

Optimasi Waktu Inkubasi Pada Media PDA dan Tepung Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap Aktivitas Enzim Amilase dari *Aspergillus niger*

Siti Fajarwati Agustini

D4 Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung; sitifajaragust@gmail.com

Zuri Rismiarti

Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung; zuri.tlm@staff.poltekkesbandung.ac.id

Ani Riyani

Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung; ani_riyanianalis@yahoo.com

Sualeman

Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung; sulaemante@gmail.com

Asep Iin Nur Indra

Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung; asepiinurindra@gmail.com

ABSTRACT

*Amylase enzymes are widely used in various industrial applications. However, the domestic demand for amylase enzymes has not been fully met, resulting in dependence on imported products. Microorganisms such as *Aspergillus niger* offer a cost-effective alternative source of amylase production. This study aimed to determine the optimum incubation time of Potato Dextrose Agar (PDA) and cassava flour media for amylase enzyme activity produced by *Aspergillus niger*. A quasi-experimental study was conducted using the Fuwa method to determine amylase activity based on the absorbance of the starch-iodine complex before and after enzymatic hydrolysis. The data were analyzed using one-way ANOVA. *Aspergillus niger* grew well on both PDA and cassava flour media. The optimum incubation time for amylase production was observed on the fourth day for both media. Amylase activity reached 1.906 U/min on PDA medium and 1.260 U/min on cassava flour medium, indicating that PDA produced higher amylase activity than cassava flour medium.*

Keywords: *amylase activity; incubation time; *Aspergillus niger*; Potato Dextrose Agar; cassava flour*

ABSTRAK

Enzim amilase banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri, namun kebutuhan dalam negeri masih belum dapat dipenuhi sehingga sebagian masih bergantung pada produk impor. Salah satu upaya untuk menekan biaya produksi adalah memanfaatkan mikroorganisme, seperti *Aspergillus niger*, sebagai penghasil enzim amilase. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu inkubasi optimum pada media Potato Dextrose Agar (PDA) dan media tepung singkong terhadap aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger*. Penelitian ini merupakan penelitian kuasi eksperimen. Aktivitas enzim amilase dianalisis menggunakan metode Fuwa berdasarkan pengukuran absorbansi kompleks pati-iodin sebelum dan sesudah hidrolisis oleh enzim. Data dianalisis menggunakan uji One-way ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* tumbuh dengan baik pada kedua media. Waktu inkubasi optimum aktivitas enzim amilase pada media PDA maupun tepung singkong terjadi pada hari keempat. Aktivitas enzim amilase pada media PDA sebesar 1,906 U/menit, lebih tinggi dibandingkan media tepung singkong sebesar 1,260 U/menit.

Kata kunci: aktivitas enzim amilase; waktu inkubasi; *Aspergillus niger*; Potato Dextrose Agar; tepung singkong

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki keanekaragaman hayati yaitu berupa mamalia, tumbuhan dan mikroorganisme memiliki potensi untuk menghasilkan enzim salah satunya enzim amilase. Enzim amilase telah banyak diproduksi untuk berbagai bidang industri, baik pangan atau non pangan. Namun kebutuhan enzim amilase belum dapat terpenuhi sehingga harus diimpor dari luar negeri yang dimana enzim amilase ini banyak dimanfaatkan untuk memecah pati menjadi gula-gula⁽¹⁾. Enzim amilase yang dihasilkan oleh mamalia dikeluarkan melalui pankreas dan kelenjar ludah sehingga membutuhkan proses yang sangat kompleks dan biaya yang lumayan tinggi dalam memproduksinya⁽²⁾. Cara untuk proses yang singkat dan menurunkan biaya produksi maka bisa memanfaatkan enzim amilase yang berasal dari mikroorganisme⁽³⁾. Salah satu mikroorganisme yang menghasilkan enzim amilase adalah *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* merupakan jamur yang umum digunakan untuk produksi enzim amilase yang dimanfaatkan pada industri makanan ataupun farmasi⁽⁴⁾. Kemampuan *Aspergillus niger* dalam menghasilkan enzim sangat dipengaruhi oleh sumber karbon yang mengandung karbohidrat⁽¹⁾. Media seperti PDA mempunyai kandungan karbohidrat yang cukup sehingga baik untuk dijadikan media pertumbuhan jamur dalam menghasilkan enzim⁽⁵⁾. Sumber daya alam banyak yang mengandung sumber karbohidrat seperti singkong yang banyak digunakan sebagai pembawa atau carrier untuk pertumbuhan mikroorganisme penghasil enzim amilase misalnya seperti jamur *Aspergillus niger*⁽⁶⁾.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan jamur *Aspergillus niger* memiliki pertumbuhan koloni yang baik yaitu pada penggunaan tepung singkong sebanyak 4,0 g sebesar 1,2 cm/ hari⁽⁷⁾. Selain itu juga disebutkan dalam penelitian terdahulu yang lainnya bahwa jamur *Aspergillus niger* tumbuh lebih baik pada singkong dan PDA dibandingkan ubi jalar putih, ubi jalar kuning⁽⁸⁾. Untuk analisis aktivitas enzim amilase, metode yang digunakan adalah metode fuwa dengan menggunakan substrat berupa amilosa. Prinsip metode fuwa yaitu pengukuran absorbansi dari larutan kompleks pati dan I₂ yang sudah terhidrolisis oleh enzim amilase. Dapat dikuantifikasi dengan pengukuran menggunakan spektrofotometer.⁽⁹⁾ Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menggunakan sumber karbohidrat untuk media produksi enzim amilase pada jamur *Aspergillus niger* dan *Aspergillus clavatus* dengan waktu inkubasi 1-7 hari. Terdapat hasil aktivitas enzim amilase terbaik pada jamur *Aspergillus niger* dengan waktu optimum pada hari ke 3 sebesar 91,64 U/mL x 10² dengan pH optimum sebesar 5,0 – 7,0 dan suhu optimum pada 50°C – 70° C.⁽¹⁾ Meskipun beberapa penelitian telah melaporkan penggunaan media alternatif berbahan dasar singkong untuk pertumbuhan *Aspergillus niger*, informasi mengenai waktu inkubasi optimum terhadap aktivitas enzim amilase pada media PDA dan media tepung singkong masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menentukan waktu inkubasi optimum pada kedua media menggunakan metode Fuwa. Berdasarkan uraian tersebut, dilakukan penelitian untuk mengetahui waktu inkubasi optimum pada aktivitas enzim amilase terhadap jamur *Aspergillus niger* menggunakan media PDA dan tepung singkong. Penelitian ini menggunakan rentang waktu inkubasi 1 – 4 hari dengan metode Fuwa.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu inkubasi optimum aktivitas enzim amilase pada pertumbuhan *Aspergillus niger* menggunakan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan media tepung singkong.

Hipotesis

Terdapat pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan media tepung singkong.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian kuasi eksperimen dengan rancangan *pre-experimental* yang bertujuan untuk menentukan waktu inkubasi optimum terhadap aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan media tepung singkong. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei–Juni 2024 di Laboratorium Kimia Dasar, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi cawan petri, *biosafety cabinet*, autoklaf, inkubator, sentrifus berpendingin, spektrofotometer UV-Vis, neraca analitik, gelas ukur, labu Erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung, kuvet, kertas saring, membran filtrasi, dan ose. Bahan penelitian terdiri atas media *Potato Dextrose Agar* (PDA), tepung

singkong, dekstrosa, agar, biakan murni *Aspergillus niger*, kloramfenikol, akuades, NaCl 3%, HCl 1 M, larutan I₂/KI, dan buffer.

Pembuatan Media

Media PDA serbuk ditimbang sebanyak 4 g dan ditambahkan 100 mL aquadest dan untuk media tepung singkong yaitu ditimbang tepung singkong sebanyak 4 g lalu ditambahkan aquades 100 mL dan disaring diambil filtratnya, setelah itu ditambahkan agar sebanyak 1,5 g dan *dextrose* sebanyak 2,0 g. kemudian masing-masing media disterilisasi pada *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Lalu setelah hangat kuku masukkan ke dalam cawan petri ± 15 mL biarkan sampai memadat dan siap untuk digunakan.

Isolasi Jamur *Aspergillus niger*

Strain murni jamur *Aspergillus niger* diambil dengan ose tusuk. Lalu ditusukkan di bagian tengah permukaan media PDA dan media tepung singkong. Masing-masing media diinkubasi selama 1 hari, 2 hari, 3 hari dan 4 hari pada suhu 37 °C dalam inkubator.

Ekstraksi Enzim Amilase

Pada setiap waktu inkubasi, enzim amilase diekstraksi dari biakan *Aspergillus niger* pada media PDA dengan menambahkan 10 mL larutan NaCl 3%. Prosedur yang sama dilakukan pada media tepung singkong. Suspensi kemudian disentrifugasi menggunakan *refrigerated centrifuge* pada kecepatan 10.000 rpm selama 1 jam pada suhu 4 °C. Supernatan disaring menggunakan membran filtrasi, kemudian disentrifugasi kembali pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Ekstrak enzim yang diperoleh dari masing-masing media selanjutnya digunakan untuk analisis aktivitas enzim amilase.⁽¹⁾

Pengukuran Aktivitas Enzim Amilase Menggunakan Metode Fuwa

Larutan substrat pati dibuat dengan konsentrasi 0,002; 0,004; 0,006; 0,008; 0,010; dan 0,012 g/mL. Campuran kontrol disiapkan dengan mencampurkan 750 µL larutan pati, 100 µL HCl 1 M sebagai inhibitor, 30 µL larutan I₂/KI, dan 120 µL ekstrak enzim ke dalam kuvet secara berurutan. Campuran sampel dibuat dengan prosedur yang sama, namun larutan HCl 1 M diganti dengan buffer sehingga enzim tetap aktif.

Absorbansi campuran kontrol dan sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang (λ) 600 nm. Nilai absorbansi diamati setiap 5 detik selama 3 menit pertama, kemudian setiap 30 detik hingga menit ke-5. Pengamatan dilanjutkan hingga nilai absorbansi konstan terhadap waktu atau mencapai menit ke-8. Aktivitas enzim amilase dihitung berdasarkan perubahan absorbansi yang terjadi selama proses hidrolisis pati menggunakan metode Fuwa.⁽¹⁰⁾

Cara Pengumpulan Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini merupakan data primer yang diperoleh melalui eksperimen laboratorium menggunakan biakan *Aspergillus niger* yang ditumbuhkan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan media tepung singkong. Aktivitas enzim amilase dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk memperoleh nilai absorbansi. Data absorbansi selanjutnya digunakan untuk menyusun kurva regresi, kemudian dihitung aktivitas enzim amilase menggunakan rumus perhitungan aktivitas enzim dengan bantuan perangkat lunak Microsoft Excel.

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{\text{Unit Enzim}}{\text{Waktu}}$$

Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan variasi waktu inkubasi selama 1, 2, 3, dan 4 hari pada dua media pertumbuhan, yaitu *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan media tepung singkong. Parameter yang diamati adalah aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger*, yang ditentukan menggunakan metode Fuwa dan dinyatakan dalam satuan U/menit. Selama penelitian, kondisi kultur dan analisis, seperti strain *Aspergillus niger*, suhu inkubasi, komposisi media, konsentrasi substrat, volume reagen, serta kondisi pengukuran, dipertahankan tetap pada setiap perlakuan.

HASIL

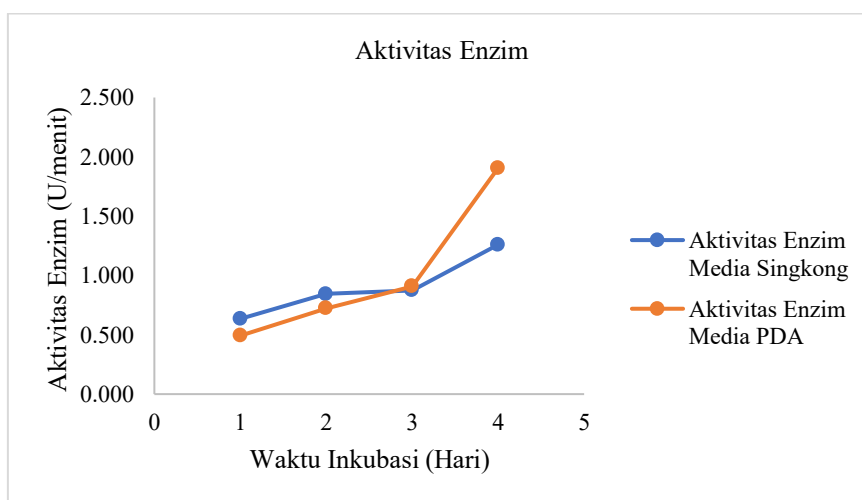
Aspergillus niger berhasil tumbuh pada media Potato Dextrose Agar (PDA) maupun media tepung singkong. Koloni pada media PDA berwarna hijau kehitaman, memiliki tepi yang teratur, serta membentuk koloni yang luas dengan tekstur berongga. Sementara itu, koloni pada media tepung singkong berwarna hitam kehitaman, bertekstur lebih lembut, dan menyebar pada permukaan media. Aktivitas enzim amilase *Aspergillus niger* diamati pada empat variasi waktu inkubasi, yaitu hari ke-1, ke-2, ke-3, dan ke-4 pada kedua media pertumbuhan. Hasil pengukuran aktivitas enzim amilase disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Aktivitas Enzim Amilase
 Pada Biakan Jamur *Aspergillus niger*

Waktu Inkubasi	Aktivitas Enzim (U/menit)	
	PDA	Singkong
Hari 1	0,492	0,634
Hari 2	0,723	0,845
Hari 3	0,908	0,874
Hari 4	1,906	1,260

Berdasarkan tabel 1, aktivitas enzim amilase pada kedua media menunjukkan kecenderungan meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi. Pada media PDA, aktivitas enzim meningkat dari 0,492 U/menit pada hari pertama menjadi 1,906 U/menit pada hari keempat. Peningkatan serupa juga terjadi pada media tepung singkong, yaitu dari 0,634 U/menit menjadi 1,260 U/menit. Aktivitas enzim tertinggi pada kedua media diperoleh pada hari keempat, dengan nilai aktivitas pada media PDA lebih tinggi dibandingkan media tepung singkong.

Gambar 1 memperlihatkan pola peningkatan aktivitas enzim amilase selama masa inkubasi. Kurva menunjukkan kecenderungan peningkatan aktivitas enzim pada kedua media hingga hari keempat, dengan media PDA menghasilkan aktivitas enzim yang lebih tinggi dibandingkan media tepung singkong pada akhir periode inkubasi.



Gambar 1. Grafik Hasil Aktivitas Enzim Amilase

Selanjutnya dilakukan analisis statistik untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim amilase. Hasil uji Shapiro–Wilk menunjukkan bahwa data berdistribusi normal ($p > 0,05$). Namun, hasil uji homogenitas menggunakan uji Levene menunjukkan bahwa data tidak homogen ($p < 0,05$). Oleh karena itu,

analisis dilanjutkan dengan uji lanjut Games–Howell. Hasil uji Games–Howell menunjukkan adanya perbedaan aktivitas enzim amilase yang bermakna antar waktu inkubasi ($p < 0,05$). Dengan demikian, waktu inkubasi berpengaruh signifikan terhadap aktivitas enzim amilase *Aspergillus niger* pada media PDA maupun media tepung singkong.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* mampu tumbuh pada media Potato Dextrose Agar (PDA) maupun media tepung singkong. Pertumbuhan koloni pada kedua media menunjukkan bahwa keduanya mampu menyediakan nutrisi yang dibutuhkan untuk mendukung pertumbuhan jamur. Pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh ketersediaan sumber karbon, nitrogen, mineral, pH, suhu, dan kondisi inkubasi. Di antara faktor-faktor tersebut, sumber karbon merupakan komponen utama yang berperan dalam pembentukan biomassa serta sintesis enzim ekstraseluler, termasuk enzim amilase.^(1,3) Hal ini sesuai dengan karakteristik *A. niger* sebagai kapang yang memiliki kemampuan tinggi dalam mensekresikan enzim ekstraseluler sehingga banyak dimanfaatkan dalam berbagai penelitian bioteknologi dan mikrobiologi.^(4,14)

Aktivitas enzim amilase pada penelitian ini meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi dan mencapai nilai optimum pada hari keempat, baik pada media PDA maupun media tepung singkong. Peningkatan tersebut menunjukkan bahwa produksi enzim amilase berkaitan erat dengan fase pertumbuhan *A. niger*. Selama fase eksponensial hingga awal fase stasioner, sel masih aktif melakukan metabolisme sehingga sintesis protein dan sekresi enzim berlangsung secara optimal. Pada fase ini, nutrisi dalam media masih tersedia dalam jumlah yang cukup untuk mendukung pembentukan biomassa dan produksi enzim. Sebaliknya, setelah melewati fase optimum, aktivitas enzim umumnya akan menurun akibat berkurangnya nutrisi, akumulasi metabolit hasil fermentasi, serta perubahan kondisi fisiologis sel.^(1,11,12)

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Naiola⁽¹⁾ yang melaporkan bahwa aktivitas amilase *Aspergillus niger* meningkat selama masa inkubasi hingga mencapai waktu optimum sebelum mengalami penurunan. Bellaouchi dkk.⁽¹⁵⁾ juga melaporkan bahwa produksi amilase oleh *A. niger* mencapai kondisi optimum setelah inkubasi selama 96 jam (empat hari). Temuan tersebut menunjukkan bahwa lama inkubasi merupakan salah satu faktor penting yang menentukan keberhasilan produksi enzim karena berkaitan dengan dinamika pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroorganisme.

Analisis statistik menunjukkan bahwa waktu inkubasi memberikan pengaruh yang bermakna terhadap aktivitas enzim amilase. Hasil tersebut menunjukkan bahwa optimasi waktu inkubasi merupakan tahapan penting dalam penelitian produksi enzim. Inkubasi yang terlalu singkat menyebabkan biomassa belum berkembang secara optimal sehingga jumlah enzim yang disekresikan masih rendah. Sebaliknya, inkubasi yang terlalu lama dapat menyebabkan aktivitas enzim menurun akibat berkurangnya substrat, perubahan pH media, serta kemungkinan terjadinya degradasi enzim oleh enzim proteolitik yang dihasilkan selama fase stasioner lanjut.^(11,12)

Penelitian ini juga menunjukkan bahwa aktivitas enzim amilase pada media PDA lebih tinggi dibandingkan media tepung singkong. Perbedaan tersebut diduga berkaitan dengan komposisi nutrisi kedua media. PDA merupakan media standar yang diformulasikan khusus untuk pertumbuhan kapang dan khamir karena mengandung ekstrak kentang sebagai sumber vitamin dan mineral serta dekstrosa sebagai sumber karbon sederhana yang mudah dimanfaatkan oleh mikroorganisme.⁽⁵⁾ Ketersediaan nutrisi yang lengkap memungkinkan *A. niger* tumbuh lebih optimal sehingga sintesis dan sekresi enzim amilase berlangsung lebih baik.

Sebaliknya, media tepung singkong didominasi oleh pati sebagai sumber karbon kompleks. Pati harus dihidrolisis terlebih dahulu menjadi gula sederhana sebelum dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi oleh sel. Selain itu, kandungan nitrogen, vitamin, dan mineral pada tepung singkong relatif lebih rendah dibandingkan media PDA sehingga kemampuan media dalam mendukung pertumbuhan jamur dan produksi enzim menjadi lebih terbatas.^(6,7) Meskipun demikian, aktivitas enzim amilase pada media tepung singkong tetap mengalami peningkatan hingga hari keempat, menunjukkan bahwa media tersebut masih mampu menyediakan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan *A. niger*.

Hasil penelitian ini mendukung penelitian Ismiawati⁽⁸⁾ yang melaporkan bahwa singkong dapat dimanfaatkan sebagai media alternatif untuk pertumbuhan *A. niger*, meskipun pertumbuhan koloni dan kemampuan metabolisme masih lebih rendah dibandingkan media PDA. Temuan tersebut menunjukkan bahwa bahan alami yang kaya karbohidrat dapat dimanfaatkan sebagai pengganti media komersial untuk keperluan penelitian maupun praktikum laboratorium, terutama apabila diperlukan media dengan biaya yang lebih ekonomis.⁽¹³⁾

Berdasarkan keseluruhan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa media tepung singkong belum mampu menghasilkan aktivitas enzim amilase setinggi media PDA. Namun demikian, media tersebut tetap memiliki potensi sebagai media alternatif karena mampu mendukung pertumbuhan *A. niger* dan menghasilkan aktivitas

enzim amilase yang cukup baik. Penelitian selanjutnya perlu mengoptimalkan faktor lain yang memengaruhi aktivitas enzim, seperti pH media, suhu inkubasi, konsentrasi substrat, dan penambahan sumber nitrogen, sehingga kemampuan media tepung singkong sebagai media alternatif dapat ditingkatkan.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa waktu inkubasi berpengaruh terhadap aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger*. Waktu inkubasi optimum untuk menghasilkan aktivitas enzim amilase pada media Potato Dextrose Agar (PDA) maupun media tepung singkong diperoleh pada hari keempat. Media PDA menghasilkan aktivitas enzim amilase yang lebih tinggi dibandingkan media tepung singkong, namun media tepung singkong tetap mampu mendukung pertumbuhan *Aspergillus niger* dan produksi enzim amilase sehingga berpotensi digunakan sebagai media alternatif dalam kegiatan penelitian dan praktikum laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

1. Naiola E. Karakterisasi dan optimasi media produksi amilase dari *Aspergillus niger* dan *Aspergillus clavatus*. Berita Biologi. 2002.
2. Pajic P, Pavlidis P, Dean K, Neznanova L, Romano RA, Garneau D, dkk. Independent amylase gene copy number bursts correlate with dietary preferences in mammals. Elife. 2019;8:1–22.
3. Nangin D, Ajis S. Enzim amilase pemecah pati mentah dari mikrob. J Pangan Agroind. 2015;3(3):1032–1039.
4. Guo W, Liu D, Li J, Sun W, Sun T, Wang X, Wang K, Liu Q, Tian C. Manipulation of an α -glucosidase in the industrial glucoamylase-producing *Aspergillus niger* strain O1 to decrease non-fermentable sugars production and increase glucoamylase activity. Front Microbiol. 2022;13:1029361.
5. Nurdin E, Anwar AY. Studi Pertumbuhan Jamur pada Media Alternatif Sukun (*Artocarpus altilis*) pada Sediaan Langsung dan Powder. Jurnal Biocelbes. 2021;15(1):21–9.
6. Azzahra N, Jamilatun M, Aminah A. Perbandingan Pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* pada Media Instan Modifikasi Carrot Sukrose Agar dan Potato Dextrose Agar. J Mikol Indones. 2020;4(1):168–74.
7. Irma I. Optimasi Media Pertumbuhan *Aspergillus niger* dengan Menggunakan Tepung Singkong. Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. 2015;
8. Ismiawati N. Pemanfaatan Ubi Jalar Putih, Ubi Jalar Kuning, Dan Singkong Sebagai Media Alternatif Potato Dextrose Agar (Pda) Untuk Pertumbuhan *Aspergillus niger*. 2016;
9. Rohman A. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.; 2007.
10. Rosanti S, Muhammad SA. Kinetika reaksi enzim amilase. Modul Praktikum Biokimia. Bandung: Institut Teknologi Bandung; 2019.
11. Fuwa H. A New Method For Microdetermination Cf Amylase Activity By The Use Of Amylose As The Substrate. The journal of Biochemistry. 1954;41(5):583–603.
12. Boeckx J, Hertog M, Geeraerd A, Nicolai B. Kinetic modelling: An integrated approach to analyze enzyme activity assays. Plant Methods. 2017;13(1):1–12.
13. Shilmy SP. Air cucian beras (*Oryza sativa* L.) sebagai media agar alternatif pengganti Potato Dextrose Agar terhadap pertumbuhan *Candida albicans* [skripsi]. Surabaya: Poltekkes Kemenkes Surabaya; 2017.
14. Li C, Zhou J, Du G, Chen J, Takahashi S, Liu S. Developing *Aspergillus niger* as a cell factory for food enzyme production. Biotechnology Advances. 2020;44:107630.
15. Bellaouchi R, Abouloifa H, Rokni Y, Hasnaoui A, Ghabbour N, Hakkou A, et al. Characterization and optimization of extracellular enzymes production by *Aspergillus niger* strains isolated from date by-products. J Genet Eng Biotechnol. 2021;19:50.