

**Isolasi dan Karakterisasi Enzim Amilase Dari Tepung Kacang Gude (*Cajanus cajan*)**

**Khomarul Maulidatul Hasanah\*, Hilwaton Nisa', Christina Rahmawati, Fitria Alliyu Nirmala, Nur Maulidiyah Ayu Safitri**

Mahasiswa Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Gresik, Jl. Sumatera No.101, Kecamatan Kebomas, Kabupaten Gresik, Jawa Timur, 61121

\*email penulis: [khomarul20@gmail.com](mailto:khomarul20@gmail.com)

**Info Artikel****Sejarah Artikel:**

Disubmit : 15-09-2025

Direvisi : 29-09-2025

Disetujui : 3-10-2025

**Kata Kunci :**

Aktivitas enzim; Amilase;  
Ammonium sulfat, *Cajanus cajan*,  
Enzim kasar

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi enzim amilase dari tepung kacang gude (*Cajanus cajan*) dan membandingkan aktivitas enzimatik antara ekstrak kasar dengan fraksi enzim hasil pengendapan menggunakan ammonium sulfat bertingkat. Ekstraksi enzim dilakukan melalui homogenisasi tepung kacang gude dengan buffer fosfat, kemudian diikuti dengan sentrifugasi. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar. Ekstrak ini kemudian diendapkan (fraksinasi) menggunakan ammonium sulfat jenuh 50% dan 60%. Aktivitas enzim amilase diuji berdasarkan kemampuan enzim menghidrolisis pati menjadi gula pereduksi yang diukur menggunakan metode DNS (3,5-dinitrosalisilat). Hasil menunjukkan bahwa aktivitas enzim meningkat setelah pengendapan ammonium sulfat 60%, menandakan peningkatan kemurnian relatif. Penelitian ini menunjukkan potensi kacang gude sebagai sumber alternatif enzim amilase nabati. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melanjutkan pemurnian dan karakterisasi enzim amilase, termasuk uji pH, suhu, stabilitas, dan kinetika. Selain itu, pengujian pada berbagai substrat perlu dilakukan untuk mengevaluasi potensi aplikatif enzim dalam industri pangan dan non-pangan.

**Pendahuluan**

Enzim amilase berperan memecah zat tepung dan polisakarida lainnya menjadi monosakarida, bentuk gula dan maltose yang dapat diserap tubuh. Enzim amilase memiliki peranan penting di berbagai proses industry, seperti pengolahan makanan (Paludo et al., 2025), bioethanol (Sahu, 2024), farmasi (Zain Ali, 2025) dan deterjen (Sharma et al., 2022; Ugwuoji et al., 2023). Dengan meningkatnya pemanfaatan enzim amilase, diperlukan sumber alternatif berasal dari bahan baku yang mudah diperoleh. Salah satu bahan yang berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber amilase adalah kacang gude (*Cajanus cajan*). Secara nutrisi, biji kacang gude kaya akan protein nabati (20–25%), karbohidrat kompleks, serat, serta berbagai mineral penting seperti zat besi dan fosfor (Gufi et al., 2022). Kandungan proteinnya yang tinggi menjadikan kacang gude sebagai kandidat potensial untuk sumber protein fungsional, termasuk sebagai bahan baku isolasi enzim.

Salah satu langkah awal yang penting dalam proses pemurnian enzim dari sumber biologis adalah isolasi enzim kasar, di mana jaringan atau kultur sel diproses untuk mengeluarkan enzim dan memisahkannya dari komponen seluler lain. Namun, ekstrak kasar sering mengandung banyak protein non-enzim dan kontaminan yang dapat mengurangi aktivitas spesifik serta stabilitas enzim. Oleh karena

itu, langkah pemurnian awal diperlukan untuk memperbaiki aktivitas spesifik enzim sebelum tahap pemurnian lebih lanjut.

Pengendapan ammonium sulfat menerapkan prinsip "salting out", dimana kelarutan protein menurun seiring meningkatnya konsentrasi garam. Pada kondisi kejenuhan tertentu, protein akan mengendap secara selektif, memungkinkan pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan (Sharma et al., 2022). Metode ini efektif, ekonomis, dan dapat meningkatkan aktivitas spesifik enzim. Penelitian oleh (Suthar, 2024) berhasil meningkatkan kemurnian amilase dari *Bacillus licheniformis* dengan menggunakan pengendapan ammonium sulfat pada kejenuhan 60%.

Dalam penelitian ini, dilakukan isolasi enzim amilase dari kacang gude (*Cajanus cajan*), dengan proses pemurnian awal menggunakan pengendapan ammonium sulfat. Tujuan utama adalah untuk membandingkan aktivitas enzim antara ekstrak kasar dan hasil fraksinasi pada tingkat kejenuhan tertentu, serta mengevaluasi efektivitas metode ini dalam meningkatkan kemurnian dan aktivitas spesifik enzim amilase.

## **Metode Penelitian**

### **Alat dan Bahan**

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang gude (*Cajanus cajan*), Buffer fosfat pH 5, 6, dan 7, larutan iodium, HCl 1 M, akuades, ammonium sulfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , (p.a, merck), pati (p.a, merck), standar BSA (*Bovine Serum Albumin*), Reagen DNS. Alat yang digunakan spektrofotometer, timbangan analitik.

### **Pembuatan Tepung Kacang Gude (*Cajanus cajan*) (Naka et al., 2025)**

Pembuatan tepung kacang gude dimulai dengan pemilihan biji yang sehat dan bersih. Biji kacang gude dicuci untuk menghilangkan debu dan kotoran, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 70 - 80°C. Selanjutnya biji dikupas (*dehulling*) untuk menghilangkan kulit luar yang dapat mengandung inhibitor atau bahan non-protein yang mengganggu. Setelah itu biji digiling menggunakan penggiling halus dan diayak pada ukuran 100 mesh untuk memperoleh tepung yang homogen. Tepung yang dihasilkan kemudian disimpan dalam wadah kedap udara dan dilindungi dari lembab serta cahaya agar tidak terjadi kerusakan seperti oksidasi atau pertumbuhan mikroba.

### **Ekstraksi Enzim Kasar (Baltas et al., 2016)**

Tepung kacang gude sebanyak 300 gram ditambahkan 600 mL buffer fosfat 50 mM pH 7,5 selama 10 menit. Disaring dan didekantasi sehingga terpisah antara ekstrak dan endapan pati. Ekstrak selanjutnya disentrifugasi dengan putaran 4000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh diuji aktivitas dan konsentrasi protein totalnya. Supernatan yang dihasilkan disebut sebagai ekstrak kasar.

### **Pengendapan Ammonium Sulfat (Pratantie et al., 2021)**

Larutan enzim dimasukkan ke dalam tabung ditambahkan larutan ammonium sulfat hingga mencapai 50% jenuh. Campuran diaduk dan didiamkan selama 5 menit pada suhu kamar, kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung yang baru. Endapan yang terbentuk disebut fraksi 50% ammonium sulfat jenuh. Endapan dilarutkan dengan buffer fosfat 50 mM pH 7,5. Endapan dilarutkan dengan buffer fosfat mM pH 7,5. Garam ammonium sulfat ditambahkan ke dalam supernatan dari tahap sebelumnya hingga mencapai 60% jenuh. Campuran diaduk dan didiamkan selama 5 menit pada suhu kamar. Campuran disentrifugasi selama 15 menit. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung baru. Endapan yang terbentuk disebut dengan fraksi 60% ammonium sulfat jenuh.

### **Pengujian Parameter**

### Uji Aktifitas Amilase dengan Metode Asam Dinitrosalisilat (DNS) (Wahjuni, 2017)

Uji aktifitas amilase menggunakan metode DNS dengan baku standar dibuat dengan dimasukkannya larutan glukosa dalam tabung reaksi dimasukan masing-masing konsentrasi 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, dan 50 mg/mL sebanyak 1 mL. Dalam setiap tabung ditambahkan reagen DNS 1,5 mL. Tabung reaksi dimasukan dalam inkubator pada suhu 100°C selama 10 menit. Untuk blanko dicampurkannya 1 mL akuades dan 1,5 mL reagen DNS. Selanjutnya diukur absorbansi dari larutan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 516 nm.

### Uji Aktifitas Amilase (Wahjuni, 2017)

Uji kuantitatif amilase menggunakan metode spektrofotometri dengan reagen DNS. Sampel disiapkan dengan mereaksikan 1 mL sampel dengan 1 mL substrat dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7 dan divortex untuk menghomogenkan larutan. Larutan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 70°C. Dalam larutan sampel 1 mL ditambah 1,5 mL reagen DNS. Campuran dihomogenkan dengan vortex. Diinkubasi kembali pada suhu 100°C selama 10 menit. Campuran didinginkan pada suhu ruang selama 20 menit, setelah dingin larutan dimasukan dalam vial dan diukur absorbansinya pada gelombang maksimal 516 nm. Aktivitas enzim amilase dinyatakan dalam unit per mL.

$$\text{Aktivitas enzim amilase} = \frac{\text{Glukosa}}{\text{BM Glukosa}} \times 1000 \times \frac{1}{T}$$

BM Glukosa = 180

1000 = konversi ppm ke  $\mu\text{g}$

T = Waktu Inkubasi (menit)

### Karakterisasi Enzim Amilase

#### Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim Amilase (Puspita Tazkiah et al., 2017)

Sebanyak 250  $\mu\text{L}$  larutan pati 3% dalam buffer fosfat 50 mM (pH 5,6,7, dan 8), ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  larutan enzim, ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  HCl 1 M, 250  $\mu\text{L}$  larutan Iodium (mengandung 2% KI dan 0,2% I<sub>2</sub>) dan diencerkan dengan akuades hingga volume 5 mL. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 600 nm.

#### Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim Amilase (Puspita Tazkiah et al., 2017)

Sebanyak 250  $\mu\text{L}$  larutan pati 3% dalam buffer 50 mM pH 7,5 ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  larutan enzim dan diinkubasi pada suhu 40°C, 50°C, 60°C, dan 70°C selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  HCl 1M, 250  $\mu\text{L}$  Larutan Iodium (mengandung 2% KI dan 0,2% I<sub>2</sub>) dan diencerkan dengan akuades hingga volume 5 mL. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 600 nm.

### Hasil dan Pembahasan

Pemanfaatan enzim untuk bidang industri harus memiliki aktivitas tinggi, kemurnian yang memadai, stabilitas terhadap kondisi operasi (suhu, pH). Hasil pengujian aktifitas amilase pada tepung kacang gude disajikan pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Aktivitas Enzim Amilase pada Tepung Kacang Gude (*Cajanus cajan*)

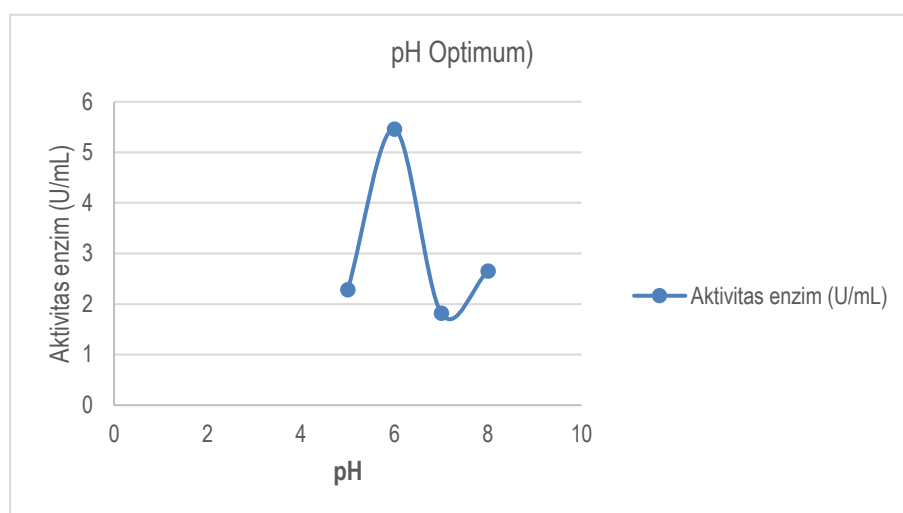
Tahap Pemurnian	Aktivitas Amilase (Unit/mL)
Enzim Kasar	0,586
Pengendapan 50%	0,390
Pengendapan 60%	0,217

Hasil menunjukkan bahwa aktivitas total enzim mengalami penurunan setelah pengendapan. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian kontaminan protein non-enzimatis berhasil dieliminasi melalui proses

pengendapan, sehingga meningkatkan kemurnian relatif dari amilase. Penggunaan garam ammonium sulfat sebagai salting out karena garam ini dapat merusak mantel air yang terdapat disekitar enzim (protein) sehingga protein akan membentuk koagulan (Puspita Tazkia et al., 2017). Selain itu ammonium sulfat memiliki tingkat kelarutan didalam air yang sangat tinggi, tidak mengandung zat-zat yang toksik terhadap kebanyakan enzim, harganya relatif murah dan jika digunakan dalam jumlah banyak dapat sebagai stabilisator enzim itu sendiri. Pemurnian protein terjadi dimana protein yang memiliki residu non polar yang tinggi akan mengendap terlebih dahulu. Hal ini sesuai dengan pendapat (Atmaja, 2013) bahwa protein hidrofobitas yang tinggi akan mengendap terlebih dahulu dan protein yang mengandung sedikit residu non polar akan larut dalam pemurnian dengan garam amonium sulfat.

### Karakterisasi Enzim Amilase pH Optimum

Aktivitas enzim amilase pada pengendapan 60% dengan berbagai pH penyangga (**Gambar 1.**)



**Gambar 1.** Grafik pengaruh pH terhadap aktivitas enzim amilase dari tepung kacang gude (*Cajanus cajan*)

Gambar 1 ini menunjukkan hubungan antara pH dan kinerja enzim, di mana kinerja maksimum tercapai pada pH sekitar 6, dengan nilai mendekati 5,5 U/mL. Ini mengindikasikan bahwa pH 6 adalah pH terbaik bagi enzim tersebut. pH optimal adalah kondisi di mana enzim berfungsi paling efektif dalam mempercepat reaksi, karena struktur tiga dimensi enzim, terutama pada situs aktif, berada dalam keadaan stabil untuk berikatan dengan substrat (Nelson dan Cox, 2017). Ketika pH terlalu rendah atau tinggi, kinerja enzim menurun secara signifikan, yang mungkin disebabkan oleh perubahan muatan ionik pada situs aktif enzim, atau bahkan denaturasi sebagian dari protein enzim itu sendiri. Kelebihan ion  $H^+$  atau  $OH^-$  dapat mengganggu ikatan hidrogen dan interaksi elektrostatik yang mempertahankan bentuk fungsional enzim, sehingga menghambat hubungan antara substrat dan enzim (Berg et al. , 2015). Enzim menunjukkan aktivitas yang signifikan pada rentang pH yang luas, dari 5 hingga 8, dengan aktivitas tertinggi diamati pada pH 6. Enzim amilase dilaporkan memiliki pH optimum antara 5 dan 6.  $\beta$ -amilase kedelai telah dilaporkan memiliki pH optimum berkisar antara 5 hingga 6 (Yao et al., 2024), amilase pada biji nangka memiliki pH optimum 6 (Puspita Tazkia et al., 2017), dan amilase kacang tunggak memiliki pH optimum 6 (Pratantie et al., 2021).

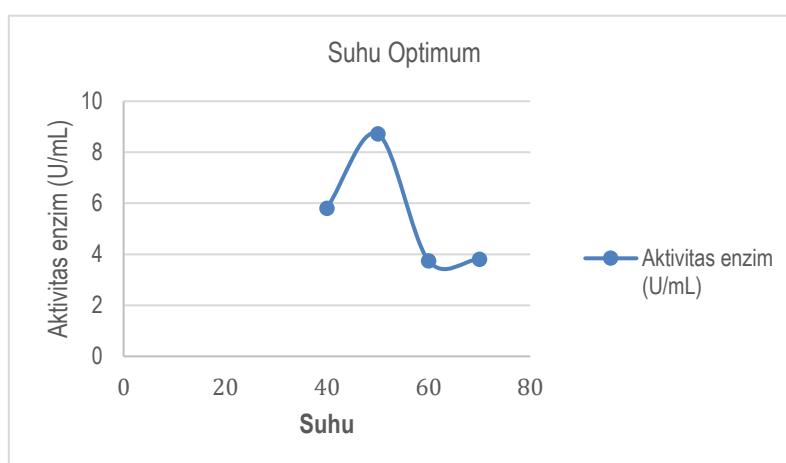
Meskipun pH 6 adalah kondisi paling ideal, enzim masih menunjukkan kinerja yang cukup baik pada pH 5 dan pH 7, masing-masing sekitar 2,5 dan 1,8 U/mL. Ini menunjukkan bahwa enzim masih mampu bertahan meski ada sedikit perubahan pH, meskipun kemampuannya berkurang. Menariknya, pada pH 8, aktivitas enzim meningkat sedikit lagi, hampir mencapai 2,5 U/mL. Hal ini bisa diartikan bahwa enzim tersebut memiliki stabilitas struktur yang relatif baik di antara rentang pH netral hingga sedikit basa. Namun, nilai tersebut masih jauh dari

tingkat aktivitas puncak, yang berarti reaksi yang melibatkan enzim dalam keadaan ini tidak seefisien pada pH yang paling optimal. Dalam sektor industri seperti fermentasi atau pembuatan enzim untuk komersial, pemahaman tentang pH yang paling sesuai sangatlah penting untuk meningkatkan efektivitas proses dan hasil produksi (Willey et al., 2020).

### Suhu Optimum

Suhu optimum enzim amilase ditentukan dengan mengukur aktivitasnya pada berbagai suhu. Seperti ditunjukkan pada **Gambar 2**, enzim amilase menunjukkan aktivitas pada rentang suhu antara 40°C dan 70°C. Aktivitas enzimatik tertinggi diamati pada suhu 50 °C.

Pada penelitian (Kolawole, 2011), suhu optimum untuk  $\beta$ -amilase yang diperoleh dari biji malt jyawut Afrika dan daun kentang dilaporkan masing-masing sebesar 50°C dan 40°C. Penelitian enzim amilase pada biji Nangka didapatkan suhu optimum 50°C (Puspita Tazkiah et al., 2017). Aktivitas amilase meningkat seiring dengan peningkatan suhu inkubasi, namun setelah mencapai suhu maksimum aktivitasnya menurun. Suhu yang melebihi batas optimum juga akan menyebabkan substrat berubah konformasinya, sehingga substrat tidak dapat masuk kedalam sisi aktif enzim. Hal tersebut akan mengakibatkan aktivitas enzim turun karena tidak terbentuknya kompleks enzim substrat, sehingga konsentrasi enzim rendah (Utami et al., 2024).



**Gambar 2.** Grafik pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim amilase dari tepung kacang gude (*Cajanus cajan*)

Pada gambar 2 menunjukkan bahwa aktivitas enzim mengalami peningkatan sejalan dengan kenaikan suhu, mencapai puncaknya pada sekitar 50°C dengan tingkat aktivitas maksimum sekitar 8,7 U/mL. Kenaikan ini terjadi karena energi kinetik molekul yang meningkat, sehingga frekuensi tumbukan antara enzim dan substrat juga bertambah, mempercepat kecepatan reaksi enzimatik (Voet dan Voet, 2011). Namun, ketika suhu melewati titik optimum, aktivitas enzim mengalami penurunan drastis, yang terlihat pada suhu 60°C dan 70°C. Penurunan ini mengindikasikan bahwa struktur enzim mulai mengalami denaturasi, yaitu kerusakan pada struktur tersier atau kuarterner akibat suhu tinggi yang mengganggu ikatan non-kovalen yang mempertahankan bentuk aktif enzim. Denaturasi tersebut menyebabkan enzim kehilangan kemampuannya untuk mengikat substrat dan mengkatalisis reaksi (Garrett dan Grisham, 2010).

Fakta bahwa aktivitas enzim mengalami penurunan yang signifikan setelah melewati suhu optimum menyoroti pentingnya menjaga suhu kerja enzim dalam batas yang ideal dalam bidang bioteknologi. Suhu yang terlalu tinggi tidak hanya mengurangi efisiensi, tetapi juga berisiko merusak enzim secara irreversibel, yang bisa meningkatkan biaya produksi karena enzim harus diubah lebih sering. Dalam sektor seperti fermentasi atau pengolahan makanan, pengaturan suhu sangat penting untuk memastikan stabilitas dan kinerja enzim (Trevor Palmer, 2007). Oleh karena itu, pemahaman tentang suhu optimum bukan hanya relevan dari perspektif teoritis, tetapi juga sangat penting dalam merancang proses industri yang menggunakan enzim sebagai biokatalis.

## Kesimpulan

Isolasi enzim amilase dari tepung kacang gude berhasil dilakukan. Aktivitas enzimatis terdeteksi pada ekstrak kasar dan meningkat aktivitas enzimnya setelah pengendapan dengan ammonium sulfat 60%. Ini menunjukkan bahwa kacang gude memiliki potensi sebagai sumber alternatif enzim amilase nabati yang dapat dimanfaatkan dalam aplikasi industri. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melanjutkan pemurnian dan karakterisasi enzim amilase, termasuk uji pH, suhu, stabilitas, dan kinetika. Selain itu, pengujian pada berbagai substrat perlu dilakukan untuk mengevaluasi potensi aplikatif enzim dalam industri pangan dan non-pangan.

## Daftar Pustaka

- Atmaja, D. S. , W. W. , & A. K. (2013). Isolasi, Purifikasi & Karakterisasi A-Amilase dari *Trichoderma Viride* FNCC 6013. *Jurnal Chemical Info*, 1, 85–93.
- Baltas, N., Dincer, B., Ekinci, A. P., Kolayli, S., & Adiguzel, A. (2016). Purification and characterization of extracellular  $\alpha$ -amylase from a thermophilic *Anoxybacillus thermarum* A4 strain. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59, 1–14. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016160346>
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J., & Stryer, L. (2015). *Biochemistry* (8th ed.). W.H. Freeman and Company.
- Garrett, R. H., & Grisham, C. M. (2010). *Biochemistry* (4th ed.). Brooks/Cole, Cengage Learning.
- Gufi, Y., Tsegay, A., Ruelle, M. L., Teka, K., Tewolde-Berhan, S., & Power, A. G. (2022). Field pea diversity and its contribution to farmers' livelihoods in northern Ethiopia. *Legume Science*, 4(4). <https://doi.org/10.1002/leg3.141>
- Kolawole, A. O. ; A. J. O. ; S. R. (2011). Purification and Characterization of Alkaline-Stable  $\beta$ -Amylase in Malted African Finger Millet (*Eleusine coracana*) Seed. *Process Biochem*, 46, 2178–2186.
- Naka, T., Dehegnan Patricia, O., Wawa Justine, T., Bada Bedos, O., & Mohamed, C. (2025). Effect of Germination and Roasting Process on Biochemical and Functional Properties of Pigeon Pea (*Cajanus Cajan*) Seeds Cultivated in the Gontougo Region, Cote D'Ivoire. *American Journal of Food and Nutrition*, 13(1), 48–55. <https://doi.org/10.12691/ajfn-13-1-5>
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry* (7th ed.). W.H. Freeman and Company.
- Palmer, T. (2007). *Enzymes: Biochemistry, Biotechnology, Clinical Chemistry* (2nd ed.). Woodhead Publishing.
- Paludo, L. C., Peron-Schlosser, B., Ramos, R. M. B., Monteiro, P. I., Gerhardt, E. C. M., Chubatsu, L. S., & Spier, M. R. (2025). A Sustainable Alternative for the Food Industry: Production of  $\alpha$ -Amylase by *Coprinus comatus* Using Agro-Industrial By-Products. *Processes*, 13(6). <https://doi.org/10.3390/pr13061815>
- Pratantie, E. M., Priyo Bintoro, V., Dwiloka, B., Peternakan, F., Pertanian, D., Semarang, D., & Soedarto, J. P. (2021). Isolasi enzim amilase dari kecambah kacang tunggak (*Vigna unguiculata*). *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 7(1).
- Puspita Tazkiah, N., Dewi Rosahdi, T., Asep Supriadin, D., Kimia, J., Sains dan Teknologi, F., Sunan Gunung Djati Bandung, U., & Nasution No, J. A. (2017). Isolasi dan karakterisasi enzim amilase dari biji nangka (*Artocarpus heterophyllus*). In *Syawwal* (Vol. 4, Issue 1).
- Sahu, P. K. R. S. M. S. S. D. V. M. L. P. B. R. (2024). Microbial production of  $\alpha$ -amylase from agro-waste: An approach towards biorefinery and bio-economy. *Energy Nexus*, 14.
- Sharma, H., Batra, N., & Singh, J. (2022). Purification, characterization and potential detergent industry application of a thermostable  $\alpha$ -amylase from *Bacillus licheniformis* RA31. In *Indian Journal of Experimental Biology* (Vol. 60).
- Suthar, S. , J. D. , P. H. (2024). Optimization and purification of a novel calcium-independent thermostable,  $\alpha$ -amylase produced by *Bacillus licheniformis* UDS-5. *World J Microbiol Biotechnol* , 40(385).
- Ugwuoji, E. T., Nwagu, T. N. T., & Ezeogu, L. I. (2023). Detergent-stable amylase production by *Paenibacillus lactis* strain OPSA3 isolated from soil; optimization by response surface methodology. *Biotechnology Reports*, 39. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2023.e00808>

- Utami, D. R., Prayitno, S. A., Rahim, A. R., Ningrum, S., & Putri, S. N. A. (2024). Characterization of Mannanase-Producing Bacteria from Porang Tubers (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Journal of Tropical Food and Agroindustrial Technology*, 5(01), 26–32. <https://doi.org/10.21070/jtfat.v5i01.1622>
- Voet, D., & Voet, J. G. (2011). *Biochemistry* (4th ed.). John Wiley & Sons.
- Wahjuni, S. , S. P. , & S. I. M. A. (2017). Isolasi enzim amilase dari kecambah biji jagung lokal seraya (*Zea mays* L.) untuk hidrolisis pati. *Jurnal Kimia*, 11, 122–128.
- Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2020). *Prescott's Microbiology* (11th ed.). McGraw-Hill Education.
- Yao, B., Jin, C., Guan, Y., Chang, Z., Liu, Q., & Gao, H. (2024). Purification and Characteristics of  $\beta$ -Amylase from Soybean Whey Wastewater. *Catalysts*, 14(12). <https://doi.org/10.3390/catal14120909>
- Zain Ali, M. A. M. T. Y. K. A. M. S. A. R. F. S. (2025). Recent trends in production and potential applications of microbial amylases: A comprehensive review. *Protein Expression and Purification*.