke dalam sel bakteri untuk tumbuh, berkembang biak, sumber energi, dan cadangan makanan [5]. Lima isolat bakteri lain tidak membentuk zona

bening, karena tidak dapat mendegradasi pati. Hal ini disebabkan kebutuhan sumber karbon yang berbeda pada masing-masing isolat. Sifat dan jumlah sumber karbon dalam medium kultur penting bagi pertumbuhan dan produksi amilase ekstraseluler pada bakteri [2].

Tabel 2. Rata-rata nilai uji aktivitas amilase dari 7 isolat bakteri potensial amilolitik asal tanah di kawasan Universitas Jambi.

No.	Kode Isolat	Konsentrasi Glukosa ( $\mu\text{g/mL}$ )	Aktivitas Enzim (Unit/mL)
1.	PL01	329,05	0,091
2.	PL02	421,44	0,117
3.	KB01	348,03	0,097
4.	HJ02	461,22	0,128
5.	HJ03	564,59	0,157
6.	RU02	309,39	0,086
7.	RU04	444,53	0,123

Isolat HJ03 mempunyai aktivitas amilase tertinggi yaitu 0,157 unit/mL dengan konsentrasi glukosa sebesar 564,59  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan isolat RU02 memiliki aktivitas amilase terendah yaitu 0,086 unit/mL dengan konsentrasi glukosa sebesar 309,39  $\mu\text{g/mL}$ . Perbedaan hasil tersebut disebabkan oleh perbedaan habitat asal bakteri. Isolat HJ03 berasal dari kawasan hutan yang banyak mengandung karbohidrat dari tumbuhan berbeda dengan isolat yang berasal dari tanah dekat kandang bebek, pembuangan limbah tahu, dan rawa memiliki kandungan pati lebih sedikit. Bakteri amilolitik yang diisolasi dari sumber kaya amilum umumnya berpotensi menghasilkan amilase yang lebih baik [12]. Karbohidrat golongan polisakarida banyak terdapat di alam, terutama pada sebagian besar tumbuhan. Pati dapat ditemukan pada umbi, daun, batang dan biji-bijian. Pati merupakan kelompok terbesar cadangan karbohidrat yang dimiliki oleh tumbuhan sesudah selulosa. Tumbuhan melakukan sintesis pati ketika proses fotosintesis. Bakteri akan menggunakan sumber karbon hasil hidrolisis pati tanaman yang terdapat pada tanah hutan untuk pertumbuhan [17].

Selain perbedaan habitat yang dijadikan sebagai substrat pertumbuhan alaminya, beberapa faktor lingkungan juga mempengaruhi produksi amilase. Faktor-faktor tersebut meliputi kandungan nutrisi, derajat keasaman media, tekanan osmotik, tingkat aerasi, suhu, dan kontrol terhadap kontaminasi selama fermentasi [8]. Produksi amilase maksimal pada lama inkubasi 10 jam, suhu 35-40 °C dan pH 7 [12].

Lama fermentasi untuk menghasilkan amilase optimal biasanya ditentukan oleh fase pertumbuhan bakteri. Amilase umumnya dihasilkan mulai pada fase adaptasi dan mencapai puncaknya pada saat fase eksponensial akhir. Aktivitas amilase akan menurun setelah sel mencapai fase eksponensial akhir karena pati dalam medium mulai habis sehingga enzim tidak diproduksi lagi [18]. Selain itu, akumulasi zat toksik di dalam

medium dapat menyebabkan penurunan aktivitas amilase. Faktor lain adalah adanya aktivitas enzim lain seperti protease yang berperan dalam proses pelisisan sel [1].

Tabel 3. Ciri morfologi koloni 7 isolat bakteri potensial amilolitik asal tanah di kawasan kampus Univeritas Jambi

No.	Kode Isolat	Ukuran	Bentuk	Permukaan	Margin	Warna	Elevasi
1.	PL01	Sedang	Sirkuler	Halus mengkilap	Entire	Krem	Convex
2.	PL02	Sedang	Irreguler	Kasar	Undulate	Krem	Flat
3.	KB01	Besar	Irreguler	Berkerut	Undulate	Putih	Umbonate
4.	HJ02	Sedang	Sirkuler	Halus mengkilap	Entire	Putih	Raised
5.	HJ03	Besar	Irreguler	Berkerut	Lobate	Bening	Raised
6.	RU02	Titik	Sirkuler	Halus mengkilap	Entire	Kuning	Convex
7.	RU04	Besar	Sirkuler	Berkerut	Entire	Krem	Flat

Tabel 4. Karakter morfologi sel dan uji motilitas dari 7 isolat bakteri potensial amilolitik dari kawasan kampus Universitas Jambi.

No.	Kode Isolat	Bentuk sel	Sifat Gram	Motilitas
1.	PL01	Basil	Positif	Non-motil
2.	PL02	Basil	Positif	Non-motil
3.	KB01	Basil	Negatif	Non-motil
4.	HJ02	Batang pendek	Positif	Non-motil
5.	HJ03	Basil	Positif	Non-motil
6.	RU02	Basil	Negatif	Non-motil
7.	RU04	Coccus	Positif	Non-motil

Tabel 3 dan 4 merangkum karakter morfologi sel dan uji motilitas. Terdapat perbedaan disebabkan oleh pigmen intraseluler yang dihasilkan oleh bakteri. Pigmen bakteri dapat diklasifikasikan atas karotenoid, antosianin, melanin, tripirilmethenes dan phenazin [15]. Hasil uji pewarnaan Gram memperlihatkan bahwa sebagian besar bakteri merupakan Gram positif yang berbentuk basil. Sebagian besar bakteri penghasil amilase adalah genus *Bacillus* yang berbentuk basil dan Gram positif, karena bakteri ini mampu bertahan hidup dalam bentuk sel vegetatif sampai suhu 70°C, dan pada suhu yang lebih tinggi dari 70°C akan membentuk endospora sebagai pertahanan hidupnya [16]. *Bacillus aquimaris* merupakan produsen amilase terbaik dan telah banyak digunakan dalam industri komersial. Bakteri tersebut menghasilkan amilase pada waktu fermentasi 24 jam [1].

#### 4. KESIMPULAN DAN PROSPEK

##### 4.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Diperoleh 7 isolat bakteri potensial amilolitik yang berasal dari tanah di kawasan Universitas Jambi dengan indeks amilolitik tertinggi pada isolat HJ03 yaitu sebesar 1,2.
2. Amilase kasar yang berasal dari isolat HJ03 menunjukkan aktivitas tertinggi sebesar 0,157 Unit/mL.

#### **4.2. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan parameter suhu dan pH untuk mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas amilase, sehingga dapat diketahui suhu dan pH optimum untuk menghasilkan amilase.
2. Perlu dilakukan karakterisasi bakteri secara biokimiawi dan dianalisis secara molekuler pada isolat yang berpotensi amilolitik untuk melihat heterogenitasnya.

### **5. UCAPAN TERIMAKASIH**

Terimakasih diucapkan kepada Arif Mulyanto, S.Si., M.Si. dan rekan-rekan dosen Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi atas saran dan bantuan yang diberikan dalam penelitian ini. Ucapan terimakasih juga diucapkan kepada laboran dan teknisi Laboratorium Bioteknologi dan Rekayasa Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi yang telah memberikan fasilitas untuk penelitian ini.

### **6. DAFTAR PUSTAKA**

- [1] Puspitasari F., Nurachman Z., Noer AS, Radjasa OK, Maarel M., and Natalia D. Characteristics of Raw Starch Degrading Amylase from *Bacillus aquimaris* MKSC 6.2. Associated with Soft Coral *Sinularia* sp. *Starch*. 2011; 63: 461-467.
- [2] Aiyer PV. Amylases and Their Applications. *African Journal of Biotechnology*. 2005; 4: 125–135.
- [3] Poernomo AT. dan Purwanto DA. Uji Aktivitas *Crude* Enzim Proteolitik *Bacillus subtilis* FNCC 0059 Hasil Fermentasi Curah. *Majalah Farmasi Airlangga*. 2003; 3: 103-107.
- [4] Reddy N.S., Nimmagadda A., and Rao KR. An Overview of Themicrobial  $\alpha$ -amylase Family. *African Journal of Biotechnology*. 2003; 2: 645-648.
- [5] Kaneko, T., Ohno, T., and Ohisa, A. Purification and Characterization of a Themostable Raw Starch Digesting Amylase from a *Streptomyces* sp. Isolated In a Milling Factory. *Bioscience Biotechnology. Biochemistry*. 2005; 69 (6): 1073-1081.
- [6] Sun, H., Ge, X., Wang, L., Zhao, P., and Peng, M. Microbial Production of Raw Starch Digesting Enzymes. *African Journal of Biotechnology*. 2008; 8 (9): 1734-1739.



- [7] Sivaramakrishnan S., Gangadharan D., Nampoothiri, C.R. Sossol, and A. Pandey.  $\alpha$ -amylase from Microbial Sources – An Overview on Recent Developments. *Food Technol. Biotechnol Journal*. 2006; 44: 173-184.
- [8] De Carvalho, R.V, Correa T., and Da Silva J. Properties of an Amylase from Thermophilic *Bacillus* sp. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2008; 39: 102-107.
- [9] Miguel ASM, Meyer TSM, Figueiredo EVC, Lobo BWP, and Ortiz GMD. *Enzymes in Bakery: Current and Future Trends*. Licensee InTech. Rio de Janeiro, Brazil: Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio de Janeiro; 2013.
- [10] Kaur AM., Kaur L., Manohar, and Zabeer A. Isolation, characterization and identification of bacterial strain producing amylase. *Journal Microbiology Technology*. 2012; 2 (4):573-579.
- [11] Pelczar, M.J. dan E.C. Chan. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press; 1988.
- [12] Vaseekaran S., Balakumar S., and Arasaratnam V. Isolation and Identification of a Bacterial Strain Producing Thermostable  $\alpha$ -Amylase. *Tropical Agricultural Research*. 2010; 22 (1): 1-11.
- [13] Nangin, D. dan A. Sutrisno. Enzim amilase pemecah pati mentah dari mikroba: kajian pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2015; 3 (3): 1032-1039.
- [14] Nurachman Z., Alfredo K., Radjasa OK., and Natalia D. Identification of Novel Raw-Starch Degrading Amylase from a Tropical Marine Bacterium. *American Journal of Biochemistry And Biotechnology*. 2010; 6 (4): 300-306.
- [15] Bozic N., Jordi R., Lopez-Santin J., and Vujeie Z. Production and Properties of the Highly Efficient Raw Starch Digesting  $\alpha$ -amylase from a *Bacillus licheniformis* ATCC 9945a. *Biochemical Engineering Journal*; 2010. doi: 10.1016/j.bej.2010.10.014.
- [16] Cappucino JG. *Microbiology: A Laboratory Manual*. London: Addison Wesley Publishing Interscience Publication; 1983.
- [17] Buchanan BB., Grissem W., and Jones R. eds. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists; 2000.
- [18] Sjojfan O. And Ardyati T. Extracellular Amylase Activity of Amylolytic Bacteria Isolated from Quail's (*Coturnix japonica*) Intestinal Tract in Corn Flour Medium. *International Journal of Poultry Science*. 2011; 10 (5): 411-415.