

Studi Kualitatif Aktivitas Amilolitik Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Pangan Tradisional Aceh Pliek U

Annisa Ammalia Kiti^{1,*}, It Jamilah², Herla Rusmarilin³

¹Prodi D3 Farmasi, STIKES Assyifa Aceh, Banda Aceh, Indonesia

²Departemen Biologi Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara, Indonesia

³Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Indonesia

Email Penulis Korespondensi: annisaammaliakiti@gmail.com

Abstrak—Amilase merupakan salah satu enzim penting yang berpotensi digunakan secara luas dalam berbagai bidang industri seperti makanan, fermentasi, dan farmasi. Amilase dapat diperoleh dari berbagai organisme seperti tumbuhan, hewan dan mikroba. Namun, sumber utama enzim ini ialah bakteri dan fungi yang paling mendominasi penggunaannya dalam sektor industri. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bakteri asam laktat (BAL) potensial amilolitik yang diisolasi dari pangan khas Aceh *pliek u*. BAL amilolitik diisolasi dengan *starch plate method* dan diuji dengan pereaksi *Lugol's iodine* untuk mengukur indeks amilolitiknya. Hasil isolasi menunjukkan ditemukan 5 isolat BAL potensial amilolitik dengan karakter morfologi sel berbentuk basil, Gram positif dan motil. Indeks amilolitik kelima isolat bervariasi, yang tertinggi ditemukan pada isolat UKA5 yaitu 11 mm sedangkan yang terendah ditemukan pada isolat UKA2 yaitu 7 mm.

Kata Kunci: Enzim, Amilolitik, Bakteri Asam Laktat, Pliek U

Abstract—Amylase is one of the most essential enzymes that have potentially widely used in various industrial fields such as food, fermentation, and pharmacy. Amylase can be obtained from diversified organisms such as plants, animals and microbes. However, the main sources of these enzymes are bacteria and fungi that have dominated utilization in industrial sectors. This study was aimed to obtain the potential for amyolytic lactic acid bacteria (LAB) isolated from pliek u Acehnese traditional food. Amyolytic LABs were isolated with starch plate method and tested with Lugol's iodine reagent to measured the amyolytic index. The isolation results showed that 5 amyolytic potential LAB isolates were found with cells morphological characters were bacilli, Gram positive and motile. Amyolytic index of five isolates were varied, the highest index was found in UKA5 isolate which was 11 mm while the lowest was found in UKA2 isolate which was 7 mm.

Keywords: Enzyme, Amyolytic, Lactic Acid Bacteria, Pliek U

1. PENDAHULUAN

Enzim adalah katalis biologis (lebih dikenal sebagai biokatalis) yang mempercepat suatu reaksi biokimia pada organisme hidup. Sebagai biokatalis, enzim hanya diperlukan dalam konsentrasi yang sangat rendah, dan enzim mampu mempercepat suatu reaksi tanpa ikut bereaksi selama proses reaksi berlangsung. Enzim dapat diekstraksi dari sel dan kemudian digunakan untuk mengkatalisasi berbagai proses penting yang komersial (Robinson, 2015). Enzim sangat penting dalam bidang industri karena substrat dan spesifisitas produknya, kondisi reaksi sedang, dan pembentukan produk samping yang minimal. Enzim digunakan sebagai bahan baku penting dalam beberapa produk dan proses produksi (Ravindran dan Jaiswal, 2016).

Mikroorganisme merupakan salah satu produsen enzim yang sangat potensial. Dengan kemajuan teknologi, banyak enzim baru dengan berbagai aplikasi dan spesifisitas telah dikembangkan. Begitu pula bidang penerapan enzim yang baru masih terus dieksplorasi. Enzim-enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, khamir dan kapang banyak digunakan dalam berbagai pengolahan untuk meningkatkan rasa dan tekstur makanan. Enzim hasil dari produk mikroba mampu meningkatkan keuntungan ekonomi yang besar bagi industri (Raveendran *et al.*, 2018).

Potensi biokatalisis mikroorganisme telah sejak lama dikenal dan dimanfaatkan untuk menghasilkan berbagai produk seperti roti, cuka, anggur dan produk umum lainnya. Enzim yang diproduksi oleh mikroba telah mendapat perhatian dan diminati serta digunakan secara luas dalam bidang industri dan obat-obatan. Hal ini disebabkan karena enzim yang dihasilkan oleh mikroba mempunyai beberapa keunggulan seperti, memiliki aktivitas katalitik, stabilitas yang baik, mudah diproduksi dan dioptimalisasi bila dibandingkan dengan enzim-enzim yang dihasilkan oleh tumbuhan dan hewan. Penggunaan enzim di berbagai bidang industri seperti pangan, pertanian, bahan kimia, dan farmasi meningkat dengan cepat disebabkan berkurangnya waktu pemrosesan, input energi yang rendah, efektivitas biaya, serta karakteristiknya yang tidak beracun dan ramah lingkungan. Enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroba mampu mendegradasi senyawa kimia beracun dari limbah industri dan domestik (senyawa fenolik, nitril, amina, dll) baik melalui degradasi maupun konversi (Singh *et al.*, 2016).

Saat ini amilase ialah salah satu enzim yang paling penting dan sangat penting dalam bioteknologi. Meskipun enzim ini dapat berasal dari beberapa sumber, seperti tanaman, hewan dan mikroorganisme, enzim dari sumber mikroba umumnya yang paling sering memenuhi permintaan industri, terutama dari jenis bakteri dan fungi (Souza, 2010). Amilase yang diproduksi dari mikroba berpotensi digunakan dalam industri farmasi dan kimia. Dengan munculnya batasan baru dalam bioteknologi, pemanfaatan penggunaan amilase telah meluas di bidang lain, seperti

obat-obatan, klinis, dan kimia analitik, serta aplikasi luasnya dalam sakarifikasi pati dan dalam industri tekstil, makanan, pembuatan bir dan penyulingan (Pandey *et al.*, 2000).

Pemasaran industri enzim telah diproyeksikan mencapai 6,2 miliar dolar US pada tahun 2020. Alasan utama terjadinya kenaikan berkelanjutan dalam penjualan enzim mikroba secara global ialah karena adanya peningkatan permintaan terhadap barang-barang konsumsi dan biofuel. Di antara jenis utama enzim yang diproduksi oleh mikroba dan sudah diaplikasikan dalam berbagai bidang industri ialah amilase (Mehta dan Tulasi, 2016). Amilase adalah enzim yang menghidrolisis molekul pati menjadi polimer yang terdiri dari unit glukosa (Reddy *et al.*, 2003). Amilase diproduksi oleh berbagai jenis mikroba, yang secara acak dapat memecah ikatan α -1,4-glikosidik dalam pati yang mengarah ke pembentukan dekstrin dalam jumlah terbatas. Amilase dari sumber mikroba yang berbeda dapat bervariasi dalam karakteristik, sehingga sesuai dengan aplikasinya yang spesifik (Mehta dan Tulasi, 2016).

Salah satu jenis bakteri yang memiliki aktivitas amilolitik ialah bakteri asam laktat (Giraud *et al.*, 1991; Reddy *et al.* 2008; Putri *et al.*, 2011 & 2012; Kusumaningrum *et al.*, 2015; Suryani *et al.*, 2017). Bakteri asam laktat amilolitik (ALAB) telah dilaporkan diisolasi dari berbagai makanan fermentasi berbahan dasar singkong dan sereal seperti jagung dan sorgum. Sembilan strain bakteri asam laktat jenis *Lactobacillus plantarum* yang menghidrolisis pati diisolasi dari burong isda, makanan fermentasi asli yang terbuat dari ikan dan beras dari Filipina (Olympia *et al.*, 1995). *Lactobacillus fermentum* strain Ogi E1 dan Mw2 dari ogi dan mawe di Benin, Afrika Barat (Agati, 1998). *Streptococcus bovis*, *Streptococcus macedonicus*, *Lactococcus lactis*, dan *Enterococcus sulfureus* diisolasi dari minuman fermentasi pozol khas Meksiko (Diaz *et al.*, 2003).

Bakteri asam laktat (BAL) amilolitik mampu menghidrolisis pati secara parsial, sehingga dapat menfermentasi berbagai macam bahan baku berpati (Putri *et al.*, 2012). Mengingat pentingnya penggunaan enzim amilase di berbagai sektor industri, maka diperlukan penelitian untuk menemukan BAL amilolitik dari sumber pangan hasil fermentasi lain di Indonesia seperti *pliek u*. *Pliek u* merupakan pangan khas tradisional Aceh yang terbuat dari fermentasi daging buah kelapa (Nurliana, 2009; Sudirman, 2009). Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa *pliek u* mengandung BAL yang berpotensi sebagai antimikroba (Rabfiani dan Hanafiah, 2002; Jalma *et al.*, 2016; Novita *et al.*, 2017; Fachrial dan Harmileni, 2018), namun belum diketahui aktivitas amilolitiknya. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas amilolitik BAL yang diisolasi dari pangan *pliek u* secara kualitatif.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Biologi Universitas Sumatera Utara (USU) dan Laboratorium Biologi Balai Teknis Kesehatan Lingkungan dan Pemberantasan Penyakit Menular (BTKL dan PPM) Medan. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium. Sampel *pliek u* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Desa Geundering, Aceh Besar. Isolasi BAL amilolitik menggunakan teknik cawan sebar (*spread plate method*). Karakteristik BAL yang diamati meliputi morfologi koloni dan sel, pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji motilitas. Penapisan isolat BAL amilolitik menggunakan *starch plate method* (Ashwini *et al.* 2011).

BAL amilolitik diisolasi dari *pliek u* menggunakan media *de mann rogosa sharpe agar* (MRSA). Sampel *pliek u* ditimbang sebanyak 1g, dihaluskan dengan mortar, diencerkan berseri hingga tujuh kali (10^7) dengan NaCl fisiologis (0,85%) steril. Secara aseptik diambil 0,1 ml dari pengenceran $10^4 - 10^7$ dan ditanam duplo secara *spread plate* pada medium MRSA. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam dan diamati karakteristik morfologi koloninya (Cappucino dan Sherman, 1999). Pengujian aktivitas amilolitik dilakukan dengan cara menumbuhkan satu ose isolat yang sudah murni pada medium *starch agar* (SA), diinkubasi pada suhu 31°C selama 2x24 jam. Selanjutnya lugol's iodine diteteskan pada permukaan medium yang sudah ditumbuhi bakteri dan diamati pembentukan zona bening di sekitar koloni bakteri. Bakteri yang memiliki kemampuan amilolitik akan membentuk zona bening di sekitar koloni. Pengukuran indeks amilolitik (IA) dilakukan dengan cara mengukur rata-rata diameter zona bening yang terbentuk di sekitar koloni dikurangi rata-rata diameter koloni bakteri yang tumbuh, kemudian dibagi dengan diameter koloni bakteri yang tumbuh (Susilawati *et al.*, 2015).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penapisan BAL dari *pliek u* diperoleh sebanyak 6 jenis isolat kultur murni yang berbeda. Setelah dilakukan seleksi pada 6 isolat BAL yang ditemukan, hanya 5 isolat yang memiliki aktivitas amilolitik, yaitu isolat dengan kode UKA1, UKA2, UKA3, UKA4 dan UKA5. Data hasil perhitungan indeks amilolitik (IA) BAL potensial amilolitik disajikan pada Tabel 1.

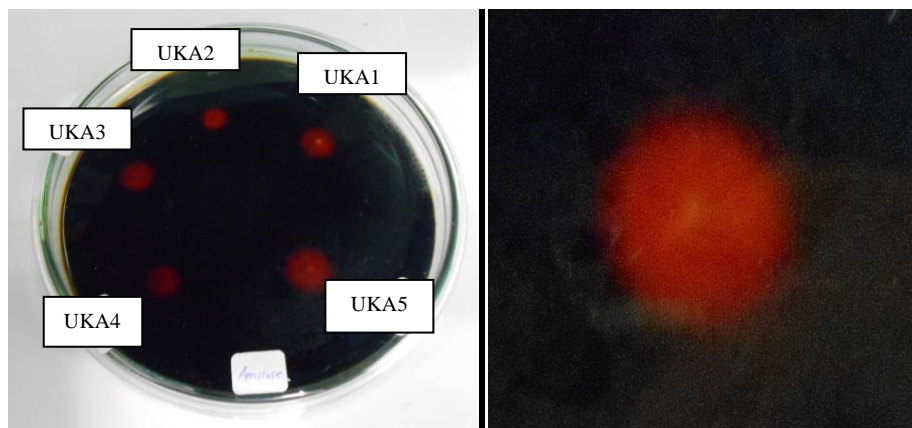
Tabel 1. Indeks amilolitik (IA) isolat BAL potensial yang diisolasi dari pangan *pliek u*

No.	Isolat	Indeks Amilolitik (mm)
1.	UKA1	10
2.	UKA2	7
3.	UKA3	10

4.	UKA4	8,5
5.	UKA5	11

Berdasarkan Gambar 1 dapat dilihat kelima isolat mampu mendegradasi amilum dengan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni. Isolat UKA5 memiliki indeks amilolitik (IA) tertinggi yaitu 11 mm sedangkan nilai IA terendah yaitu senilai 7 mm ditunjukkan oleh isolat UKA2. Menurut Aiyer (2005), kemampuan menghidrolisis amilum pada suatu bakteri dapat diketahui dengan menumbuhkan bakteri pada suatu medium yang mengandung substrat amilum 1 % yang larut dalam air. Substrat amilum merupakan salah satu jenis karbohidrat kompleks yang dapat dihidrolisis dengan bantuan enzim amilase. Isolat-isolat yang mensekresikan amilase ekstraseluler mampu memecah amilum yang ditunjukkan dengan pembentukan zona bening di sekitar koloni BAL. Pemecahan amilum oleh kelima isolat pada medium SA menghasilkan beberapa senyawa sederhana seperti dekstrin, maltosa dan glukosa.

Apun *et al.* (2000) menyebutkan bahwa pembentukan zona bening tersebut dapat terlihat jelas setelah medium SA yang telah ditumbuhkan bakteri ditetesi larutan *lugol's iodine*, sehingga dapat mengindikasikan adanya aktivitas amilolitik pada isolat BAL yang sudah diisolasi. Menurut Susilawati *et al.* (2015), area di luar zona bening akan berwarna biru kehitaman pekat setelah ditetesi larutan tersebut, karena larutan *lugol's iodine* akan bereaksi dengan amilum yang tidak terhidrolisis. Zona bening tidak berwarna pekat karena amilum yang terdapat pada zona tersebut sudah dipecah menjadi senyawa sederhana seperti monosakarida atau disakarida. Amilase ekstraseluler merupakan enzim yang disekresikan oleh bakteri untuk memecah amilum yang berada di luar sel, dan setelah itu dimanfaatkan kembali oleh sel bakteri sebagai cadangan makanan, sumber energi dan aktivitas tumbuh berkembang biak. Isolat lainnya yang tidak membentuk zona bening disebabkan karena tidak mampu memecah substrat amilum pada medium SA. Hal ini terjadi karena kebutuhan akan sumber karbonnya berbeda. Pada bakteri, jumlah dan sifat sumber karbon dalam medium penting bagi pertumbuhan dan produksi enzim amilase ekstraseluler.



Gambar 1. Cawan petri berisi medium SA menunjukkan aktivitas amilolitik dengan zona bening mengelilingi koloni sel BAL yang diisolasi dari *pliek u* setelah pemberian larutan *lugol's iodine*.

Tabel 2. Ciri-ciri morfologi koloni 5 isolat kultur murni BAL potensial amilolitik yang diisolasi dari pangan *pliek u*

No.	Kode Isolat	Karakteristik Morfologi Koloni					
		Bentuk	Ukuran	Warna	Tepi	Elevasi	Permukaan
1.	UKA1	Sirkuler	Kecil	Putih	Lobat	Konveks	Kasar berkerut
2.	UKA2	Sirkuler	Kecil	Krem	Licin	Timbul	Mengkilat
3.	UKA3	Tidak beraturan	Kecil	Krem	Bergelombang	Datar	Berkerut halus
4.	UKA4	Tidak beraturan	Kecil	Krem	Bergelombang	Tumbuh ke dalam media	Kasar berkerut
5.	UKA5	Tidak beraturan	Besar	Krem	Lobat	Datar	Berkerut

Tabel 3. Ciri-ciri morfologi sel BAL potensial amilolitik yang diisolasi dari pangan *pliek u*

No.	Kode Isolat	Karakteristik Morfologi Sel dan Motilitas		
		Bentuk Sel	Sifat Gram	
			Sifat Gram	Motilitas
1.	UKA1	Basil	Positif	Motil
2.	UKA2	Basil	Positif	Motil
3.	UKA3	Basil	Positif	Motil

4.	UKA4	Basil	Positif	Motil
5.	UKA5	Basil	Positif	Motil

Amilum adalah konstituen penting yang diolah secara enzimatis dan kimiawi menjadi beragam produk penting dalam sektor industri. Saat ini diantara polimer karbohidrat, penggunaan amilum terus meningkat dan diminati (Souza, 2010). Amilum dapat ditemukan dari berbagai sumber di alam dan merupakan sumber energi yang mudah diperoleh (Mishra dan Behera, 2008). Amilase yang merupakan enzim pemecah amilum dapat diproduksi oleh berbagai spesies mikroorganisme, namun untuk aplikasi komersial bakteri dari genus *Bacillus* yang umumnya sering digunakan. Amilase yang dihasilkan dari *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus*, dan *Bacillus amyloliquefaciens* diketahui berpotensi diaplikasikan dalam sejumlah proses industri seperti industri makanan, fermentasi, tekstil dan industri kertas (Souza, 2010). Selain itu bakteri asam laktat amilolitik dari genus *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, dan *Weissella* dilaporkan digunakan dalam produksi berbagai makanan fermentasi, karena kemampuan bakteri tersebut dalam memanfaatkan amilum sebagai satu-satunya sumber karbon (Petrova *et al.*, 2013).

Produksi amilase oleh bakteri dipengaruhi beberapa faktor penting. Faktor-faktor lingkungan yang optimum sangat berperan dalam pertumbuhan sekaligus produksi enzim ekstraseluler oleh bakteri (Dutta *et al.*, 2016). Optimalisasi berbagai parameter dan manipulasi media merupakan salah satu teknik paling penting yang digunakan untuk produksi amilase dalam jumlah besar. Untuk memenuhi permintaan industri, produksi amilase pada bakteri diketahui tergantung pada kondisi morfologis dan metabolik kultur. Berbagai faktor fisik dan kimia telah diketahui mempengaruhi produksi amilase seperti pH, temperatur, masa inkubasi, sumber karbon, sumber nitrogen, surfaktan, fosfat, berbagai ion logam, kelembaban dan agitasi (Oluwadamilare, 2019).

Tabel 2 dan 3 menunjukkan rangkuman karakteristik lima isolat BAL amilolitik yang diperoleh setelah diisolasi pada media MRSA antara lain meliputi morfologi koloni, morfologi sel, motilitas dan hasil pewarnaan Gram. Berdasarkan tabel tersebut diketahui bakteri yang mendominasi berbentuk batang atau basil dengan sifat Gram positif. Fermentasi *pliek u* dilakukan secara alami atau spontan tanpa penambahan starter atau mikroba apapun secara sengaja. Menurut Putri *et al.* (2012), berbagai jenis mikroorganisme yang berasal dari lingkungan dan bahan baku secara alami dapat tumbuh terutama pada awal fermentasi. Selama proses fermentasi berlangsung akan terjadi perubahan pada kondisi medium yang selanjutnya akan menyeleksi mikroba alami yang mampu beradaptasi terhadap perubahan tersebut.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa BAL yang diisolasi dari pangan tradisional Aceh *pliek u* dapat menghidrolisis substrat amilum pada medium SA karena memiliki enzim amilase ekstraseluler. Hasil skrining BAL potensial amilolitik diperoleh 5 isolat yang berbeda yaitu UKA1, UKA2, UKA3, UKA4 dan UKA5 dengan nilai indeks amilolitik berturut-turut yaitu 10, 7, 10, 8.5, dan 11 mm. Kelima isolat yang diperoleh berbentuk batang Gram positif dan bersifat motil dengan ciri-ciri morfologi koloni bervariasi.

Saran yang diajukan pada penelitian ini ialah diperlukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas amilase kasar pada kelima isolat dengan metode *dinitrosalisilic acid* (DNS). Pengujian terhadap parameter fisik dan kimia perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap produksi optimum amilase. Selain itu perlu dilakukan identifikasi isolat BAL secara biokimiawi dan molekuler untuk mengetahui strain BAL yang sudah diperoleh.

DAFTAR PUSTAKA

- Agati, V., Guyot, J. P., Morlon-Guyot, J., Talamond, P., & Hounhouigan, D. J. 1998. Isolation and characterization of new amylolytic strains of *Lactobacillus fermentum* from fermented maize doughs (mawe and ogi) from Benin. *Journal of Applied Microbiology*, 85 (3) : 512-520.
- Aiyer, P. V. 2005. Amylases and their applications. *African journal of biotechnology*, 4(13): 1525-1529.
- Apun, K., Jong, B. C., & Salleh, M. A. 2000. Screening and isolation of a cellulolytic and amylolytic *Bacillus* from sago pith waste. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 46 (5) : 263-267.
- Ashwini, K., Gaurav, K., Karthik, L., & Bhaskara Rao, K. V. 2011. Optimization, production and partial purification of extracellular α -amylase from *Bacillus* sp. marini. *Arch Appl Sci Res*, 3(1), 33-42.
- Cappuccino, J.G dan N. Sherman. 1999. *Microbiology a laboratory manual*. Fifth edition. California, The Benjamin/Cummings Science Publishing.
- Díaz-Ruiz, G., Guyot, J., Ruiz-Teran, F., Morlon-Guyot, J., & Wachter, C. 2003. Microbial and physiological characterization of weakly amylolytic but fast-growing lactic acid bacteria: a functional role in supporting microbial diversity in pozol, a Mexican fermented maize beverage. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(8) : 4367-4374.
- Dutta, P., Akash, D., dan Sukanta, M. 2016. Optimization of the Medium for the Production of Extracellular Amylase by the *Pseudomonas stutzeri* ISL B5 Isolated from Municipal Solid Waste. *Int. J. of Microbiol.*, :1-7.
- Fachrial, E., dan Harmileni, H. 2018. Aktivitas Antimikroba Dan Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari "Pliek U", Makanan Fermentasi Tradisional Asal Aceh, Indonesia. In *Seminar Nasional Sains dan Teknologi Informasi (SENSASI)* 1 (1) : 82-87.
- Giraud, E., Brauman, A., Keleke, S., Lelong, B., & Raimbault, M. 1991. Isolation and physiological study of an amylolytic strain of *Lactobacillus plantarum*. *Applied microbiology and biotechnology*, 36(3), 379-383.

- Jalma, M. D. dan Zachreini, I. 2016. Efektivitas Hambatan Senyawa Ekstrak Kasar Pliek U (Patarana) terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* in vitro. *Cermin Dunia Kedokteran*, 43(6) : 407-410.
- Kusumaningrum, K., Yusmarini, Y., & Ali, A. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik dari Industri Pengolahan Pati Sagu. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Riau*, 2(1), 1-11.
- Mishra, S., & Behera, N. 2008. Amylase activity of a starch degrading bacteria isolated from soil receiving kitchen wastes. *African Journal of Biotechnology*, 7(18).
- Novita, R., Munira, M., & Hayati, R. 2017. Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Pliek U Sebagai Antibakteri. *AcTion: Aceh Nutrition Journal*, 2(2) : 103-108.
- Nurliana. 2009. Prospek makanan tradisional aceh sebagai makanan kesehatan: eksplorasi senyawa antimikrob dari minyak pliek u dan pliek u. *Disertasi*. Prodi Sains Veteriner, Sekolah Pascasarjana, Bogor, IPB.
- Oluwadamilare, L.A., Odotayo, E. O., Ametefe, George, D., dan Farinu, A.O. 2019. A review of literature on isolation of bacteria α -amylase. *International Journal of Engineering and Technology*, 6 (1) : 1333-1341.
- Olympia, M., Fukuda, H., Ono, H., Kaneko, Y., & Takano, M. 1995. Characterization of starch-hydrolyzing lactic acid bacteria isolated from a fermented fish and rice food, "Burong Isda", and its amylolytic enzyme. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80(2) : 124-130.
- Petrova, P., Petrov, K., & Stoyancheva, G. 2013. Starch-modifying enzymes of lactic acid bacteria—structures, properties, and applications. *Starch-Stärke*, 65(1-2) : 34-47.
- Putri, W. D. 2011. *Karakteristik Bakteri Asam Laktat Amilolitik Lokal dan Peranannya Dalam Baking Behaviour Pati Kasava Asam* (Doctoral dissertation, Universitas Gadjah Mada).
- Putri, W. D. R., Haryadi, D. W. M., & Cahyanto, M. N. 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat amilolitik selama fermentasi growol, makanan tradisional Indonesia. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 13(1), 52-60.
- Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C. R., Soccol, V. T., Singh, D., & Mohan, R. 2000. Advances in Microbial Amylases. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 31 (2) :135-152.
- Mehta, D. and Tulasi, S. 2016. Bacterial and Archaeal α -Amylases: Diversity and Amelioration of the Desirable Characteristics for Industrial Applications. *Front. Microbiol*, 7 (1129) : 1-21.
- Rabfiani, S. dan Hanafiah, M. 2002. Karakterisasi Awal Bakteriosin Produksi Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Pliek U. *Jurnal Sain Veteriner*, 20(1) : 30-34.
- Ravindran, R. and Jaiswal A.K. 2016. Microbial Enzyme Production Using Lignocellulosic Food Industry Wastes as Feedstock: A Review. *J. Bioengineering (Basel)*, 3 (4) : 1-22.
- Raveendran, S., Binod P., Sabeela B.U., Amith A., Anil K.M., Aravind M., Sharrel R., and Ashok P. 2018. Applications of Microbial Enzymes in Food Industry. *Food Technol. Biotechnol.* 56 (1) : 16–30.
- Reddy, N. S., Nimmagadda, A., and Rao, K. S. 2003. An Overview of the Microbial α -Amylase Family. *African Journal of Biotechnology*, 2 (12) : 645-648.
- Rinaldi, R., Samingan, S., dan Iswadi, I. 2018. Isolasi dan Identifikasi Jamur pada Proses Pembuatan Pliek U. *Prosiding Biotik*, 3 (1) : 273-280.
- Robinson, P.K. 2015. Enzymes: Principles and Biotechnological Applications. *Essays Biochem.*, 59: 1-41.
- Singh, R., Manoj, K., Anshumali, M., and Praveen, K.M. 2016. Microbial Enzyme: Industrial Progress in 21st Century. *3 Biotech*, 6 (2) : 174.
- Sudirman, L. I. 2009. Characterization Antimicrobes of Pliek U, A Traditional Spice of Aceh. *HAYATI Journal of Biosciences*, 16(1), 30-34.
- Souza, P. M. D. 2010. Application of microbial α -amylase in industry-A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41 (4) : 850-861.
- Suryani, S., Nofiandi, D., Mukhtar, H., Siska, M., Dharma, A., & Nasir, N. 2017. Identifikasi Molekular Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus paracasei* yang Ada Pada Lapisan Minyak VCO. *Jurnal Katalisator*, 2(2), 79-87.
- Susilawati, I. O., Batubara, U. M., dan Riany, H. 2015. Analisis Aktivitas Enzim Amilase yang Berasal dari Bakteri Tanah di Kawasan Universitas Jambi. *SEMIRATA*, 4(1) : 359-367.