



Glucoamylase Enzyme Production by *Aspergillus niger* Fermentation and Cassava Starch as Substrate

Sri Wahyu Murni, Anggita Abdi Buliandari dan Meir Diana Kusumawati

Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri UPN "Veteran" Yogyakarta
Jl SWK 104 Lingkar Utara Condongcatur Yogyakarta telp. 0274 486889

Abstract

*Glucoamylase enzyme is widely used in many industries. In Indonesia, this enzyme is needed increasingly for recent years and nowadays still imported with expensive cost. To overcome this problem, an alternative cheaper process for enzyme production was developed. It was conducted by an experimental investigation via batch fermentation by *Aspergillus niger* fungi with cassava starch as substrate. The fermentation broth in a 500-ml flask was incubated and shaken at room temperature and the substrate was varied at different concentrations. For several certain time interval, the broth was sampled and therefore its enzyme activity, dry cell weight, and remaining substrate concentration was analyzed.*

This research showed that the optimum condition for fermentation was obtained at substrate concentration of 9% and initial pH of 6. At this condition, the fermentation after 7 days produced glucoamylase enzyme with activity of 0.1355 Unit/ml. In addition, this experiment resulted in the kinetics parameters including saturation constant (K_S) of 0.287 g/100 ml, maximum growth rate (μ_{max}) of 4.127day⁻¹, and enzyme-to-substrate productivity ($Y_{P/S}$) of 0.3826 Unit/g starch.

*Keywords: Glucoamylase enzyme, cassava starch, *Aspergillus niger*, enzyme activity*

1. Pendahuluan

Indonesia kaya hasil pertanian sumber karbohidrat salah satunya yaitu ubi kayu. Tanaman ini ketersediaannya cukup banyak dan mudah dibudidayakan. Ubi kayu merupakan bahan baku dalam pembuatan tepung tapioka. Kandungan utama pada tepung tapioka adalah pati. Pati merupakan sumber potensial sebagai sumber karbon untuk proses fermentasi. Salah satunya adalah fermentasi produksi enzim glukoamilase.

Enzim glukoamilase digunakan di berbagai industri seperti industri beer, sirup jagung, sirup glukosa dari tapioka, dan minuman dari cuka yang memiliki kandungan alkohol 20 – 60 % (James, 1996).

Enzim glukoamilase tidak ditemukan dalam tumbuhan maupun hewan, tetapi diproduksi dari fermentasi dengan menggunakan mikroba. Salah satu mikroba penghasil enzim glukoamilase adalah *Aspergillus niger*.

Penelitian ini sebagai upaya untuk memperluas pemanfaatan dan menaikkan nilai ekonomi pada tepung tapioka yaitu sebagai substrat dalam produksi enzim glukoamilase yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan kebutuhannya selalu meningkat setiap tahun. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi operasi untuk produksi enzim glukoamilase yang dihasilkan dari penanaman *Aspergillus niger* pada

substrat pati tapioka serta menentukan parameter kinetiknya.

2. Tinjauan Pustaka

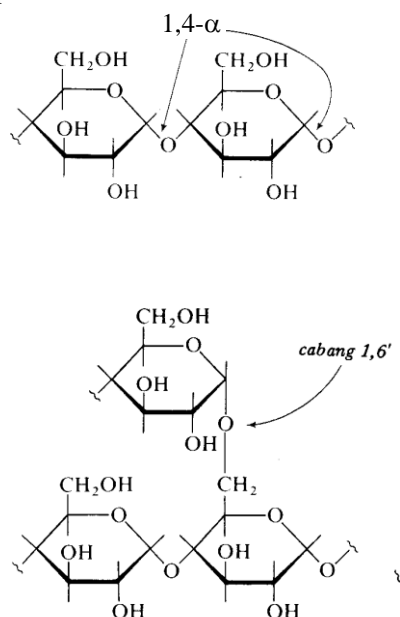
Enzim

Enzim adalah protein yang memiliki aktivitas katalitik. Enzim memiliki tenaga katalitik yang luar biasa, dapat dikatakan jauh lebih besar dari katalisator sintetik. Aktivitas katalitiknya bergantung kepada integritas strukturnya sebagai protein. Enzim pada umumnya memiliki berat molekul yang besar, kira-kira 12.000 sampai lebih dari satu juta. Enzim mempercepat reaksi kimiawi spesifik tanpa pembentukan produk samping. Enzim bekerja sangat spesifik, hal ini terbukti bahwa suatu enzim hanya dapat mengkatalisa beberapa reaksi, malahan seringkali hanya satu reaksi. Enzim meningkatkan kecepatan reaksi kimia dengan menurunkan energi aktivasinya (Lehninger, 1982).

Enzim Glukoamilase

Enzim glukoamilase hanya dihasilkan pada penanaman mikroba dalam media yang cocok dengan kondisi lingkungan yang telah diatur (Kirk Othmer, 1965); enzim ini tidak ditemukan dalam tumbuhan maupun hewan.

Enzim glukoamilase dapat memecah polisakarida (pati, glikogen, dan lain - lain) pada ikatan 1,4- α dan 1,6' . Gambar 1. memperlihatkan ikatan 1,4- α dan 1,6' pada pati.



Gambar 1. Ikatan 1,4- α dan ikatan 1,6' dalam pati

Mikroba Penghasil Enzim Glukoamilase

Mikroba penghasil enzim glukoamilase antara lain dari genus *Aspergillus* meliputi *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus batatae*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus phoenicis*, *Aspergillus usamilli*; genus *Rhizopus* meliputi *Rhizopus delemar* *Rhizopus javanicus*, *Rhizopus niveus*. Juga oleh mikroba *Penicillium Sp.*, *Endomycopsis capsularis*, *Endomycopsis fibulinger* dan *Saccharomyces diastaticus*.

Enzim glukoamilase kebanyakan dihasilkan genus *Aspergillus* yaitu pada spesies *Aspergillus oryzae* (Udiyono, 1987) dan *Aspergillus niger* (Li dkk, 1960). Kemampuan *Aspergillus niger* pada proses fermentasi untuk menghasilkan enzim glukoamilase lebih baik dari pada *Aspergillus oryzae*. Kelompok *Aspergillus niger* memberikan hasil yang paling optimal pada produksi enzim baik skala laboratorium maupun industri, menghasilkan yield yang tinggi, memiliki karakteristik biokimia yang seragam, serta mudah dalam pemeliharaan (Prescott and Dunn, 1959).

Seperti pada umumnya jamur, *Aspergillus* memerlukan berbagai elemen penting untuk pertumbuhannya seperti nitrogen, karbon, hidrogen, oksigen, sulfur, potasium, fosfor, magnesium, dan lain-lain. Selain elemen-elemen tersebut untuk *Aspergillus niger* memerlukan zat besi, timah, tembaga, mangan, molybdenum, dan gallium dengan komposisi yang sedikit sebagai suplemen pertumbuhannya. Sebagai media pertumbuhannya

adalah medium dengan kandungan tepung dan gula yang tepat, sumber nitrogen garam sebagai penyedia mineral.

Produksi enzim baik dalam skala laboratorium maupun komersial, umumnya menggunakan *Aspergillus niger*. (Prescott and Dunn, 1959).

Fermentasi untuk Produksi Enzim

Fermentasi untuk produksi enzim glukosmilase dapat dilakukan dengan teknik kultur padat maupun kultur cair. Fermentasi kultur padat memiliki kelemahan yaitu mikroba yang tumbuh pada media jumlahnya terbatas sehingga kebutuhan inokulum cukup besar dan pengaturan kondisi proses sulit dilakukan. Fermentasi kultur cair berlaku sebaliknya.

Dalam fermentasi kultur cair, faktor-faktor yang harus diperhatikan antara lain: pemilihan mikroba, optimasi parameter proses, pengetahuan tentang tahap pertumbuhan dan sintesa enzim, penambahan inducer dan penghilangan represor.

Pada penelitian ini dipilih *Aspergillus niger* yang merupakan mikroba dengan sifat mudah pemeliharaan, serta merupakan spesies yang telah digunakan dalam skala industri.

Komposisi media untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* harus mengandung sumber karbon, nitrogen, fosfor, sulfur dan unsur mikro seperti Mg, Fe dan Zn. Pati tapioka memiliki komposisi (per 100 gram) : karbohidrat (88,2g), protein (1,1g), lemak (0,5g), Ca (84 mg), Fe (1 mg), vitamin B(0,04 mg). Penggunaan pati sebagai substrat telah memenuhi sebagian besar unsure makro dan mikro yang dibutuhkan oleh *A. niger*. Selain itu pati tapioka ini memiliki kelarutan amilosa lebih tinggi, kandungan pati yang lebih tinggi (lebih besar 90%, untuk basis kering), dibanding pati kentang dan jagung. Sumber nitrogen (N) yang sering digunakan adalah yang berasal dari bahan anorganik, seperti ammonium asetat, ammonium sulfat atau ammonium khlorida. Standar media untuk produksi enzim glukoamilase kurang lebih mengandung 1,2% N dan kadar pati 4% (Masayuki et al, 1993).

Aspergillus niger memiliki pH pertumbuhan optimum pada 4-6,5 (Pitt dan Hocking, 1997). Enzim glukoamilase memiliki aktivitas optimum pada pH 4-5 (Kombong, 2004). Suhu optimum pertumbuhan *Aspergillus niger* adalah 35-37°C, aktivitas enzim glukoamilase optimum pada suhu 40°C. (Kombong, 2004)

Menurut pembentukannya enzim dibedakan menjadi enzim terinduksi dan enzim konstitutif. Enzim terinduksi adalah enzim yang terbentuk sebagai jika ada senyawa penginduksi disekitarnya, sedangkan enzim konstitutif tidak memerlukan senyawa penginduksi. Enzim glukoamilase merupakan enzim ekstraseluler yang dalam pembentukannya dapat diinduksi oleh keberadaan pati . Jadi pati berfungsi sebagai substrat sekaligus inducer.

Produksi enzim glukoamilase menggunakan *Aspergillus niger* merupakan fermentasi aerobik. Aerasi dan pengadukan sangat diperlukan untuk penyediaan oksigen, selain itu pengadukan bertujuan untuk mensuspensikan mikroba dalam cairan fermentasi dan mempercepat laju transfer massa komponen-komponen dalam system fermentasi.

Pertumbuhan Sel dan Pembentukan Produk

Pembentukan produk oleh mikroba dapat dibagi menjadi tiga atas dasar waktu pembentukannya: a. *growth asociated product formation* (pembentukan produk bersamaan dengan pertumbuhan mikroba), b. *non growth asociated product formation* (pembentukan produk ketika pertumbuhan sel berhenti) dan c. *mixed growth asociated product formation* yaitu pembentukan produk yang terjadi pada saat pertumbuhan yang mulai melambat. Pola pembentukan produk, yang dalam hal ini adalah enzim sangat diperlukan untuk memperoleh hasil enzim yang optimal.

Perbanyakan mikroba dari waktu ke waktu mengikuti persamaan (1).

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad \dots\dots\dots(1)$$

Menurut Monod, pengaruh kadar substrat terhadap kecepatan pertumbuhan dapat mengikuti konsep kinetika enzim yang dirumuskan oleh Michaelis-Menten. Maka kecepatan pertumbuhan dapat dirumuskan adalah sebagai berikut (Ward, 1989)

$$\mu = \mu_{maks} \frac{s}{K_S + s} \quad \dots\dots\dots(2)$$

Enzim merupakan produk metabolit yang keberadaannya mendukung proses pertumbuhan. Oleh karena pembentukannya mengikuti pola *growth asociated product formation* (Humprey dan Millis, 1973).

Untuk mengetahui yield produk (enzim) terhadap substrat maka, dapat dibuat grafik antara dP/dt dan dS/dt , sehingga diperoleh $Y_{P/S}$.

3. Metodologi

Bahan dan Alat

Pati tapioka, diperoleh dari Pasar Demangan Yogyakarta., *Aspergillus niger*, diperoleh dari Laboratorium Bioteknologi Tanah, fakultas Pertanian, UPN "Veteran" Yogyakarta.

Media agar miring

Media agar miring adalah PDA (*potato dextrose agar*), komposisi bahan per 100 ml: potato 30 g, glukosa 2 g dan agar 1,5 g.

Media Starter

Media yang digunakan untuk membuat starter memiliki komposisi per 100 ml adalah: 40 ml ekstrak taoge, 4 g pati dan 1 g amonium sulfat. Medium starter dibuat sebanyak 50 ml. Ekstrak taoge dibuat dengan cara merebus 100 g taoge

dalam 1000 ml air, kemudian disaring untuk diambil ekstraknya.

Media Fermentasi

Media fermentasi memiliki komposisi per 100 ml adalah: 20 ml ekstrak taoge, 1 g amonium sulfat, pati (dengan variasi 6,9, 12 dan 15 g)

Bahan pembantu untuk analisis

buffer asetat, Na_2SO_4 anhidrat, garam Rochelle (KNa tartart, $KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$), Na_2CO_3 anhidrat, $NaHCO_3$ (Reagen Somogyi I), Na_2SO_4 anhidrat, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (Reagen Somogyi II), Amonium molibdat, H_2SO_4 , natrium hidrogen arsenat (Reagen Nelson) dan glukosa

Alat yang digunakan

Fermentasi dijalankan pada fermentor kapasitas 500 ml di dalam *shaker water bath*.

Cara Penelitian

Percobaan meliputi 3 tahap yaitu peremajaan bakteri, pembuatan starter dan fermentasi produksi enzim.

Peremajaan kapang *Aspergillus niger*

Biakan kapang *Aspergillus niger* diperbanyak dengan cara memindahkan biakan kapang pada media agar miring yang baru. Peremajaan dilakukan dengan inkubasi pada suhu 30°C selama 4 hari.

Pembuatan Starter

Setelah media starter siap kemudian diinokulasikan 2 ose kapang *Aspergillus niger* dari agar miring dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 32°C. Dilakukan pengambilan sampel setiap hari untuk menentukan berat kering sel.

Fermentasi Produksi Enzim Glukoamilase

Produksi enzim glukoamilase dilakukan dalam fermentor (Erlenmeyer) berkapasitas 500 ml di dalam *shaker inkubator*. Media fermentasi steril sebanyak 250 ml dimasukkan ke dalam fermentor, kemudian diinokulasikan 25 ml starter. Percobaan dilakukan dengan variasi konsentrasi pati (6, 9, 12 dan 15) % dan variasi pH awal (4,5 dan 6). Selama percobaan suhu dijaga pada suhu ruangan. Pengambilan sampel dilakukan setiap 24 jam, sebanyak 10 ml *fermentation broth*. Dilakukan analisis berat kering sel menggunakan metode gravimetri, aktivitas enzim dan kandungan pati sisa dengan metode spektrometri.

Analisis Aktivitas Enzim Glukoamilase

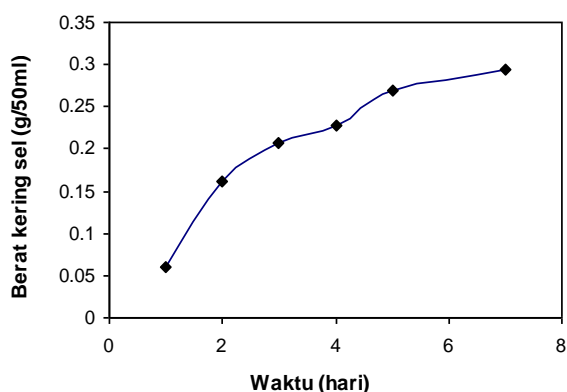
Analisis aktivitas enzim dilakukan dengan cara menginkubasi sejumlah cairan fermentasi dengan media larutan pati pada suhu 45°C selama 15 menit. Hasilnya dilakukan pengukuran kandungan gula

pereduksi menggunakan metode Somogyi-Nelson. 1 unit aktivitas enzim glukamilase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan 1 μ g glukosa pada 45°C selama 15 menit.

4. Hasil dan Pembahasan

Percobaan Pendahuluan

Percobaan pendahuluan dilakukan untuk menentukan waktu yang tepat untuk menginokulasikan starter ke dalam media fermentasi. Dari hasil percobaan didapatkan kurva berat kering sel pada starter yang disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Berat Kering Sel pada Starter

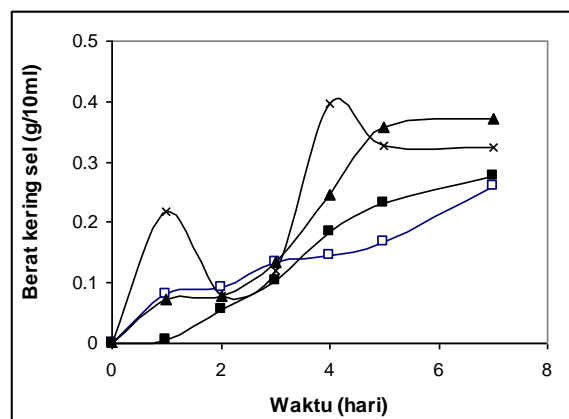
Dari Gambar 2. tersebut dapat diketahui bahwa pertumbuhan pada hari ke 4 mengalami perlambatan, Dalam penelitian ini dipilih pertumbuhan terbaik dari starter ini adalah pada hari ke 3.

Pengaruh Konsentrasi Pati

Hasil penelitian tentang pengaruh konsentrasi substrat terhadap berat kering sel, aktivitas enzim serta kadar pati sisa disajikan pada bagian berikut ini. Pengaruh konsentrasi pati terhadap berat kering sel dan aktivitas enzim disajikan pada Tabel 1 dan 2, Gambar 3 dan 4.

Tabel 1. Berat Kering Sel pada berbagai Konsentrasi Substrat dan pH 6

Hari	Berat Kering Sel (g/10ml)			
	6 %	9 %	12 %	15 %
1	0,0814	0,0069	0,0732	0,2172
2	0,0920	0,0551	0,0795	0,0771
3	0,1338	0,1025	0,1328	0,120
4	0,1452	0,1838	0,2458	0,397
5	0,1664	0,2321	0,3573	0,3258
7	0,2598	0,2771	0,3726	0,3233

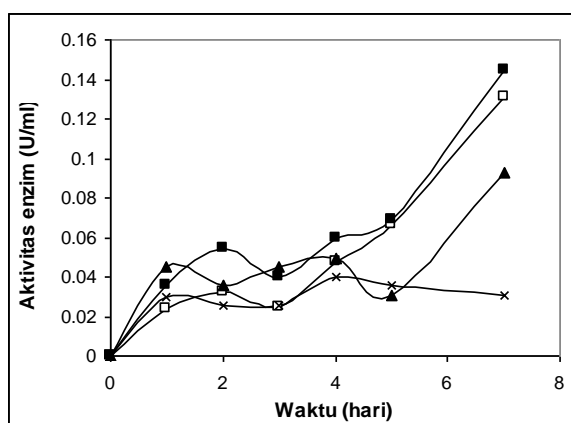


Gambar 3. Berat Kering Sel pada berbagai Konsentrasi Substrat (g/100ml): (□),6; (■),9; (▲),12; (×),15.

Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa berat kering sel meningkat seiring peningkatan konsentrasi substrat. pada masing-masing konsentrasi berbeda. Pada konsentrasi substrat 12 % terlihat bahwa pertumbuhan sel nya lebih besar daripada pada 6 dan 9, pada konsentrasi substrat 15% berat kering selnya lebih rendah.

Tabel 2. Aktivitas Enzim pada berbagai Konsentrasi Substrat dan pH 6

Hari	Aktivitas Enzim (U/ml)			
	6 %	9 %	12 %	15 %
1	0,0241	0,0354	0,0449	0,0298
2	0,0321	0,0544	0,0354	0,0258
3	0,0245	0,0401	0,0449	0,0258
4	0,0474	0,0592	0,0497	0,0401
5	0,0664	0,0687	0,0306	0,0354
7	0,1313	0,1450	0,0926	0,0306



Gambar 4. Aktivitas Enzim pada berbagai Konsentrasi Substrat (g/100ml): (□),6; (■),9; (▲),12; (×), 15.

Dari Gambar 4. dapat dilihat bahwa aktivitas enzim meningkat dari waktu ke waktu dan mencapai aktivitas tertinggi pada hari ke 7. Aktivitas enzim pada konsentrasi substrat 9 % lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi substrat 6 %, sedangkan pada konsentrasi substrat 12, dan 15 % menghasilkan aktivitas enzim yang jauh lebih kecil dari kedua konsentrasi substrat tersebut. Produktivitas didefinisikan sebagai unit aktivitas enzim yang dihasilkan per gram sel kering per gram substrat.

Tabel 3. Produktivitas enzim yang dihasilkan pada berbagai konsentrasi pati dengan lama fermentasi 7 hari

Konsentrasi substrat (g/100ml)	Aktivitas Spesifik (U/g sel kering)	Produktivitas enzim (unit/g sel kering/g substrat)
6	5.05	0.84
9	5.23	0.58
12	2.50	0.21
15	0.95	0.06

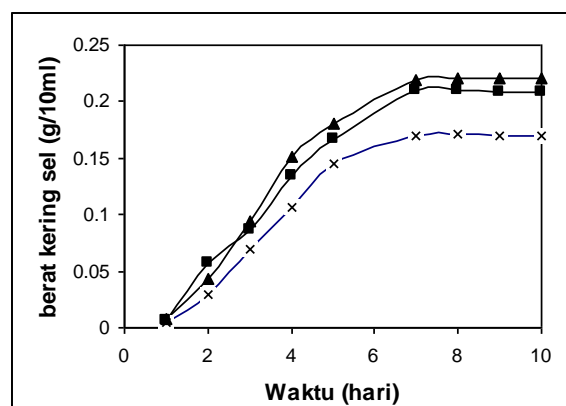
Berdasarkan data tersebut, produktivitas pembentukan enzim sangat rendah.

Pengaruh pH Awal Terhadap Berat Kering Sel dan Aktivitas Enzim

Hubungan antara berat kering sel dan aktivitas enzim pada konsentrasi 9 % dengan berbagai pH dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5, Gambar 5 dan 6.

Tabel 4. Berat Kering Sel pada Konsentrasi Substrat 9 % dengan berbagai pH Awal

Hari	Berat Kering Sel (g/10ml)		
	pH 4	pH 5	pH 6
1	0,0046	0,0059	0,0071
2	0,0288	0,0567	0,0433
3	0,0692	0,0871	0,936
4	0,1068	0,1346	0,1517
5	0,1452	0,1672	0,1801
7	0,1699	0,2099	0,2198
8	0,1708	0,2103	0,2214
9	0,1701	0,2090	0,2209
10	0,1696	0,2086	0,2204

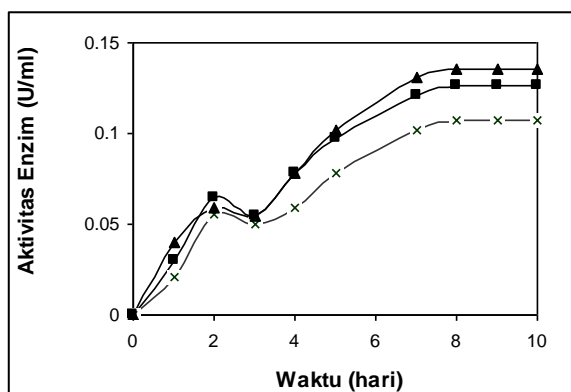


Gambar 5. Berat Kering Sel pada Konsentrasi substrat 9 % pada berbagai pH Awal: (×),4; (■),5; (▲),6.

Dari Gambar 5 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu fermentasi maka berat kering selnya semakin meningkat. Berat kering sel yang terbesar adalah pada pH 6. Ini disebabkan karena penurunan pH yang menyebabkan kerusakan enzim glukamilase, sehingga kinerja enzim dalam memecah pati terganggu sehingga pertumbuhannya juga terganggu.

Tabel 5. Aktivitas Enzim Konsentrasi pada Substrat 9% pada berbagai pH Awal

Hari	Aktivitas Enzim (U/ml)		
	pH 4	pH 5	pH 6
1	0,0212	0,0298	0,0401
2	0,0554	0,0641	0,0592
3	0,0497	0,0544	0,0544
4	0,0592	0,0783	0,0783
5	0,0783	0,0973	0,1021
7	0,1021	0,1212	0,1307
8	0,1069	0,1259	0,1355
9	0,1069	0,1259	0,1355
10	0,1069	0,1259	0,1355



Gambar 6. Aktivitas Enzim pada Konsentrasi substrat 9 % pada berbagai pH Awal: (x),4; (■),5; (▲),6.

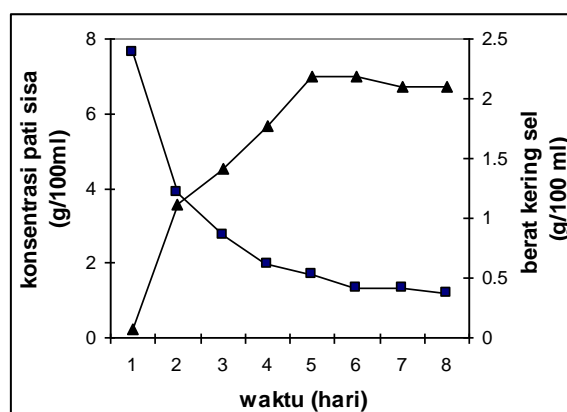
Dari Gambar 6 dapat dilihat bahwa aktivitas enzim pada masing-masing pH berbeda. Pada pH 6 mempunyai aktifitas enzim yang tidak jauh beda dengan pH 5. Pada pH 4 mempunyai aktivitas enzim yang paling kecil, mungkin hal ini disebabkan karena pH yang terlalu rendah menyebabkan kerusakan enzim, sehingga aktivitas enzim menjadi terganggu.

Penentuan Parameter Kinetika

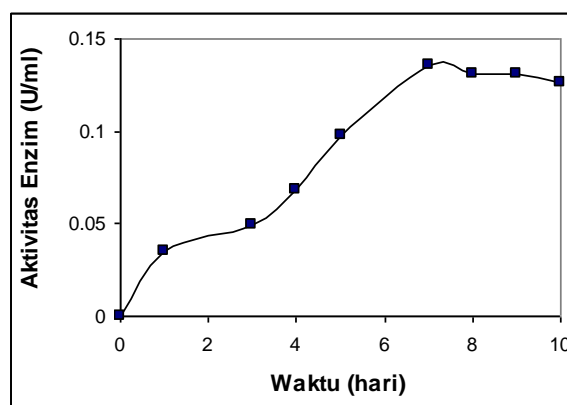
Penentuan parameter kinetika dilakukan pada kondisi terbaik yaitu pada konsentrasi substrat 9 % dengan pH 6. Hubungan antara berat kering sel, aktivitas enzim dan berat pati sisa pada kondisi tersebut dapat dilihat pada Tabel 6, Gambar 7 dan 8 .

Tabel 6. Berat Kering Sel, Aktivitas Enzim, dan Berat pati sisa pada Konsentrasi Substrat 9 % dan pH awal 6

Hari	Berat Kering Sel (g/10ml)	Aktivitas Enzim (U/ ml)	pati sisa (g/100 ml)
1	0,0075	0,0355	0,007620444
3	0,1121	0,0497	0,003888086
4	0,1420	0,0687	0,002729769
5	0,1770	0,0973	0,001957557
7	0,2186	0,1355	0,001700153
8	0,2190	0,1307	0,001314047
9	0,2097	0,1307	0,001314047
10	0,2094	0,1259	0,001185345



Gambar 7. Berat Kering Sel dan Konsentrasi pati sisa pada Konsentrasi Substrat 9 % dengan pH 6



Gambar 8. Aktivitas Enzim pada Konsentrasi Substrat 9 % dengan pH 6

Dari Gambar 7 dan 8 dapat dilihat bahwa semakin lama waktu fermentasi maka berat kering selnya se

makin meningkat begitu juga dengan aktivitas enzimnya, sedangkan berat pati sisanya menjadi semakin berkurang. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi proses pemecahan polisakarida yang berupa pati menjadi glukosa oleh enzim glucoamilase yang dihasilkan *Aspergillus niger* pada proses fermentasi dimana glukosa sebagai makanan dari *Aspergillus niger*, sehingga sel tumbuh menjadi semakin besar dengan menghasilkan aktivitas enzim yang besar untuk memecah substrat menjadi glukosa dan berat pati sisanya menjadi berkurang. Hasil pengolahan data diperoleh harga $K_s = 0,287\text{g}/100\text{ ml}$, $\mu_{\text{maks}} = 4,127\text{ hari}^{-1}$, yield enzim terhadap substrat $Y_{P/S} = 0,3826\text{ Unit/g}$ berat pati.

5. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini, adalah bahwa *Aspergillus niger* dapat menghasilkan enzim glucoamilase yang ditumbuhkan pada substrat pati tapioka. Konsentrasi substrat kondisi terbaik yang digunakan dalam proses fermentasi untuk menghasilkan enzim glucoamilase adalah pada konsentrasi substrat 9 %. Kondisi pH awal terbaik yang digunakan dalam proses fermentasi untuk mrnghasilkan enzim glucoamilase adalah pada pH 6. Pada konsentrasi substrat 9 % dan pH awal 6 dengan waktu fermentasi pada hari ke-7, diperoleh enzim dengan aktivitas 0,1355 U / ml.

Dari penelitian ini diperoleh harga $K_s = 0,287\text{g}/100\text{ ml}$, $\mu_{\text{maks}} = 4,127\text{ hari}^{-1}$ dan $Y_{P/S} = 0,3826\text{ Unit/g}$ berat pati.

Daftar Notasi

$\frac{dP}{dt}$	= kecepatan pembentukan produk (U/ml.jam)
$\frac{dX}{dt}$	= kecepatan pertumbuhan sel (g/ml.hari)
$\frac{dS}{dt}$	= kecepatan konsumsi substrat (g/100 ml.hari)
K_s	= konstanta kejenuhan substrat (g/100 ml)
μ	= kecepatan pertumbuhan spesifik (hari^{-1})
μ_{maks}	= kecepatan pertumbuhan spesifik maksimum, (hari^{-1})
S	= konsentrasi substrat (g/100 ml)
$Y_{P/S}$	= growth yield enzim terhadap substrat (unit/g)

Daftar Pustaka

- Cappucino, J. G., and Natalie S., 1983, *Microbiology a Laboratory Manual*, Addison-Wesley Publishing Company, New York.
- Fardiaz, S., 1987, *Mikrobiologi Pangan*, Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- James, 1996, *Enzymes*, Biotechnology, 14, 152-153.
- Judoamidjojo, Muljono., Abdul, A.D., dan Endang, G.S., 1992, *Teknologi Fermentasi*, Rajawali Press, Jakarta.
- Komong, 2004, Isolasi Enzym Glukoamilase Menggunakan Kapang *Aspergillus niger*, J.Illmu Dasar, 5, 16-20.
- Lehninger, 1982, *Dasar-dasar Biokimia*, Jil 1., Erlangga, Jakarta.
- Li, G.X.dkk., 1960, *Glucoamylase Covalently Coupled to Porous Glass*, pp.279-280, Plenum Press, New York and London.
- Masayuki, F., Takahira, O., and Hideo, F., 1993, *Purification and Properties of Two From of Glucoamylase from Saccharomycopsis fibuligera*, J.of Fermentation and Bioengineering, 76.
- Mulyani, S., 1989, Fementasi Bahan Pangan, pp.11-12, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Yogyakarta.
- Othmer, Kirk, 1965, *Encyclopedia of Chemical Technology*, 2ed., John Willey and Sons, Inc., New York.
- Pederson, C.S., 1973, *Microbiology of Food Fermentation*, The Avi Pulishin Company, Inc., New York.
- Pitt, J. I., and Hocking, A. D., 1997, *Fungi and Food Spoilage*, 2ed., Blackie and Professional, London.
- Prescott, S. C., and Dunn, C. G., 1959, *Industrial Microbiology*, Mc Graw-Hill Book Co., New York.
- Rahayu, K., 1989, *Enzim Mikroba*, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Univeritas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Sudarmadji, S. dkk., 1984, *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, ed.3., Liberty, Yogyakarta.
- Udiyono, 1987, Kemungkinan Penggunaan Dedak Beras Sebagai Bahan Pembuat Enzyme, Reaktor, 4, 13-17.
- Wibowo, D. Dkk., 1988, *Prinsip-prinsip Teknologi Fermentasi*, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Wibraham, A. C., and Michaels, S. M., 1992, *Pengantar Kimia Organik dan Hayati*, Institut Teknologi Bandung, Bandung