

POTENCY OF MUNG BEAN SPROUT AS ENZYME SOURCE (α -AMILASE)

Potensi Kecambah Kacang Hijau sebagai Sumber Enzim A-Amilase

Suarni^{1,*} and Rauf Patong²

¹Indonesian Cereals Research Institute. Jl. Dr. Ratulangi no.274, Maros 90514.
PO.Box.1173 Makassar

²Department of Chemistry Faculty of Mathematics and Natural Science
Hasanuddin University. Jl. Perintis Kemedekaan KM.10Makassar

Received 1 May 2007; Accepted 28 August 2007

ABSTRACT

Mung bean sprouts contain enzyme of α -amylase. A research on the effect of the sprout age and sprout varieties to the α -amylase activity and the protein level has been carried out in Laboratorium Bioproses BB Pascapanen Bogor using Full Factorial Random Design with two factorials (1) sprout age; 1, 2, 3, 4, and 5 days as well as (2) varieties of mung bean; Kenari, Bhakti and Parkit. Parameters observed were water and protein content of sprout, pH, activities of α -amylase, and dissolved protein in the enzyme extract. Results showed that the optimum temperature of α -amylase was 30 °C, the highest protein level of sprout and the highest activity of α -amylase were given by the sprout of Bhakti at the age of three days. The water content in sprout was 65.23%, the protein level was 12.93 %, the dissolved protein in the enzyme extract was 2.88743 mg/mL, pH was 5.45, and the activity of enzyme was 4.09 Unit/mL. The potency of enzyme found in mung bean can be utilized in industries processing materials having high starch content, such as maize flour.

Keywords; sprout of mung bean, activity of α -amylase, protein

PENDAHULUAN

Kini dan ke depan pemanfaatan enzim banyak diaplikasikan secara luas terutama dalam proses pengolahan pangan komersial. Dewasa ini sebagian besar kebutuhan enzim masih dipenuhi dengan jalan impor. Hal tersebut tidak menguntungkan dari segi devisa dan pengembangan bioteknologi di Indonesia. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk menghasilkan enzim sehingga kebutuhan dalam negeri dapat diatasi.

Sumber enzim dapat diperoleh dari tanaman, hewan dan mikroorganisme. Salah satu enzim pemecah pati adalah enzim α -amilase (α -1,4-glukan-glukanodidrolase; EC.3.2.1.1.), enzim ini sangat berperan dalam industri pembuatan roti dan sirup. Enzim α -amilase banyak terdapat pada kecambah kacang-kacangan. Enzim α -amilase dalam biji dibentuk pada waktu awal perkecambahan oleh asam giberilik. Asam giberilik adalah suatu senyawa organik yang sangat penting dalam proses perkecambahan suatu biji karena bersifat sebagai pengontrol perkecambahan tersebut [1].

Pemilihan kacang hijau sebagai sumber enzim α -amilase karena dalam bentuk kecambah mengandung tokoferol (pro vitamin E) 936,4 ppm, fenolik 11,3 ppm. Senyawa tersebut merupakan antioksidan yang sangat penting terhadap kesehatan terutama balita. Senyawa fenolik dengan antioksidan lainnya pada konsentrasi rendah dapat melindungi bahan pangan tersebut dari kerusakan oksidatif. Selain itu, kacang hijau memiliki kelebihan dari segi ekonomis dan agronomis

dibandingkan dengan tanaman kacang-kacangan lainnya [2,3].

Keberhasilan isolasi dan pengujian aktivitas enzim sangat tergantung pada macam serta kondisi sumber enzim, letak enzim, kecermatan kerja, bahan dan cara ekstraksi yang dipergunakan serta pengertian sifat-sifat enzim tersebut Enzim α -amilase termasuk ekstraselular, sehingga mengekstraknya relatif mudah [4,5].

Tujuan penelitian untuk mempelajari potensi kecambah kacang hijau sebagai sumber enzim α -amilase, dan memberikan informasi mengenai suhu inkubasi optimum, aktivitas enzim optimum pada kondisi baik umur kecambah maupun varietas kacang hijau.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan baku yang digunakan adalah biji kacang hijau varietas Bhakti, Kenari dan Parkit. Bahan kimia yang digunakan adalah larutan Na-asetat 0,2 M, asam asetat 0,2 M, NaOH 0,02M, *soluble starch*, Na₂HPO₄ 0,2M, pereaksi DNS (3,5-dinitro salicylic acid), BSA (*Bovin Serum Albumin*) standar, pereaksi Folin ciocalteau, H₂SO₄ pekat, indikator pp (*phenolphthalein*), indikator BCG (*Bromo Cresol Green*), asam borat 1%.

Alat

Cawan petri, timbangan, pinset, gelas ukur, gelas piala, blender, erlenmeyer, sentrifus refrigerant,

* Corresponding author. Tel: 0411492382; Fax :0411371961
Email address : ananyahya@yahoo.com

inkubator, termometer, Spektrofotometer, Oven, Kjeltach, dan alat bantu analisis lainnya.

Prosedur Kerja

Rancangan Percobaan

Menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial: faktor (1) tiga macam varietas, (2) umur kecambah (1, 2, 3, 4, dan 5 hari), masing-masing tiga ulangan. Parameter yang diamati; pH, kadar air (Oven 105 °C), protein (mikro Kjeldahl), aktivitas enzim α -amilase, dan protein terlarut ekstrak enzim (Lowry) [6].

Pengujian enzim

Pengujian aktivitas enzim dengan cara ; 1 mL filtrat enzim hasil ekstraksi ditambahkan dengan 1 mL larutan substrat (soluble starch), kemudian diinkubasi selama 3 menit pada suhu optimum 30 °C. Reaksi enzim dilanjutkan dengan penambahan 2 mL DNS (3,5 dinitro salicylic acid). Ditambahkan 20 mL aquades dan serapan diukur dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.

Aktivitas enzim α -amilase = $C \times 1/T \times 1 \text{ unit/1mikromol}$ dimana:

C = Konsentrasi maltosa per mL ekstrak enzim (mikromol)

T = Waktu inkubasi (menit)

1 unit enzim α -amilase = besarnya aktivitas enzim yang dibutuhkan untuk membebaskan 1 mikromol maltosa per menit per mL enzim.

Pembuatan ekstrak enzim dari kecambah kacang hijau

Biji kacang hijau disortasi hingga diperoleh biji bersih dan utuh, dicuci, direndam dengan aquades selama 30 menit, ditiriskan, kemudian diperam dalam wadah berpori sampai terjadi perkecambahan. Waktu perkecambahan (1, 2, 3, 4 dan 5 hari).

Kecambah dibersihkan dengan melepas kulit luarnya, sebagian diambil sebagai sampel untuk analisis kadar protein dan air. Sebagian ditimbang kemudian dihancurkan dengan blender, dimana untuk 1 g kecambah ditambahkan 5 mL buffer asetat 0,2 M pH 5. Kecambah yang sudah hancur disimpan selama 10 menit sambil sekali-sekali dikocok kemudian dilakukan penyaringan dengan kapas. Filtrat yang dihasilkan disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 2000 rpm pada suhu 5 °C. Supernatan (ekstrak enzim) yang dihasilkan diukur volumenya dan ditempatkan ke dalam wadah steril untuk dianalisis antara lain; aktivitas enzim α -amilase, pH, dan protein terlarut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan suhu inkubasi optimum pada uji aktivitas

enzim α -amilase. Sampel yang diuji adalah ekstrak enzim kecambah kacang hijau varietas Kenari pada umur hari ketiga. Hasil pengamatan menunjukkan suhu inkubasi optimum adalah pada 30°C.

Kadar air kecambah kacang hijau

Uji statistik menunjukkan hari perkecambahan berpengaruh nyata terhadap kadar air kecambah. Kadar air kecambah ke tiga varietas kacang hijau mengalami kenaikan mengikuti bertambahnya umur perkecambahan. Kisaran kadar air pada hari pertama 40,71 – 44,43 %, hari kedua 50,51 – 54,62 %, hari ketiga 59,57 – 65,23 %, hari keempat 69,47 – 72,50 % dan pada hari kelima 72,13 – 76,11 % (Tabel 1). Hasil penelitian menunjukkan kenaikan kadar air dan penurunan protein, sedangkan pada ekstrak enzim terjadi kenaikan aktivitas α -amilase. Hal tersebut menunjukkan bahwa sebagian protein kecambah membentuk enzim α -amilase. Kadar air kecambah ketiga varietas mengalami kenaikan mengikuti umur kecambah hingga hari kelima.

Kenaikan kadar air kecambah disebabkan karena tahap pertama suatu perkecambahan benih dimulai dengan proses penyerapan air oleh biji, melunaknya kulit biji kacang hijau dan hidrasi dari protoplasma [8]. Sebelum perkecambahan, proses penyerapan air sudah mulai dengan perlakuan perendaman biji dilakukan selama 30 menit.

Masuknya air ke dalam bahan mengakibatkan zat-zat cadangan menjadi aktif. Proses masuknya air melalui kulit biji adalah proses fisik yang berhubungan dengan sifat kimiawi dari kulit biji dan sifat tanggap biji terhadap kesediaan air sekitarnya [9].

Tabel 1. Kadar air dan protein kecambah kacang hijau

Varietas	Umur kecambah (hari)	Kadar air (%)	Kadar protein (%)
Kenari	1	40,71 ^e	13,52 ^a
	2	53,52 ^d	11,72 ^b
	3	62,54 ^c	10,48 ^c
	4	72,50 ^b	8,72 ^d
	5	76,11 ^a	7,40 ^e
Bhakti	1	44,43 ^e	15,30 ^a
	2	54,62 ^d	13,35 ^b
	3	65,23 ^c	12,93 ^c
	4	69,47 ^b	9,25 ^d
	5	72,13 ^a	8,20 ^e
Parkit	1	41,52 ^e	14,46 ^a
	2	50,51 ^d	12,50 ^b
	3	59,57 ^c	11,21 ^c
	4	70,42 ^b	8,31 ^d
	5	73,55 ^a	7,20 ^e

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom (a, b,...) tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 uji Duncan

Sifat kimiawi tersebut berupa proses hidrasi dari koloida-koloida hidrofili yang berakibat bertambah besarnya volume dan timbulnya tekanan imbibisi, pada awal proses absorpsi dari air menyebabkan terjadinya pengeluaran panas. Adanya panas menunjukkan terjadinya proses pembentukan susunan-susunan kimiawi yang baru atau terjadi suatu pembenahan baru komponen-komponen di dalam benih/kecambah tersebut. Koloida-koloida yang membentuk gel hidrofili merupakan dinding semipermeabel dalam proses masuknya air dalam biji mengikuti kaidah sistem osmose [1].

Kadar protein kecambah kacang hijau

Kadar protein kecambah dari ketiga varietas kacang hijau semakin menurun dengan bertambahnya umur kecambah. Penurunan kadar protein tiap varietas menunjukkan selisih yang beragam. Umur kecambah hari pertama varietas Bhakti tertinggi (15,30 %) diikuti oleh varietas Parkit (14,46 %) dan Kenari (13,52 %) dengan selisih kadar protein yang relatif kecil. Kadar protein mengalami penurunan mengikuti bertambahnya hari kecambah. Berturut-turut mulai hari pertama, kedua, ketiga, keempat dan hari kelima terhadap varietas Kenari adalah 13,52 %, 11,72 %, 10,48 %, 8,72 % dan 7,40 % (Tabel 1).

Kecambah varietas Bhakti dari 15,30 %, 13,35 %, 12,93 %, 9,25 % dan 8,20 %. Sedangkan varietas Parkit dari 14,46 %, 12,50 %, 11,21 %, 8,31 % dan 7,20 %. Kisaran kadar protein ketiga kecambah kacang hijau adalah hari pertama 13,52 – 15,30 %, hari kedua 11,72 – 13,35 %, hari ketiga 10,48 – 12,93 %, hari keempat 8,31 – 9,25 %, dan hari kelima 7,20 – 7,40%. Data tersebut menunjukkan bahwa kadar protein varietas Bhakti kelima umur kecambah mengandung protein tertinggi dibanding varietas Kenari dan Parkit.

Penurunan kadar protein kecambah kacang hijau diperjelas beberapa pendapat. Perlakuan perkecambahan turut mempengaruhi kadar protein, selama perkecambahan. Selanjutnya terjadi penurunan berat kering pada kotiledon yang disebabkan lepasnya gula selama perendaman dan perkecambahan. Protein dalam kecambah digunakan untuk pembentukan protein baru, cytoplasma, membran, ribosom, mitochondria dan terpenting pembentukan α -amilase [10].

Aktivitas enzim α -amilase ekstrak enzim

Pada penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa suhu optimum aktivitas enzim α -amilase tertinggi pada suhu 30 °C.

Uji statistik menunjukkan umur dan varietas kecambah kacang hijau berpengaruh nyata terhadap aktivitas α -amilase. Hari pertama dan kedua perkecambahan, aktivitas enzim α -amilase belum stabil, hal ini diperlihatkan ketiga varietas. Misalnya aktivitas

enzim α -amilase varietas Kenari pada hari pertama 1,92 unit/mL turun pada hari kedua menjadi 1,81 unit/mL, kemudian naik menjadi 2,62 unit/mL pada hari ketiga, turun kembali menjadi 2,46 unit/mL pada hari keempat, dan pada hari kelima turun menjadi 2,19 unit/mL (Tabel 2).

Pada varietas Parkit dari 1,96 unit/mL turun menjadi 1,66 unit/mL pada hari kedua, kemudian naik menjadi 2,91 unit/mL pada hari ketiga, hari keempat relatif tetap yaitu 2,93 unit/mL dalam artian tidak berbeda nyata, selanjutnya pada hari kelima turun menjadi 2,49 unit/mL.

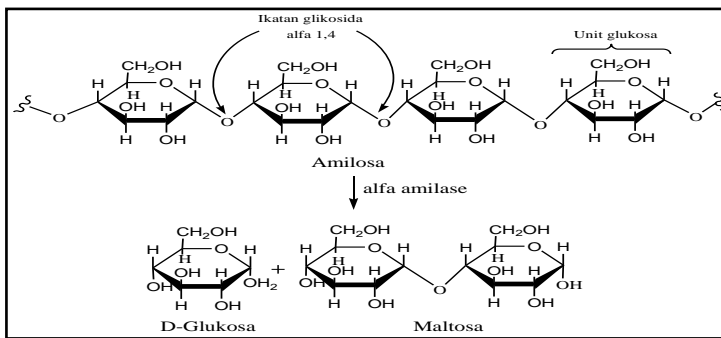
Aktivitas enzim α -amilase varietas Bhakti pada hari pertama 3,09 unit/mL, turun menjadi pada 2,99 unit/mL, naik menjadi 4,09 unit/mL pada hari ketiga (Tabel 4). Hasil penelitian tersebut didukung hasil penelitian sebelumnya bahwa pada waktu permulaan perkecambahan yaitu setelah 6 jam Giberellic Acid (GA) membentuk enzim α -amilase. Kemudian enzim tersebut dalam 12-18 jam perkecambahan (hari pertama) mencerna amilosa dan amilopektin pada pati kecambah (Gambar 1,2). Hal tersebut menyebabkan aktivitas enzim α -amilase lebih besar dibandingkan pada hari kedua. Aktivitas enzim mulai naik secara stabil pada hari ketiga dan turun pada hari keempat dan kelima [1].

Penyerapan air pada proses perkecambahan biji mempunyai aktivitas utama untuk mengaktifkan makromolekul dan organel sel di dalam biji. Selama proses perkecambahan sebagian besar enzim dalam biji menjadi aktif diantaranya enzim α -amilase. Kadar

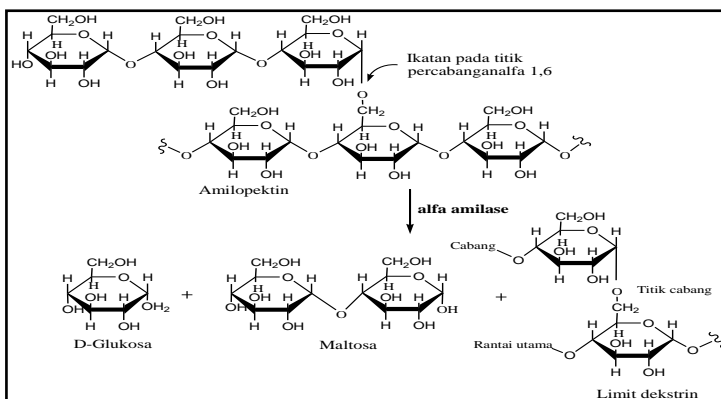
Tabel 2. Aktivitas enzim α -amilase, pH, protein terlarut ekstrak enzim, dan aktivitas spesifik ekstrak kecambah

Varietas	Umur kecambah (Hari)	Aktivitas enzim α -amilase (Unit/mL)	pH	Protein Terlarut (mg/mL)	Aktivitas spesifik (Unit/mg)
Kenari	1	1,92 ^c	5,69 ^a	3,30	0,58
	2	1,81 ^c	5,14 ^{ab}	3,56	0,50
	3	2,62 ^a	5,43 ^a	1,66	1,57
	4	2,46 ^a	5,24 ^a	1,86	1,32
	5	2,19 ^b	5,03 ^b	3,49	0,62
Bhakti	1	3,09 ^b	5,61 ^a	3,66	0,84
	2	2,99 ^b	5,23 ^a	3,49	0,85
	3	4,09 ^a	5,45 ^a	2,37	1,73
	4	2,87 ^b	5,22 ^a	3,08	0,93
	5	2,66 ^c	4,90 ^a	3,90	0,42
Parkit	1	1,96 ^c	5,79 ^a	2,73	0,71
	2	1,66 ^d	5,42 ^a	3,65	0,45
	3	2,91 ^a	5,51 ^a	1,86	1,56
	4	2,93 ^a	5,22 ^a	1,74	1,68
	5	2,49 ^b	4,89 ^a	2,40	1,08

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom (a, b,...) tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 uji Duncan



Gambar 1. Deskripsi skematik aktivitas α -amilase terhadap amilosa



Gambar 2. Deskripsi skematik aktivitas α -amilase terhadap amilopektin

air bahan sangat mempengaruhi laju reaksi enzimatik. Pada kadar air bebas yang rendah terjadi halangan dan rintangan sehingga baik difusi enzim atau substrat terhambat. Kegiatan enzim terjadi bila terdapat molekul air lebih banyak dari absorpsi monomolekuler. Peningkatan kadar air bebas digunakan untuk melancarkan reaksi enzim [1,11].

Demikian juga halnya protein mengalami perombakan, protein yang dirombak dalam biji adalah tipe protein yang tidak aktif dalam proses metabolisme, sedangkan yang lain adalah aktif yang disebut enzimprotein dan nukleoprotein dalam jumlah yang sedikit.

Umumnya aktivitas enzim α -amilase terjadi pada suhu 30-40 °C dan aktivitasnya akan mengalami penurunan pada kisaran suhu 45-50 °C, hal ini disebabkan karena enzim mengalami denaturasi akibatnya molekul-molekul enzim rusak sehingga kehilangan spesifitasnya [5,8].

Sebelumnya, informasi suatu hasil penelitian terhadap kecambah gandum bahwa mulai hari pertama sampai hari keempat terjadi kenaikan aktivitas enzim α -amilase. Selanjutnya pada hari kelima mengalami penurunan, hal ini menunjukkan hasil penelitian aktivitas enzim sumber kecambah kacang hijau relatif sama dengan kecambah gandum [12].

Nilai pH

Tujuan mengukur pH untuk mengetahui pH ekstrak enzim kecambah apakah masih sesuai dengan pH lingkungan α -amilase. Kisaran pH ekstrak enzim kecambah ketiga varietas hari pertama 5,61 – 5,79, hari kedua 5,14 – 5,42, hari ketiga 5,43 – 5,51, hari keempat 5,22 – 5,24. Perubahan pH ekstrak kecambah varietas Kenari mulai dari hari pertama 5,69 turun menjadi 5,14 pada hari kedua, naik lagi pada hari ketiga yaitu 5,43, pada hari keempat 5,24 dan pada kecambah hari kelima menjadi 5,03. Demikian juga varietas Bhakti dan Parkit mengalami pola perubahan nilai pH yang sama dengan varietas Kenari hanya nilai pH yang berbeda dan perbedaan yang tidak berarti (Tabel 1).

Kondisi pH ekstrak kecambah masih diantara pH aktivitas optimal yaitu 4,89-5,79. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya kisaran aktivitas enzim α -amilase 4,8-8,5 [5,13]. Perbedaan kisaran pH tersebut tergantung sumber enzimnya. Data perkecambahan hari ketiga menunjukkan bahwa varietas Bhakti mengandung protein tertinggi yaitu 12,93% dan aktivitas enzim α -amilase tertinggi yaitu 4,09 unit/mL.

Protein terlarut ekstrak enzim

Konsentrasi protein terlarut dalam ekstrak enzim menunjukkan perbedaan baik antar ketiga varietas maupun umur kecambah. Pada grafik terlihat pada hari pertama kecambah protein terlarut varietas Kenari 3,30 mg/mL, Bhakti 3,66 mg/mL dan Parkit 2,73 mg/mL, selanjutnya pada hari kedua umur kecambah konsentrasi ketiga varietas hampir ketemu disuatu titik dengan kisaran 3,49-3,65 mg/mL. Selanjutnya pada hari ketiga umur kecambah protein terlarut turun drastis pada varietas Kenari dan Parkit, sedangkan varietas Bhakti relatif rendah turunnya dengan konsentrasi 2,87 mg/mL.

Pada hari keempat umur kecambah konsentrasi protein terlarut naik kembali, hingga hari kelima umur kecambah menghasilkan protein terlarut tertinggi pada varietas Bhakti yaitu 3,91 mg/mL diikuti oleh varietas Kenari dan Parkit masing-masing 3,49 mg/mL dan 2,40 mg/mL.

Perbedaan konsentrasi protein terlarut ekstrak enzim diduga berasal dari kadar protein awal kecambah tiap varietas. Demikian juga terlihat ada korelasi antara naiknya aktivitas enzim α -amilase dan turunnya konsentrasi protein terlarut tiap perlakuan. Misalnya ekstrak enzim varietas Bhakti aktivitas α -amilase tertinggi pada hari ketiga yaitu 4,09 Unit/mL dan sebaliknya konsentrasi protein terlarut terendah dibanding umur kecambah lainnya yaitu 2,89 mg/mL.

Kadar protein ekstraseluler diukur untuk menilai seberapa jauh peningkatan aktivitas enzim dipengaruhi protein-protein lain yang ikut larut dalam ekstrak enzim. Keragaman besarnya kelarutan protein dalam ekstrak

enzim, selain dipengaruhi oleh kadar protein dalam bahan, proses ekstraksi juga akan berpengaruh terutama pada tahap penyaringan dan sentrifugasi.

Aktivitas spesifik enzim α -amilase

Beberapa ahli memasukkan kadar protein terlarut sebagai faktor dalam mengukur aktivitas enzim dalam unit aktivitas spesifik. Aktivitas spesifik adalah jumlah mikromol produk aktivitas enzim permiligram protein. Aktivitas spesifik enzim α -amilase tertinggi dihasilkan adalah 1,73 Unit/mg varietas Bhakti pada umur hari ketiga.

Pemanfaatan kecambah kacang hijau sebagai sumber enzim α -amilase

Ekstrak enzim α -amilase yang terkandung dalam kecambah kacang hijau tersebut dapat dimanfaatkan pada modifikasi pati atau tepung-tepungan. Sebaiknya pemanfaatan enzim tersebut dengan bahan sumbernya. Berdasarkan pertimbangan lebih ekonomis, karena tidak perlu mengekstrak enzimnya. Selain itu, kecambah kacang hijau pada hari ketiga mengandung nutrisi tinggi terutama senyawaan antioksidan seperti tokoferol (pro vitamin E) 936,4 ppm, fenolik 11,3 ppm. Senyawa fenolik dengan antioksidan lainnya pada konsentrasi rendah dapat melindungi bahan pangan tersebut dari kerusakan oksidatif [2].

Menggunakan enzim α -amilase dalam pengolahan bahan pangan sangat menguntungkan, karena lebih aman dan adanya tambahan nutrisi dari bahan tersebut [13,14]. Misalnya pada bahan sumber karbohidrat yang mengandung pati beramilosa tinggi dalam sereal [15,16].

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kecambah varietas Bhakti pada umur hari ketiga mengandung kadar protein dan aktivitas enzim α -amilase tertinggi dibanding perlakuan lainnya. Kecambah berkadar air 65,23%, protein 12,93%, sedangkan ekstrak enzim mengandung protein terlarut 28874,3 mg/mL, pH 5,45, aktivitas enzim 4,09 U/mL, dan aktivitas spesifik 1,73 U/mg. Pemanfaatan kecambah kacang hijau sebagai sumber enzim α -amilase, sebaiknya dengan bahan kecambahnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Setyono, A. 1982, *Aspek Penambahan Asam Fitat dalam Kacang Hijau Selama Perkecambahan*. Tesis. Pascasarjana UGM. Yogyakarta. hal. 54-59.
2. Cahyono, D., 2004, *Pengaruh Proses Pengeringan Terhadap Sifat Fisikokimia dan Fungsional Tepung Kecambah Kacang Hijau Hasil Germinasi dengan Perlakuan Natrium Alginat Sebagai Elisitor Penolik Antioksidan*. Skripsi IPB. Tidak Dipublikasi. 72 hal.
3. Sumarno dan I. Manwan. 1990. *Grain Legumes*. National Coordinated Research Program. Central Res. Inst for Agric. (CRIFC). Bogor.
4. Rahayu, K., 1988, *Isolasi dan Pengujian Aktivitas Enzim*. Pusat antar Aniversitas. UGM. Yogyakarta. hal. 1-7.
5. Richana, N., Setyawan, A., Hartoto, L., dan Damardjati, D.S., 1999, Kinetik Kultivasi Produksi α -Amilase oleh Isolat Bakteri Mesofilik MII-10. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 4 (2): 41-48.
6. AOAC, 1995, *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Washington. D.C.
7. Sutopo, J., 1993, *Aktivitas Enzim Hidrolitik Kapang Rhizopus spp pada Tempe*. Program Pascasarjana KPK. IPB. Bogor. hal. 22-27.
8. Poehlman, P., and Milton, J., 1991, *The Mungbean Quality and Utilization*. Third edition. Oxford.p. 315-337.
9. Setiasih, T., 1993, *Pengaruh Cara Pembuatan Tepung Kecambah Kacang Hijau (Vigna Radiata) terhadap Kandungan Gizi dan Antinutrisi*. Fateta. IPB. Bogor.
10. Winarno, F.G., 1983, *Enzim Pangan*. Ed. III. PT. Gramedia. Jakarta. hal. 18-59.
11. Marie, A., 1993, Introduction and Secretion of α -Amylase . Treated half Seeds and Aleurones of Wheat. *Journal Cereal Chemistry*. 70 (2):127-130.
12. Fogarty, W.M., 1983, *Microbial Amylases*. In Fogarty (ed). *Myrcobial Enzymes and Technology*. Applied Science Publisher Ltd., London. Appl. Sci. Publ.
13. BIOTEC, 2003, *Physically Modified Cassava Starch and its Potential Application in Food and Non-food Industry*. (www.me.BIOTEC.him .diakses 12 Maret 2004).
14. Marchal, L., and Beeftink, R., 2002, *Enzymatic Starch Hydrolysis*. (www.ftns.wau.nl. diakses 12 Oktober 2005).
15. Chibbar, R., 2000, *Carbohydrate Modification*. An Intregated Approach to Cereal Improvement. (<http://www.pbi.nrc.ca/en/research/carb.htm> diakses 5 September 2002).
16. Wang, N.S., 2002. *Starch Hydrolysis by Amylase*. (www.Glue.umd.edu. diakses 10 April 2004).