

ISOLASI DAN SELEKSI MIKROBA AMILOLITIK DARI MAKANAN FERMENTASI/RAGI TAPAI GAMBUT DI KALIMANTAN SELATAN

Elidar Naiola

Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi, LIPI

Gd. Herbarium, Cibinong Science Center

Jl. Raya Jakarta-Bogor Km. 46 Cibinong 16911. Tlp (021) 8765066, Fax (021) 8765062.

Email: camplong2003@yahoo.com *Penulis untuk korespondensi

ABSTRACT

Fourteen isolates of microbe which produce amylase were isolated from various fermented foods/ragi tapai at South Kalimantan. Three out of them were produce the higher amylase activities compared to others which shown the clear zone areas after pouring with Iodium solution with relative activities > 3 . From the studies on morphological and physiological characterization, it was indicated that one isolate was belong to yeast, it was namely *Candida* sp (ISO RTG). The amylase activity of *Candida* sp (ISO RTG) was studied in media containing soluble starch, and result showed that the maximum activity of amylase reach after 3 days, it was 1.85×10^2 U/ml (one unit activity is define as μmol of glucose produce per ml per minute). In medium content rice flour as a carbohydrate sources, the maximum activity was 1.91×10^2 U/ml. The optimum temperature for enzyme reaction was at $40\text{--}45^\circ\text{C}$ while optimum pH was at pH $5.0\text{--}6.0$ and the enzyme was relatively stable under such conditions.

Key words: *microbe, characterization, activity, amylase, carbohydrate*

PENGANTAR

Di Indonesia terdapat bermacam-macam produk makanan/minuman fermentasi tradisional yang merupakan hasil aktivitas enzim dari mikroba, di antaranya tempe, tapai, taoco, dan terasi. Proses fermentasi yang dikembangkan umumnya menggunakan karbohidrat sebagai bahan dasarnya, karena karbohidrat merupakan produk hasil pertanian yang banyak tersedia di Indonesia. Dari beberapa produk makanan fermentasi tersebut, tapai merupakan salah produk yang sudah cukup terkenal, yang dibuat dengan menggunakan ragi sebagai *starter*. Mikroba yang berperan dalam proses pembuatan tapai terdiri atas beberapa jenis, di antaranya kapang (*Rhizopus* sp., *Mucor* sp.) dan khamir (*Saccharomycopsis*, *Saccharomyces* dan *Candida*), Hadisepoetro *et al.*, 1979.

Produk fermentasi tradisional atau pun substrat alami lainnya merupakan sumber utama untuk mendapatkan mikroba berpotensi. Mikroba pada substrat alami tersebut dapat diisolasi serta diskroning kemampuan enzimnya. Isolat-isolat terseleksi dapat dimanfaatkan secara langsung untuk meningkatkan kualitas produk fermentasi tradisional asal mikroba tersebut, atau dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan industri lainnya, di antaranya sebagai penghasil enzim. Enzim dapat diproduksi dengan cara menumbuhkan sel mikroba pada media yang sesuai.

Amilase adalah kelompok enzim yang dapat memecah pati menjadi gula-gula sederhana sehingga banyak digunakan dalam berbagai industri seperti industri tekstil,

deterjen dan gula cair nontebu. Enzim amilase dibagi menjadi 2 kelompok besar, yaitu “*exo acting amylase*” dan “*endo acting amylase*”. Alfa-amilase adalah “*endo-acting amylase*” yang dapat memecah ikatan α -1,4 glikosida secara acak dari tengah atau bagian dalam molekul amilosa atau amilopektin dan glikogen, menghasilkan glukosa, maltosa dan α -limit dekstrin. Amiloglukosidase. dapat memecah ikatan α -1,4 glikosida secara berurutan dari ujung nonreduksi rantai amilosa atau amilopektin dan glikogen dengan menghasilkan β -D-glukosa. Enzim ini juga menghidrolisis ikatan α -1,6 dan α -1-3.

Beberapa enzim komersial telah diproduksi dari mikroba antara lain enzim amilase yang dihasilkan oleh kelompok bakteri dan kapang. Dari kelompok bakteri dihasilkan oleh *Bacillus* spp (*B. substilis*, *B. mycoides*, *B. stearothermophilus*, *B. cereus* dan *B. polymixa*), sedang dari kelompok kapang oleh *Aspergillus* spp. dan *Rhizopus* spp. (Fogarty dan Kelly, 1980). Dari kelompok khamir hanya sedikit sekali diketahui yang dapat menghasilkan amilase, di antaranya *Endomyces* sp (Hattori, 1962) dan *Saccharomycopsis fibuligera* (Futatsugi, *et al.*, 1980, Hadisepoetro *et al.*, 1979 dan Wickerham *et al.*, 1944). Hingga saat ini kebutuhan akan enzim amilase di Indonesia belum dapat terpenuhi sehingga masih harus diimpor dari luar negeri.

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan mikroba lokal yang mempunyai potensi sebagai penghasil amilase. Mikroba yang terseleksi akan dipelajari beberapa karakternya sehingga diharapkan akan diperoleh biakan mikroba lokal

penghasil amilase yang dapat digunakan untuk berbagai keperluan sesuai karakter yang dimilikinya.

BAHAN DAN CARA KERJA

Mikroba

Mikroba yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari produk pangan/minuman fermentasi, di antaranya tempe, taoco, terasi, tapai dan ragi tapai (*starter* untuk pembuatan tapai) yang berasal dari Kalimantan Selatan.

Media

Isolasi dan seleksi mikroba penghasil enzim amilase dilakukan dalam media YPSs dengan komposisi: 0,2% ekstrak khamir, 0,5% pepton, 0,3% KH_2PO_4 , 0,05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 20 g agar dan 2% pati terlarut sebagai sumber C (Mangunwardoyo *et al.*, 1982). Selanjutnya isolat-isolat terseleksi dipelihara dalam media PDA yang diperoleh dari Difco. Ltd atau Taoge Agar yang dipersiapkan dengan komposisi, 60 g gula pasir dan 25 g agar dalam satu liter ekstrak taoge. Produksi enzim amilase kasar dilakukan dalam media yang sama, yaitu YPSs cair.

Bahan lainnya

Beberapa jenis tepung digunakan untuk melihat pengaruh berbagai sumber karbon terhadap aktivitas enzim amilase isolat terseleksi adalah tepung beras, tepung ketan, tepung singkong dan tepung jagung. Tepung-tepung tersebut dipersiapkan dari bahan dasar yang sebelumnya dicuci, dikeringkan dalam oven suhu 104°C selama kurang lebih 12 jam selanjutnya digiling dan diayak.

Isolasi dan seleksi

Isolasi dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml suspensi ke dalam medium selektif, yaitu media agar pati mengandung 2% pati terlarut (YPSs cair). Setelah diinkubasi selama 2–5 hari pada suhu kamar, yaitu sampai terlihat adanya pertumbuhan dari mikroba, selanjutnya diambil beberapa ml untuk ditumbuhkan pada permukaan media YPSs padat. Setiap isolat murni dipelihara dalam media yang sesuai. Seleksi kemampuan amilase dari masing-masing isolat dilakukan secara kualitatif, semi-kuantitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif dan semi-kuantitatif kemampuan menghasilkan amilase dilakukan dengan cara menumbuhkan satu *ose* masing-masing isolat yang berumur 3 hari pada permukaan media agar YPSs, kemudian inkubasi selama 7 hari pada suhu kamar. Adanya aktivitas amilase terlihat dengan adanya zona bening di sekitar koloni setelah dituang dengan larutan iodine (1g I_2 , 2 g KJ/300 ml akuades). Hasil bagi antara diameter zona

bening yang terdapat di sekitar koloni dan diameter koloni dinyatakan sebagai kekuatan enzim secara relatif.

Produksi enzim amilase kasar

Enzim amilase kasar diproduksi dalam media YPSs cair. Sebanyak 1% suspensi dengan kepekatan optik 0,5 pada panjang gelombang 630 nm dari isolat yang berumur 3–5 hari diinokulasikan ke dalam 20 ml medium produksi, lalu inkubasi selama 3 hari di atas alat pengocok dengan kecepatan 130 rpm. Kultur selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan filtrat (larutan enzim) dari partikel-partikel substrat. Filtrat yang diperoleh berupa enzim kasar diukur aktivitas amilasena.

Pengujian aktivitas

Aktivitas amilase diuji dengan cara mengukur jumlah gula pereduksi yang dihasilkan oleh aktivitas hidrolisis enzim dalam substrat pati. Prosedur pengujian adalah sebagai berikut; setengah ml larutan enzim ditambahkan ke dalam 0,5 ml substrat (2% pati terlarut dalam 0,05 M larutan buffer fosfat, pH 7), kemudian diinkubasi pada suhu 40°C selama 10 menit. Produk yang terbentuk berupa gula produksi (glukosa) diukur dengan cara yang dilakukan Miller (1959). Satu unit aktivitas amilase adalah banyaknya enzim yang dapat menghasilkan satu mikrogram glukosa per menit per ml larutan enzim pada kondisi pengujian yang dilakukan (Khinoshita *et al.*, 1982 dan Gangrong *et al.*, 1990).

Penentuan kondisi optimum aktivitas amilase kasar

Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim dilakukan dengan cara mengukur aktivitas enzim amilase menurut cara yang sama, tetapi pengujian dilakukan dalam larutan buffer pada kisaran pH 4–9. Larutan buffer yang digunakan adalah 0,05 M buffer asetat (pH 4–6), 0,05 M buffer fosfat (pH 6–8) dan 0,05 M buffer Atkins & Pantin (pH 8–9).

Kestabilan enzim amilase terhadap pH ditentukan dengan cara menginkubasi larutan enzim selama 1 jam dalam larutan buffer yang sama dengan yang digunakan sebelumnya (0,01 M, pH 4–9). Sebanyak 0,25 ml larutan enzim ditambahkan kedalam 0,25 buffer (0,01 M, pH 4–9), kemudian inkubasikan pada suhu 4°C selama 1 jam, selanjutnya ditambah dengan 0,5 ml substrat (2% pati terlarut dalam 0,05 M buffer fosfat, pH 7). Aktivitas enzim amilase tersisa diuji sesuai dengan standar pengujian yang dilakukan sebelumnya dan nilai terhadap aktivitas enzim tanpa perlakuan dinyatakan dalam persen.

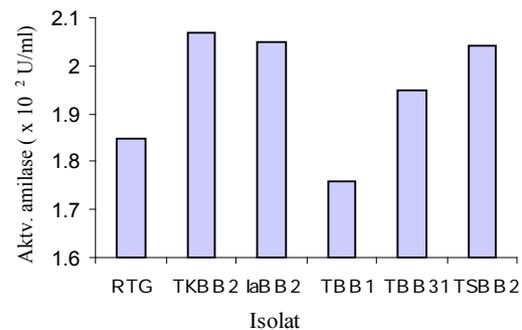
Pengaruh suhu terhadap enzim amilase diuji dengan cara mengukur aktivitasnya pada berbagai kisaran suhu antara 35–70° C. Stabilitas enzim amilase terhadap suhu diukur dengan cara menginkubasikan larutan enzim selama 10 menit pada suhu yang bervariasi (35–70° C) segera setelah inkubasi, larutan enzim didinginkan dengan cepat dan aktivitas enzim amilase yang tersisa diukur dengan cara yang sama lalu dibandingkan terhadap aktivitas enzim tanpa perlakuan dan nilainya dinyatakan dalam persen.

HASIL

Dari hasil isolasi telah diperoleh sebanyak 15 isolat yang mempunyai kemampuan amilolitik cukup baik. Berdasarkan pengamatan secara morfologi, mikroba yang berhasil diisolasi dari produk makanan fermentasi di Kalimantan Selatan, terutama yang berasal dari tapai dan ragi tapai terdiri atas kapang, khamir dan bakteri. Hasil penghitungan aktivitas amilase secara relatif ditampilkan pada Tabel 1.

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa aktivitas amilase yang cukup tinggi dihasilkan oleh isolat yang berasal dari tapai maupun ragi yang biasa digunakan untuk pembuatan tapai. Tapai merupakan salah satu produk makanan fermentasi tradisional yang dibuat dengan menggunakan ragi sebagai starter. Mikroba yang berperan dalam proses pembuatan tapai terdiri atas beberapa jenis, di antaranya kapang (*Rhizopus sp.*, *Mucor sp.*) dan khamir *Saccharomycopsis*, *Saccharomyces* dan *Candida*

(Hadisepoetro *et al.*, 1979). Khamir yang terdapat dalam ragi memiliki aktivitas α amilase cukup tinggi dan glukamilase yang lemah (Wickerham *et al.*, 1944). Selanjutnya 6 isolat yang secara kualitatif mempunyai aktivitas amilase cukup baik diuji lebih lanjut secara kuantitatif. Aktivitas amilase dari enzim kasar yang dihasilkan oleh 6 isolat ditunjukkan dengan besarnya jumlah gula pereduksi yang terbentuk setelah isolat ditumbuhkan dalam media mengandung pati terlarut sebagai sumber C (inkubasi dilakukan di atas alat pengocok dengan kecepatan 130 rpm, pada suhu kamar selama 3 hari).



Gambar 1. Aktivitas amilase beberapa isolat terseleksi

Isolat TKBB2, IaBB2 dan TSBB2 (ketiga isolat ini termasuk kelompok kapang) memiliki aktivitas amilase yang tidak terlalu berbeda, masing-masingnya sebesar $2,07 \times 10^2$ U/ml, $2,05 \times 10^2$ U/ml dan $2,04 \times 10^2$ U/ml. Isolat RTG memiliki aktivitas amilase yang sedikit lebih rendah

Tabel 1. Hasil uji aktivitas amilase secara kualitatif dan semikuantitatif

Isolat	Uji kualitatif	Nilai relatif aktivitas amilase (\emptyset zona bening/ \emptyset koloni)	Sumber isolat
TBB1	+++	2–3	Terasi Banjarbaru
TBB2	++	≤ 2	Terasi Banjarbaru
TBB3	++	≤ 2	Terasi Banjarbaru
TBB31	+++	2–3	Terasi Banjarbaru
RTG	+++	> 3	Ragi tapai Gambut
TKBB1	++	≤ 2	Tapai ketan Banjarbaru
TKBB2	+++	> 3	Tapai ketan Banjarbaru
TSBB2	+++	2–3	Tapai singkong Banjarbaru
TSBB3	++	≤ 2	Tapai singkong Banjarbaru
IaBB1	++	≤ 2	Ikan asin Banjarbaru
IaBB2	+++	≤ 3	Ikan asin Banjarbaru
TeBB	++	≤ 2	Tempe Banjarbaru
ToBB1	++	≤ 2	Taoco Banjarbaru
ToBB2	++	≤ 2	Taoco Banjarbaru

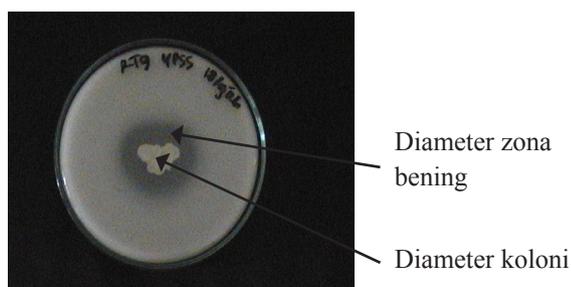
+++ : Aktivitas amilase baik

++ : Aktivitas amilase sedang

yaitu $1,85 \times 10^2$ U/ml. Meskipun tidak memiliki aktivitas amilase yang tinggi, kemampuan amilase dari isolat RTG cukup menarik untuk diteliti, karena isolat RTG termasuk kelompok khamir yang berdasarkan sifat fisiologinya (tes asimilasi terhadap berbagai karbon dan nitrogen) serta kemampuan fermentasi glukosa menurut Barnett., 1990 diidentifikasi sebagai genus *Candida* sp. Isolat khamir penghasil amilase keberadaannya sangat berarti dalam industri minuman beralkohol.

Aktivitas Amilase Isolat RTG

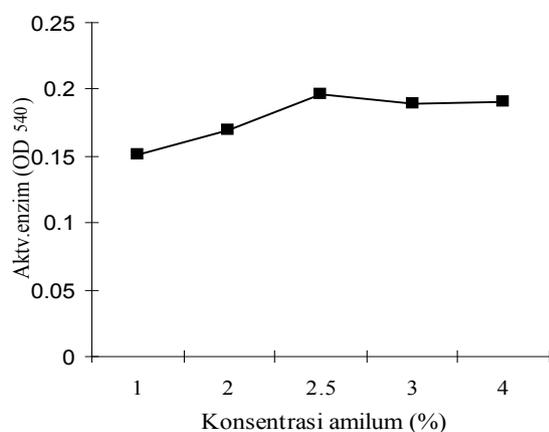
Kemampuan menghasilkan amilase secara kualitatif isolat RTG ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Aktivitas semilase secara kualitatif dari Isolat RTG

Pengaruh Berbagai Konsentrasi Amilum terhadap Aktivitas Amilase Isolat RTG

Berbagai macam konsentrasi amilum yang baik untuk digunakan sebagai media produksi enzim amilase isolat RTG ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh berbagai konsentrasi amilum terhadap aktivitas amilase Isolat RTG

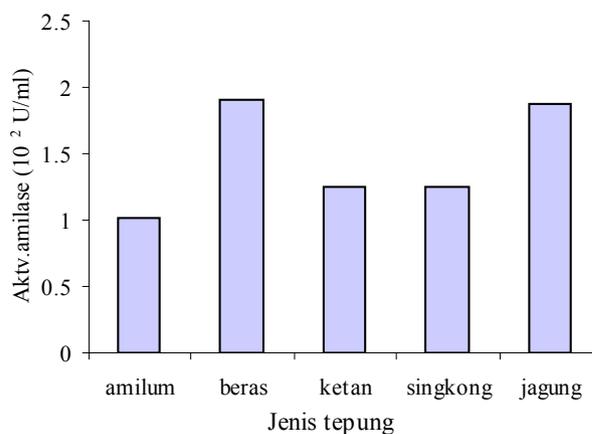
Data pada Gambar 3 menunjukkan bahwa konsentrasi amilum yang baik digunakan untuk produksi enzim amilase

oleh isolat RTG adalah sekitar 2,5% karena pada media produksi yang mengandung 2,5% amilum, aktivitas amilase tertinggi dicapai 3 hari setelah inkubasi (inkubasi dilakukan pada suhu kamar di atas alat pengocok kecepatan 130 rpm). Apabila konsentrasi amilum dinaikkan sampai 4%, aktivitas amilase yang dihasilkan hampir sama (tidak berbeda nyata) dengan yang dihasilkan pada media mengandung 2,5% amilum. Pati yang tersedia dalam medium belum habis sampai hari ke-3, yang ditandai dengan reaksi yang positif terhadap larutan Iodium.

Kemampuan mikroba dalam menghasilkan enzim selain oleh mikroba yang digunakan juga sangat ditentukan oleh media produksi yang digunakan. Media produksi untuk menghasilkan enzim harus memenuhi kebutuhan dasar dalam menghasilkan sel serta produk. Unsur utama yang paling dibutuhkan adalah nitrogen dan karbon. Pengaruh penggunaan berbagai sumber karbon terhadap produksi amilase isolat RTG ditunjukkan pada Gambar 4.

Pengaruh Berbagai Sumber Jenis Tepung terhadap Aktivitas Amilase Isolat RTG

Berbagai jenis tepung pada media produksi selain berfungsi sebagai sumber C, juga akan merupakan induktor untuk sekresi amilase.

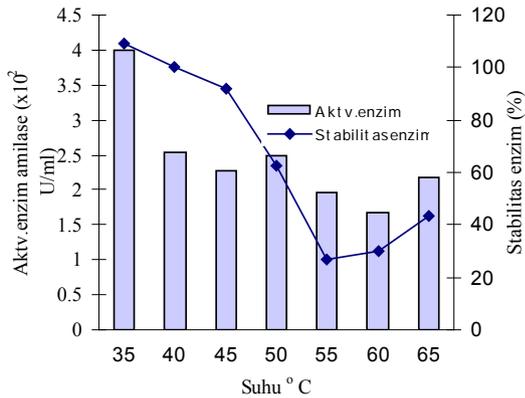


Gambar 4. Pengaruh berbagai jenis tepung terhadap aktivitas amilase isolat RTG

Data pada Gambar 4 menunjukkan bahwa berbagai jenis tepung komersial yang digunakan dapat sebagai sumber karbon untuk produksi enzim amilase isolat RTG. Aktivitas amilase yang cukup tinggi dihasilkan dalam media yang produksi yang menggunakan tepung beras dan tepung jagung. Dalam media mengandung tepung beras dan tepung jagung aktivitas amilase yang dihasilkan masing-masing $1,91 \times 10^2$ U/ml dan $1,87 \times 10^2$ U/ml. Pati yang

tersedia dalam media telah habis terhidrolisis menjadi gula pereduksi yang ditunjukkan dengan reaksi negatif terhadap larutan iodium. Dalam media mengandung tepung ketan dan tepung singkong aktivitas amilase yang dihasilkan hampir sama, yaitu sekitar $1,25 \times 10^2$ U/ml.

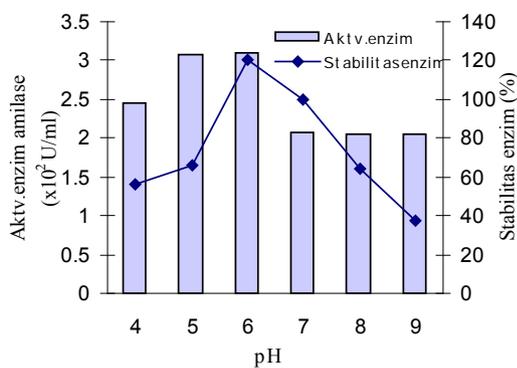
Hasil penentuan kondisi optimum aktivitas amilase kasar isolat RTG



Gambar 5. Pengaruh suhu terhadap aktivitas dan stabilitas enzim amilase isolat RTG

Data pada Gambar 5 menunjukkan bahwa aktivitas amilase tertinggi isolat RTG yaitu sebesar $3,99 \times 10^2$ U/ml dicapai apabila reaksi enzimatik dilakukan pada suhu 35° C, selanjutnya aktivitas tersebut menurun sejalan dengan meningkatnya suhu reaksi enzimatik hingga 60° C.

Enzim amilase kelihatannya stabil pada kisaran suhu 40–50° C, dan kehilangan sebagian besar aktivitasnya pada suhu 55–60° C.



Gambar 6. Pengaruh pH terhadap aktivitas dan stabilitas enzim amilase isolat RTG

Pengaruh pH terhadap aktivitas dan stabilitas amilase kasar RTG diuji dengan mereaksikan larutan enzim pada berbagai pH selama 1 jam. Data pada Gambar 6 menunjukkan bahwa pada kisaran pH 5,0–6,0 aktivitas

amilase mencapai nilai tertinggi ($3,07 \times 3,09 \times 10^2$ U/ml). Enzim amilase kelihatannya relatif kurang stabil terhadap perubahan pH.

PEMBAHASAN

Produk makanan/minuman fermentasi tradisional yang merupakan hasil aktivitas enzim dari mikroba banyak dijumpai di beberapa daerah di Indonesia. Di Banjarbaru, Kalimantan Selatan terdapat tempe, tapai, taoco, terasi dan lain-lain. Di antara beberapa produk makanan fermentasi tersebut, mikroba amilolitik cukup banyak dijumpai pada produk tapai atau pun ragi yang biasa digunakan untuk pembuatan tapai. Menurut Hadisepoetro *et al.*, 1979, mikroba yang berperan dalam proses pembuatan tapai terdiri atas beberapa jenis, di antaranya kapang (*Rhizopus sp.*, *Mucor sp.*) dan khamir (*Saccharomycopsis sp.*, *Saccharomyces sp.*, dan *Candida sp.*). Khamir yang terdapat dalam ragi tapai dilaporkan memiliki aktivitas amilolitik yang lemah.

Aktivitas relatif amilase adalah besarnya perbandingan antara diameter zona bening dengan diameter zona pertumbuhan koloni yang ditumbuhkan pada media agar yang mengandung 1% pati sebagai sumber karbon. Zona bening tersebut menandakan bahwa pati yang terdapat dalam media telah diubah menjadi gula sederhana yang terlihat setelah permukaan media yang disiram dengan larutan iodium dan disimpan dalam lemari pendingin selama satu hari. Di sekitar koloni yang tidak menghasilkan amilase akan terbentuk warna biru akibat reaksi amilum dengan iodium. Aktivitas relatif amilase isolat RTG cukup tinggi (Gambar 2).

Salah satu faktor yang sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim adalah suhu reaksi enzimatik. Dalam penelitian ini aktivitas amilase isolat RTG mencapai nilai tertinggi pada suhu reaksi 35° C, dan pada suhu reaksi yang lebih tinggi aktivitas amilase mengalami penurunan. Enzim relatif stabil pada kisaran suhu 40–50° C. Setelah diinkubasikan pada suhu 55° C selama 1 jam enzim masih menyisakan sekitar 50% dari aktivitas awalnya, sedang inkubasi pada suhu 60–65° C aktivitas amilase tersisa adalah sekitar 40%. Menurunnya aktivitas amilase pada suhu tersebut kemungkinan disebabkan energi kinetika molekul-molekul enzim telah melampaui penghalang energi yang diperlukan untuk memecah ikatan sekunder dalam mempertahankan kondisi katalitik enzim, sehingga mengakibatkan menurunnya aktivitas biologis enzim (Harper, 1979).

Pengaruh pH terhadap aktivitas dan stabilitas amilase isolat RTG diperlihatkan dalam Gambar 6. Aktivitas

amilase cukup tinggi pada kisaran pH 5,0–6,0. Dengan semakin meningkatnya pH aktivitas amilase cenderung menurun. Menurunnya aktivitas enzim karena pengaruh perubahan pH yang kemungkinan disebabkan oleh karena berubahnya keadaan ion enzim dan muatan pada residu asam amino, yang berfungsi untuk mengikat substrat. Menurut Mangunwardoyo *et al.*, (1982) pada kisaran pH tertentu aktivitas enzim dapat hilang karena protein enzim mengalami denaturasi karena berubahnya konformasi rantai polipeptida.

Pemilihan sumber karbon yang sesuai sangat penting artinya untuk produksi amilase. Di samping sebagai sumber karbon, amilum juga merupakan induktor untuk sekresi amilase. Dari beberapa sumber karbohidrat yang digunakan, tepung beras merupakan sumber karbon yang paling baik digunakan untuk produksi amilase isolat RTG. Aktivitas amilase paling rendah diperoleh apabila ditumbuhkan pada media yang menggunakan amilum. Perbedaan aktivitas amilase yang dihasilkan pada berbagai jenis tepung kemungkinan disebabkan oleh perbedaan komposisi amilosa dan amilopektin yang menyusun pati setiap jenis tepung. Menurut Bukle *et al.*, (1985) komponen utama beras terdiri atas karbohidrat (terutama pati, yaitu sekitar 80%), protein 15%, lemak, vitamin, mineral, serat kasar, abu, air serta beberapa unsur lainnya. Pati dari tepung beras mengandung 11% amilopektin dan 89% amilosa. Aktivitas amilase yang dihasilkan mikroba dalam substrat mengandung tepung beras dapat menginduksi pembentukan enzim amilase. Selanjutnya menurut Suhartono (1989) amilosa dan amilopektin memiliki sifat yang berbeda dalam ukuran molekul dan solubilitasnya dalam air. Amilosa merupakan polimer rantai lurus dan disebut “soluble starch” yang tersusun atas residu glukosa yang saling berikatan melalui ikatan α -1,4 dan bersifat sedikit larut dalam air. Amilopektin merupakan polimer dari residu glukosa, memiliki rantai cabang yang berikatan melalui ikatan α -1,6 yang bersifat larut dalam air. Besarnya aktivitas amilase sebanding dengan laju hidrolisis pati.

Dari beberapa produk makanan fermentasi di Banjarbaru-Banjarmasin, Kalimantan Selatan telah diisolasi sebanyak empat belas isolat yang memiliki aktivitas amilase cukup baik dengan aktivitas relatif berkisar antara 2 s/d > 3. Aktivitas amilase yang cukup tinggi dihasilkan oleh isolat yang berasal dari tapai, salah satu di antaranya yang dihasilkan oleh isolat RTG. Dalam medium yang mengandung amilum sebagai sumber karbohidrat aktivitas amilase tertinggi dihasilkan oleh isolat RTG setelah 3 hari inkubasi, yaitu sebesar $1,85 \times 10^2$ U/ml. Suhu optimum untuk berlansungnya reaksi enzimatik adalah pada kisaran

suhu 40–45° C dan pH 5,0–6,0. Tepung beras merupakan sumber karbohidrat yang baik digunakan sebagai media produksi amilase isolat RTG. Salah satu enzim amilase yang dihasilkan isolat RTG adalah amiloglukosidase, karena pati yang terdapat pada media dihidrolisis menjadi gula glukosa.

KEPUSTAKAAN

- Barnett JA, 1990. *Yeast Characteristic and Identification*. Cambridge University press, London, UK.
- Bukle KA, Edwards RA, Fleet GH dan Wootton M, 1985. *Ilmu pangan*. Penerjemah Hari Purnomo Adiono, Universitas Indonesia (UI-press).
- Fogarty WM dan Kelly T, 1980. Amylases, amyloglucosidases and related gluconases in economy microbiology: *Microbial enzymes and bioconversions* vol. 5. Ed. by. AH Rose. Academic Press, London.
- Futatsugi M, Ogawa T dan Fukuda H, 1980. Scale-up of glucoamilase production by *Saccharomycopsis fibuligera*. *J.Ferment.Bioeng.* 76: 419–422.
- Gangrong X, Lee S, Takagi M, Morikawa M dan Inagaki T, 1990. Cloning in *Bacillus subtilis* of thermostable and alkalophilic amylase from a thermophilic *Bacillus* sp. *Annual report of IC. Biotech*, Osaka University, Osaka. Japan.
- Hadisepoetro ES, Takada N dan Oshima Y, 1979. Microflora in ragi and usar. *Journal of Fermentation Technology* 77: 251–159.
- Harper HA, Rodwel VM dan Mayes PA, 1979. *Review of physiological chemistry*. Lange Medical Publication, California.
- Hattori Y, 1962. Studies of amylolytic enzyme produced by *Endomyces* sp. 1. Production of extracellular amylase by *Endomyces* sp. *Agric. Biol. Chem* 25: 737–743.
- Kinoshita S, Sangpituk V, Rodphaya D, Nilubol N, and Taguchi H, 1982. Hydrolysis of Starch by Immobilized Cells and by Enzymes of *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus* sp. *IC Biotech*. Vol. 5.
- Mangunwardoyo W, Takano M dan Shibasaki I, 1982. Preservation and Utilization of a concentrated seed culture for bacterial amylase production. *Annual reports of ICME*, Vol. 5, Osaka University, Osaka, Japan.
- Miller GL, 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31: 426–428.
- Suhartono MT, 1989. Enzim dan Bioteknologi. PAU-IPB, Bogor.
- Wickerham LJ, Lockwood LB, Pettijohn OG and Ward GE, 1944. Starch hydrolysis and fermentatiopn by the yeast *Endomycopsis Fubuligera*. *Jornal of Bacteriology*. 48: 413–427.

Reviewer: **Dr. Abinawanto**