

Isolation and Screening of Amilolytic Bacteria Isolate from Cassava (*Manihot utilissima*)

Prapti Sedijani¹, Bq. Novi Aprilia¹, Dewa Ayu Citra Rasmi^{1*}, Kusmiyati¹

¹Biologi Education, Faculty of Teacher Training and Education, University of Mataram, Mataram, West Nusa Tenggara, Indonesia;

Article History

Received : July 18th, 2023

Revised : August 21th, 2023

Accepted : September 01th, 2023

*Corresponding Author:

Dewa Ayu Citra Rasmi,

Biologi Education, Faculty of
Teacher Training and Education,
University of Mataram,
Mataram, West Nusa Tenggara,
Indonesia;

Email: citra.fkip@unram.ac.id

Abstract: Amylase is an enzyme capable of hydrolyzing starch into simpler sugars. The use of amylase enzymes is urgently needed in various industrial fields, therefore the search for sources of amylase enzyme producers continues to be carried out for sources of amylase enzyme producers. Each industrial field has specific requirements for amylase enzymes. This study aims to isolate bacteria capable of producing amylase enzyme and to determine the amylase activity of bacteria isolated from cassava (*Manihot utilissima*) when incubated at different temperatures (room temperature and 30°C) and pH levels (7, 8, 9, and 10). The research involved bacterial isolation, testing the amylase activity of the isolated amylolytic bacteria at varying pH and temperatures, and characterizing the amylolytic bacteria. The amylolytic bacterial activity was qualitatively measured based on the clear zone's area formed around the colony. From this study 5 isolates showing amylolytic activity were obtained. The amylolytic activity index varied among the isolates, ranging from 0.12 to 0.59. The highest amylolytic activity index (0.59) was performed by S4 isolate on pH 10 medium incubated at 30°C. Microscopic and gram staining analysis suggest that two isolates were gram-negative coccus bacteria and three of them were gram-positive coccobacillus bacteria.

Keywords: Activity, amylase enzyme, isolation, pH, temperature.

Pendahuluan

Enzim amilase dimanfaatkan dalam berbagai macam industri, sehingga kebutuhan akan enzim ini sangat besar. Secara komersial, amilase adalah salah satu enzim terpenting, terhitung sekitar 25% dari pasar enzim global (Khajuria dan Singh, 2020). Industri yang menggunakan enzim amilase yaitu industri fermentasi bir, industri tekstil, industri detergen, dan industri makanan (Ariandi, 2016). Berdasarkan informasi dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) bahwa sejak tahun 1970-an, jumlah amilase yang digunakan pada industri tekstil di Bandung Jawa Barat sedikitnya 4 ton per bulan atau sekitar 2-3 juta dolar Amerika.

Kebutuhan enzim amilase yang sangat besar mendorong pencarian sumber-sumber produsen enzim amilase terus dilakukan. Setiap

bidang industri memiliki kebutuhan yang spesifik terhadap enzim amilase tertentu, seperti dalam industri deterjen enzim amilase yang dibutuhkan memiliki aktivitas yang tinggi pada suhu rendah dan pH tinggi, sedangkan pada industri makanan enzim amilase yang dibutuhkan memiliki aktivitas pada suhu tinggi dan pH netral (Chi *et al.*, 2010).

Mikroorganisme amilolitik banyak ditemukan pada produk dan limbah singkong, antara lain seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Gunam *et al.*, (2021) yang mengisolasi mikroorganisme amilolitik dari ragi tape dan tape singkong dan diperoleh isolat bakteri amilolitik dengan aktivitas enzim amilase sebesar 0,897-0,284. Chalisya *et al.*, (2020) telah mengisolasi mikroorganisme amilolitik dari ampas singkong dan diperoleh isolat bakteri amilolitik dengan aktivitas sebesar 0,86. Aktivitas enzim amilase yang dihasilkan pada

limbah fermentasi singkong (*Manihot esculenta Crantz*) berkisar pada pH 3-9 dan pada suhu 20°C-35°C (Oboh, 2005).

Sumber bakteri yang diisolasi pada penelitian ini berasal dari bahan makanan yaitu singkong karena memiliki kandungan amilum yang tinggi sebagai sumber karbohidrat. Diantara amilum yang berasal dari umbi-umbian, amilum singkong merupakan amilum yang paling mudah dihidrolisis oleh enzim α -amilase (Rocha *et al.*, 2010). Selain itu, apabila sumber bakteri diisolasi dari bahan makanan maka isolat bakteri tersebut aman apabila digunakan pada industri makanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri yang dapat menghasilkan aktivitas enzim amilase yang tinggi pada rentang pH dan suhu yang lebar, dengan harapan nantinya enzim amilase bisa diaplikasikan dalam berbagai bidang industri.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 6 bulan di Laboratorium Biologi Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mataram.

Jenis penelitian

Jenis penelitian ini yaitu kualitatif dengan menggunakan metode deskriptif-eksploratif.

Isolasi bakteri amilolitik

Isolasi bakteri amilolitik menggunakan medium selektif yakni NA (*Nutrient Agar*) ditambah 1% Pati. Sebanyak 1 gram singkong dicampur dengan 9 mL garam fisiologis dan kemudian dilakukan pengenceran untuk mendapatkan isolat terpisah dengan metode tuang (*pour plate*). Isolat yang memiliki aktivitas amilolitik dengan indikator adanya zona bening disekitar koloni bakteri selanjutnya dimurnikan. Isolat yang dimurnikan kemudian diuji aktivitas enzim amilase pada pH 7, pH 8, pH 9, pH 10 pada suhu ruang dan suhu 30°C.

Aktivitas enzim amilase pada rentang pH dan suhu

Isolat bakteri amilolitik masing-masing diinokulasi pada medium selektif dengan pH 7, pH 8, pH 9, pH 10 kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 3x24 jam. Hal yang sama

dilakukan tetapi suhu diatur menjadi 30 °C . Aktivitas bakteri amilolitik diukur secara kualitatif berdasarkan luas zona bening yang terbentuk disekitar koloni menggunakan rumus dari (Mubarik., *et al* 2003) pada persamaan 1.

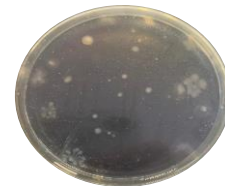
$$\text{Indeks aktivitas amilolitik} = \frac{\text{diameter zona bening (cm)}}{\text{diameter koloni (cm)}} \quad (1)$$

Indeks aktivitas amilolitik isolat bakteri selanjutnya diuji menggunakan ANOVA (*Analysis of variance*) dua arah untuk melihat perbedaan antar perlakuan pada pH dan suhu yang berbeda tersebut.

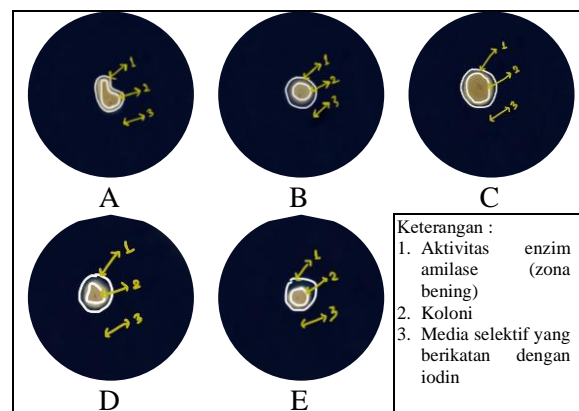
Hasil dan Pembahasan

Isolasi bakteri amilolitik

Isolasi bakteri amilolitik dari singkong diperoleh lima isolat dengan karakteristik yang berbeda (lihat gambar 1). Dalam media selektif kemampuan menghasilkan enzim amilase ditandai adanya zona bening yang terbentuk disekitar koloni. Bakteri amilolitik yang telah diisolasi diberi kode isolat S1, S2, S3, S4, dan S5 dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 1. Isolasi bakteri amilolitik dari umbi singkong



Gambar 2. Pertumbuhan koloni bakteri amilolitik pada media selektif amilolitik (A-E) isolat bakteri amilolitik kode S1 (A) isolat bakteri amilolitik kode S2 (B) isolat bakteri amilolitik kode S3 (C) isolat bakteri amilolitik kode S1 (D) isolat bakteri amilolitik kode S1 (E).

Aktivitas enzim amilase pada rentang pH dan suhu

Aktivitas amilolitik disajikan dalam bentuk indeks (Tabel 1). Pada tabel 1 dapat dilihat lima isolat bakteri amilolitik yang

memiliki indeks aktivitas yang berbeda. Data hasil pengukuran indeks aktivitas amilolitik isolat bakteri kemudian dianalisis menggunakan uji ANOVA (*Analysis of variance*) dua arah. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Indeks Aktivitas Amilolitik Isolat Bakteri dari Singkong

Nama Isolat	pH Suhu	pH 7		pH 8			pH 9			pH 10			
		U1	U2	U1	U1	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3	
S1	Suhu ruang	0,31	0,38	0,43	0,43	0,43	0,48	0,43	0,52	0,53	0,55	0,35	0,55
	Suhu 30°C	0,26	0,41	0,39	0,39	0,39	0,59	0,39	0,58	0,53	0,18	0,28	0,36
S2	Suhu ruang	0,22	0,13	0,21	0,21	0,21	0,13	0,21	0,33	0,39	0,21	0,20	0,43
	Suhu 30°C	0,16	0,23	0,20	0,20	0,20	0,22	0,20	0,28	0,34	0,23	0,26	0,29
S3	Suhu ruang	0,29	0,27	0,25	0,25	0,25	0,58	0,25	0,15	0,36	0,28	0,24	0,18
	Suhu 30°C	0,27	0,14	0,21	0,21	0,21	0,42	0,21	0,23	0,12	0,17	0,13	0,19
S4	Suhu ruang	0,46	0,31	0,27	0,27	0,27	0,48	0,27	0,18	0,32	0,27	0,33	0,11
	Suhu 30°C	0,29	0,24	0,24	0,24	0,24	0,50	0,24	0,44	0,60	0,48	0,60	0,69
S5	Suhu ruang	0,19	0,14	0,18	0,18	0,18	0,13	0,18	0,20	0,24	0,19	0,21	0,20
	Suhu 30°C	0,21	0,11	0,43	0,43	0,43	0,18	0,43	0,22	0,24	0,33	0,12	0,18

Keterangan : suhu ruang (24°C – 28°C)

Tabel 2. Uji ANOVA Indeks Aktivitas Amilolitik Isolat Bakteri dari Singkong

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: aktivitas enzim amilase					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1,757 ^a	39	,045	4,468	,000
Intercept	11,013	1	11,013	1091,974	,000
Isolate	,765	4	,191	18,966	,000
Suhu	,001	1	,001	,113	,738
pH	,093	3	,031	3,063	,033
isolat bakteri amilolitik* suhu	,118	4	,029	2,920	,026
isolat bakteri amilolitik* pH	,374	12	,031	3,091	,001
suhu * pH	,063	3	,021	2,092	,108
Isolate bakteri amilolitik * suhu * pH	,343	12	,029	2,836	,003
Error	,807	80	,010		
Total	13,577	120			
Corrected Total	2,564	119			

a. R Squared = ,685 (Adjusted R Squared = ,532)

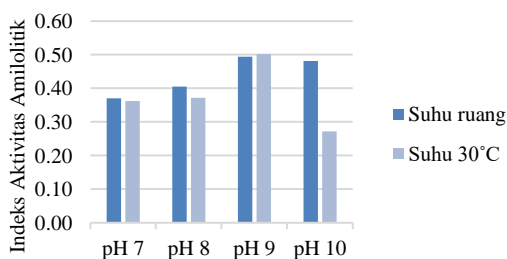
Hasil uji ANOVA dua arah menunjukkan bahwa aktivitas amilolitik dipengaruhi oleh faktor jenis isolat, suhu dan pH dengan nilai signifikan $P < 0,05$. Untuk melihat perlakuan yang terbaik dilakukan uji lanjut untuk membandingkan rata-rata antar perlakuan dengan uji DMRT (lihat tabel 3). Tabel tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri amilolitik dengan kode S4 pada pH 10 disuhu 30 °C merupakan hasil yang berbeda nyata dengan

semua perlakuan yang diuji dengan notasi m (Tabel 3). Aktivitas enzim amilase masing-masing isolat bakteri amilolitik dari singkong yang diinkubasi pada pH 7, pH 8, pH 9, pH 10 pada suhu (ruang dan 30°C) dapat dilihat pada gambar 3, gambar 4, gambar 5, gambar 6, dan gambar 7. Gambar tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas enzim amilase pada masing-masing isolat bakteri amilolitik pada perlakuan tersebut.

Tabel 3. Uji DMRT Indeks Aktivitas Amilolitik Isolat Bakteri dari Singkong

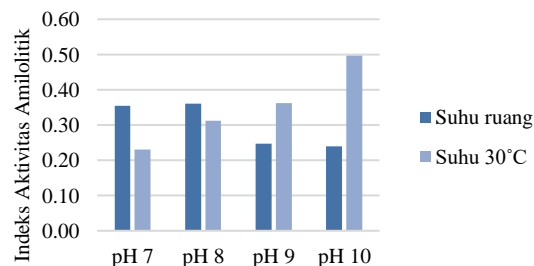
Nama Isolat	pH Suhu	pH 7	pH 8	pH 9	pH 10
		S1	Suhu ruang	0,37 ^{cdefghijkl}	0,41 ^{fghijklm}
	Suhu 30°C	0,36 ^{bcdefghijkl}	0,37 ^{defghijkl}	0,50 ^{lm}	0,27 ^{abcde fgh}
S2	Suhu ruang	0,16 ^a	0,17 ^{abc}	0,31 ^{abcde fghijkl}	0,28 ^{abcde fghij}
	Suhu 30°C	0,18 ^{abcd}	0,44 ^{hijklm}	0,27 ^{abcde fgh}	0,26 ^{abcde fgh}
S3	Suhu ruang	0,30 ^{abcde fghijkl}	0,48 ^{ijklm}	0,25 ^{abcde fgh}	0,23 ^{abcde fgh}
	Suhu 30°C	0,17 ^{abc}	0,45 ^{hijklm}	0,19 ^{abcd}	0,16 ^{ab}
S4	Suhu ruang	0,47 ^{ijklm}	0,39 ^{efghijkl}	0,26 ^{abcde fgh}	0,24 ^{abcde fgh}
	Suhu 30°C	0,28 ^{abcde fghi}	0,38 ^{defghijkl}	0,43 ^{ghijklm}	0,59 ^m
S5	Suhu ruang	0,19 ^{abcde}	0,12 ^a	0,21 ^{abcde f}	0,20 ^{abcde}
	Suhu 30°C	0,15 ^a	0,15 ^a	0,30 ^{abcde fghijk}	0,21 ^{abcde f}

Isolat Bakteri Amilolitik Kode S1



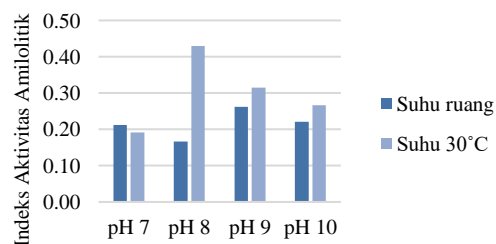
Gambar 3. Uji Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri Amilolitik Kode S1 pada Rentang pH dan Suhu

Isolat Bakteri Amilolitik Kode S4



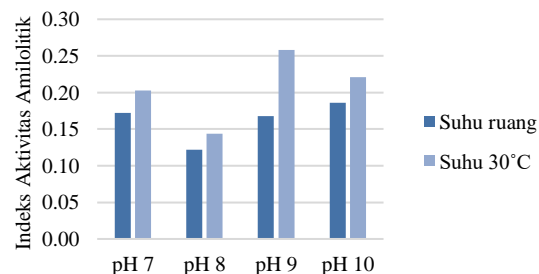
Gambar 6. Uji Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri Amilolitik Kode S4 pada Rentang pH dan Suhu

Isolat Bakteri Amilolitik Kode S2



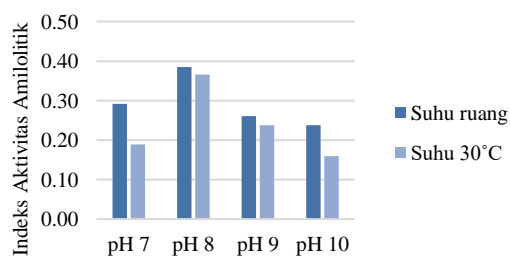
Gambar 4. Uji Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri Amilolitik Kode S2 pada Rentang pH dan Suhu

Isolat Bakteri Amilolitik Kode S5



Gambar 7. Uji Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri Amilolitik Kode S5 pada Rentang pH dan Suhu

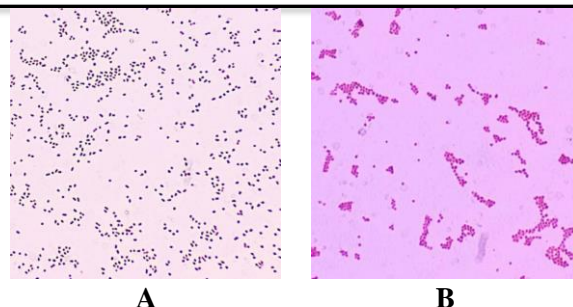
Isolat Bakteri Amilolitik Kode S3



Gambar 5. Uji Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri Amilolitik Kode S3 pada Rentang pH dan Suhu

Karakterisasi Isolat

Identifikasi isolat bakteri amilolitik dilakukan berdasarkan karakteristik koloni dan struktur sel. Karakter koloni meliputi bentuk, tepi, permukaan, dan warna isolat bakteri. Karakter sel bakteri meliputi bentuk sel dan sifat gram. Karakter isolat bakteri amilolitik dapat dilihat pada tabel 4 dan gambar 9.



Gambar 9. Hasil pewarnaan gram bakteri amilolitik (A-B) isolat S1 (cocco bacill, positif), S2 (cocco bacill, positif), dan S4 (cocco bacill, positif) (A) isolat S3 (bacill, negatif) dan S4 (bacill, negatif) (B)

Tabel 4. Karakter isolat bakteri amilolitik

Koloni	Koloni			Warna	Gram	Sel
	Form (Bentuk)	Elevation (Permukaan)	Margins (Tepi)			Bentuk
S1	Irregular	Umbonate	Lobate	Putih	+	Cocco bacill
S2	Irregular	Flat	Lobate	Putih	+	Cocco bacill
S3	Circular	Raised	Entire	Putih	-	Coccus
S4	Circular	Raised	Lobate	Putih	+	Cocco bacill
S5	Circular	Raised	Undulate	Putih	-	Coccus

Pembahasan

Isolat bakteri amilolitik

Salah satu mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim amilase adalah bakteri amilolitik. Bakteri amilolitik merupakan bakteri yang memproduksi enzim amilase (Komari dan Susilo, 2021). Pada penelitian ini diperoleh 5 isolat bakteri amilolitik dari singkong dengan kode isolat S1, S2, S3, S4, dan S5. Aktivitas enzim amilase ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni yang disebabkan karena pati pada medium selektif amilolitik terhidrolisis menjadi glukosa oleh enzim amilase dari bakteri amilolitik yang diisolasi dari singkong. Seperti yang dijelaskan oleh Sukarminah (2010) bahwa reaksi positif hidrolisis amilum pada bakteri ditandai dengan tampaknya area jernih di sekitar pertumbuhan bakteri yang diinokulasi.

Aktivitas enzim amilase pada rentang pH dan suhu

Aktivitas enzim amilase dinyatakan dalam indeks menurut Mubarik., *et al* (2003) yaitu diameter zona bening dikurangi diameter koloni kemudian dibagi diameter koloni. Indeks aktivitas amilolitik kelima isolat bakteri tersebut dianalisis menggunakan Uji ANOVA dua arah. Berdasarkan hasil uji, faktor isolat dan faktor pH berpengaruh signifikan terhadap aktivitas

amilolitik yang diamati. Hal ini berarti bahwa setiap isolat menunjukkan tingkat aktivitas yang berbeda pada pH 7, pH 8, pH 9, pH 10. Sedangkan interaksi isolat, suhu, pH terhadap tingkat aktivitas enzim amilase, menunjukkan adanya interaksi yang signifikan, yang berarti bahwa tingkat aktivitas amilolitik dipengaruhi oleh tiap isolat, suhu dan pH medium.

Uji lanjut DMRT dilakukan untuk melihat tingkat aktivitas terbaik diantara perlakuan tersebut. Hasil Uji DMRT disajikan pada Tabel 3. Berdasarkan uji DMRT aktivitas enzim amilase isolat bakteri amilolitik pada pH 7, pH 8, pH 9, pH 10 disuhu ruang dan 30°C memiliki aktivitas enzim amilase berbeda, hal tersebut juga sesuai dengan gambar 3, gambar 4, gambar 5, gambar 6, dan gambar 7. Isolat bakteri amilolitik dengan kode S1 memiliki aktivitas enzim amilase tertinggi pada pH 9 disuhu 30°C. Isolat bakteri amilolitik dengan kode S2 memiliki aktivitas enzim amilase tertinggi pada pH 8 disuhu 30°C. Isolat bakteri amilolitik dengan kode S3 memiliki aktivitas enzim amilase tertinggi pada pH 8 disuhu ruang. Isolat bakteri amilolitik dengan kode S4 memiliki aktivitas enzim amilase tertinggi pada pH 10 disuhu 30°C. Isolat bakteri amilolitik dengan kode S5 memiliki aktivitas enzim amilase tertinggi pada pH 9 disuhu 30°C.

Yassin *et al.*, (2021) telah mengisolasi bakteri amilolitik dari tanah dan menemukan bahwa pH optimum untuk aktivitas enzim amilase berkisar antara 5 sampai 9 dengan aktivitas puncak pada pH 8. Naiola, (2008) juga telah mengisolasi bakteri amilolitik dari makanan dan menunjukkan bahwa aktivitas enzim amilase optimum pada pH 5-6 dan pada suhu 40-45°C. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim amilase pada masing-masing isolat dari bakteri amilolitik menunjukkan aktivitas yang berbeda dengan optimumnya masing-masing. Ketidaksesuaian pH, baik terlalu tinggi ataupun rendah dapat menyebabkan terjadinya denaturasi dan hal tersebut akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim (Poedjadi dan Supriyanti, 2009).

Dari lima isolat yang diperoleh, isolat dengan kode S4 menunjukkan tingkat aktivitas tertinggi dibanding dengan tingkat aktivitas dari isolat lain pada pH 10 disuhu 30°C. Belum diketahui aktivitas maksimumnya pada suhu tersebut, sehingga berpotensi untuk diuji lebih lanjut pada pH yang lebih tinggi. Pencarian isolat baru sebagai organisme sumber untuk menghasilkan/memproduksi enzim baru guna mendapatkan karakter tertentu yang sesuai dengan aplikasinya menjadi hal menarik untuk dilakukan mengingat kebutuhan akan enzim sangat besar.

Lima isolat amilolitik bakteri kemudian dikarakterisasi yang meliputi karakteristik koloni dan struktur sel. Karakter koloni meliputi bentuk, tepi, permukaan dan warna isolat bakteri. Karakter sel bakteri meliputi bentuk sel dan sifat gram. Morfologi koloni bakteri amilolitik berbeda-beda, ada yang berbentuk bulat dan tidak beraturan. Permukaan koloni bakteri ada yang timbul dan datar. Tepi koloni bakteri ada yang berbentuk bulat dan bergerigi. Struktur sel bakteri amilolitik dilihat dari hasil pewarnaan gram. Isolat bakteri amilolitik yang berhasil diisolasi tiga diantaranya merupakan bakteri gram positif dengan bentuk sel coccus bacil (S1, S2, dan S4) dan dua isolat lainnya merupakan bakteri gram negatif dengan bentuk sel coccus (S3 dan S5).

Aktivitas amilolitik isolat yang diperoleh dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Gunam *et al.*, (2021) yang mengisolasi mikroorganisme amilolitik dari ragi tape dan tape singkong dengan aktivitas enzim amilase sebesar 0,897-0,284; Chalisya *et al.*,

(2020) dari ampas singkong dan diperoleh isolat bakteri amilolitik dengan aktivitas sebesar 0,86 dan Suprpto *et al.*, (2014) mengisolasi bakteri amilolitik dari tepung sagu basah dengan aktivitas enzim amilase sebesar 3,646-0,660. Dengan demikian, maka aktivitas enzim amilase pada isolat bakteri yang telah diisolasi dari singkong perlu ditingkatkan. Obloh (2005) melaporkan bahwa penambahan NaCl, NH₄Cl, FeCl₃, KCl, dan NaNO₃ dapat mengaktifkan enzim amilase. Penelitian selanjutnya akan mempertimbangkan untuk memanipulasi bahan-bahan tersebut untuk meningkatkan aktivitas amilolitik dari isolat yang telah diperoleh. Manipulasi lain seperti konsentrasi substrat, kondisi medium dan faktor lain yang dapat meningkatkan tingkat aktivitas amilolitik isolat.

Kesimpulan

Indeks aktivitas amilolitik diperoleh sebesar 0,12-0,59. Isolat bakteri amilolitik dengan kode S4 memiliki indeks aktivitas amilolitik tertinggi pada inkubasi suhu 30°C dan pada pH 10 dibandingkan dengan isolat yang lain.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Universitas Mataram melalui LPPM yang telah menyediakan dana PNBPN untuk dapat melaksanakan penelitian ini. Ucapan terimakasih kasih ditujukan kepada Bq. Novi Aprilia yang telah banyak membantu dalam pengambilan data; terima kasih disampaikan staf Laboratorium Biologi FKIP Universitas Mataram atas fasilitas yang tersedia sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Referensi

- Ariandi. (2016). Pengenalan Enzim Amilase (Alpha-Amylase) Dan Reaksi Enzimatiknya Menghidrolisis Amilosa Pati Menjadi Glukosa. *Jurnal Dinamika*, 7 (1): 74-82. ISSN: 2087-7889. <https://journal.uncp.ac.id/index.php/dinamika/article/view/613>
- Chalisya, N., Sunarti, T. C., & Meryandini, A. (2020). The Role Of Indigenous

- Cellulolytic And Amylolytic Microbes In Cassava Pulp During The Drying Process. *International Conference on Biosciences*, 457: 1-10. doi:10.1088/1755-1315/457/1/012069
- Chi M. C., Chen Y. H., Wu T. J., Lo H. F., Lin L. L. (2010). Engineering of a truncated α -amylase of *Bacillus sp.* strain TS-23 for the simultaneous improvement of thermal and oxidative stabilities. *J Biosci Bioeng*, 109: 531–538.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.11.012>
- Gunam, I. B. Q., Sujana, I. G. A., Srtiyo, Y., Putra, I. W. W. I., & Suriati, L. (2021). Isolation and selection of amylase-producing microbes isolated from ragi tape and cassava tape available on the markets. *International Conference on Bioscience and Biotechnology*, 913 (1): 1-11. DOI:10.1088/1755-1315/913/1/012041
- Khajuria, R., & Singh, S. (2020). *Microbes in Agriculture and Environmental Development*. New York : Taylor & Francis Group. ISBN: 9781003057819
- Komari, N., & Susilo, T. B. (2021). *Enzimologi*. Banjarbaru : CV Banyubening Cipta Sejahtera. ISBN: 978-623-97027-1-7
- Mubarik, N. R., Damayanti, E., & Listyowati, S. (2003). Isolasi dan Karakterisasi Amilase dari Kapang Alkalotoleran Asal Limbah Cair Tapioka. *Biota*, 8 (1): 1-8.
<https://doi.org/10.24002/biota.v8i1.2786>
- Naiola, E. (2008). Isolasi dan Seleksi Mikroba Amilolitik dari Makanan Fermentasi/Ragi Tapai Gambut di Kalimantan Selatan. *Berkala Penelitian Hayati*, 13 (2): 109-114. <https://doi.org/10.23869/356>
- Oboh, G. (2005). Isolation and characterization of amylase from fermented cassava (*Manihot esculenta Crantz*) waste-water. *African Journal of Biotechnology*, 4 (10): 1117-1123. DOI:10.4314/ajb.v4i10.71347
- Poedjiadi, A., & Supriyanti, T. (2009). *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta : UI-Press. ISBN: 9789794563083
- Rocha, T. D. S., Carneiro, A. P. D. A., & Franco, C. M. L. (2010). Effect of Enzymatic Hydrolysis on Some Physicochemical Properties of Root and Tuber Granular Starches. *Tecnol*, 30 (2): 544-551.
<https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000200039>
- Sukarminah, E., Sumanti D.M., dan Hanidah, I. (2010). *Mikrobiologi Pangan*. Jatinangor : Jurusan Teknologi Industri Pangan Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjadjaran.
- Suprpto., Gunaedi, T., & Rumahorbo, B. T. (2014). Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri Amilolitik dari Tepung Sagu Basah dan Lingkungan Tempat Penyediaannya Secara Tradisional di Jayapura. *Jurnal Biologi Papua*, 6 (2): 47-52. <https://doi.org/10.31957/jbp.457>
- Yassin, S. N., Jiru, T. M., & Indracanti, M. (2021). Screening and Characterization of Thermostable Amylase-Producing Bacteria Isolated from Soil Samples of Afdera, Afar Region, and Molecular Detection of Amylase-Coding Gene. *International Journal of Microbiology*. 1-14. <https://doi.org/10.1155/2021/5592885>