

Citation: Setyahadi, S., Nurrahman, M.I., & Gozan, M. (2014) Pengaruh Kecepatan Agitasi pada Media Sintesis untuk Produksi α -Amilase dari *Bacillus amyloliquefaciens* T1. *Warta IHP*, 31(1),16-21
Halaman | 16

Pengaruh Kecepatan Agitasi pada Media Sintesis untuk Produksi α -Amilase dari *Bacillus amyloliquefaciens* T1

*Effects on Various Agitation Rate on Synthesis Media for α -Amylase Production Using *Bacillus amyloliquefaciens* T1*

Siswa Setyahadi^a, Mujtahid Imaduddin Nurrahman^b, dan Misri Gozan^b

^a Pusat Teknologi Bioindustri, LAPTIAB, BPPT
Gedung 611, Laptiab, Puspiptek, Serpong, Banten, Jawa Barat

^b Riset Grup Teknologi Bioproses, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik
Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia

mgozan@che.ui.ac.id

Riwayat Naskah:

Diterima 01,2014
Direvisi 01,2014
Disetujui 04,2014

ABSTRAK: Enzim yang berasal dari mikroorganisme merupakan enzim yang paling banyak digunakan dalam dunia industri karena ekonomis dan lebih stabil dibandingkan dengan enzim yang berasal dari tanaman dan hewan. Pasar global industri enzim bernilai 3,1 milyar USD pada tahun 2009 dan mencapai 3,6 milyar USD pada 2010. Produksi enzim pada fermentor skala besar perlu dilakukan optimasi pada skala *bench* karena sulitnya mengendalikan faktor-faktor yang mempengaruhi kinerja proses fermentasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan kondisi optimal komposisi media dan kecepatan agitasi untuk produksi α -amilase dengan menggunakan *Bacillus amyloliquefaciens* T1 pada skala *bench*. Pada penelitian ini dilakukan produksi enzim α -amilase pada skala 50 ml menggunakan media molase dan media sintesis untuk mengidentifikasi pengaruh penggunaan media pada aktivitas enzim. Media molase menghasilkan aktivitas α -amilase 154,0 U/ml sedangkan pada penggunaan media sintesis dihasilkan aktivitas α -amilase 108,6 U/ml. Optimasi agitasi dilakukan dengan variasi agitasi 100 rpm, 150 rpm, dan 200 rpm pada media sintesis di fermentor 10 l. Kecepatan agitasi optimum pada penelitian ini adalah 150 rpm dengan aktivitas enzim maksimum adalah 38,96 U/ml pada 37°C.

Kata kunci: α -amilase, *Bacillus amyloliquefaciens* T1, skala *bench*, media, kecepatan pengadukan

ABSTRACT: Enzymes are group of proteins that catalyze biological reaction. Enzymes derived from microorganism are the most widely used in the industrial application for economic reasons. These enzymes also have better stability compared to those derived from plants and animals. The global market for industrial enzymes was valued at \$3.1 billion in 2009 and reached about \$3.6 billion in 2010. Factors affecting fermentation process needs to be optimized in bench scale for enzyme production in large scale fermentor. The purpose of this study was to obtain the optimal conditions of media composition and agitation rate for α -amylase production by *Bacillus amyloliquefaciens* using T1 at *bench* scale. The initial production of α -amylase performed in 50 ml using molase and synthethic media to study the effect of media on enzyme activity. Molase media and synthethic media produced enzymes with activity of 154.0 U/ml and 108.6 U/ml, respectively. Agitation optimization was done with various agitation rate 100, 150, and 200 rpm on synthetic media in 10 l fermentor. The optimum agitation rate was 150 rpm which produced enzyme with activity of 38.96 U/ml at 37°C.

Keywords: α -amylase, *Bacillus amyloliquefaciens* T1, bench scale, media, agitation rate.

1. Pendahuluan

Pasar global industri enzim bernilai 3,1 milyar USD pada tahun 2009 dan mencapai 3,6 milyar USD pada 2010. Nilai ini diperkirakan terus meningkat dan akan mencapai 6 milyar USD pada 2016 (BBC, 2013). Peningkatan penjualan enzim ini dikarenakan pertumbuhan penggunaan biodiesel dan bioetanol. Tingginya harga beli minyak

berbasis fosil dan kebutuhan akan sumber energi berkelanjutan membuat beberapa negara mengupayakan penggunaan biofuel. Hal tersebut mengurangi biaya bahan bakar serta mengurangi emisi karbondioksida. Meningkatnya konsumsi biofuel ini akan meningkatkan pertumbuhan pasar penjualan enzim (TMR, 2013).

Salah satu enzim yang dikenal memiliki banyak kegunaan dalam dunia industri adalah enzim α -

amilase. Enzim α -amilase mempercepat proses hidrolisis ikatan 1,4 glikosidik pada pati. Industri-industri yang memanfaatkan kegunaan enzim α -amilase adalah industri makanan, tekstil, kertas, detergen. Saat ini enzim α -amilase telah diproduksi secara komersil dan hampir menggantikan penggunaan zat kimia pada industri yang melibatkan proses hidrolisis pati. Pertumbuhan pasar global enzim amilase merupakan pertumbuhan yang tercepat. Hal ini dikarenakan kemampuan enzim tersebut bertahan pada rentang pH dan suhu yang luas. Pertumbuhan tahunan produksi enzim amilase mencapai 8% mulai 2013 hingga 2018 (TMR, 2013).

Proses konversi pati secara enzimatik melibatkan empat kelompok enzim yaitu enzim endoamilase, eksoamilase, pemutus ikatan cabang (*debranching enzyme*), dan transferase.

Enzim endoamilase mampu membelah ikatan α -1,4 glikosidik yang terdapat pada bagian dalam (endo) dari rantai amilosa atau amilopektin. Endoamilase membelah ikatan pada bagian dalam rantai amilosa dan amilopektin secara acak sehingga produk akhir dari α -amilase adalah oligosakarida dengan panjang rantai yang berbeda-beda.

Enzim eksoamilase bertindak pada bagian eksternal rantai amilosa atau amilopektin gula residu yang dihasilkan dari proses enzimatik enzim endoamilase. Enzim-enzim yang termasuk enzim eksoamilase adalah enzim β -amilase, amiloglukosidase dan glukoamilase. Enzim β -amilase memotong ikatan α -1,4 glikosidik pada bagian eksternal rantai amilosa atau amilopektin dengan produk akhir maltosa sedangkan enzim amiloglukosidase dan glukoamilase memotong ikatan α -1,4 dan α -1,6 glikosidik menghasilkan produk akhir glukosa.

Kelompok ketiga dari enzim pengkonversi pati adalah debranching enzim yang menghidrolisis ikatan 1,6 glikosidik. Enzim yang termasuk kelompok ini adalah isoamilase dan pullanase tipe I. Perbedaan utama antara pullulanases dan isoamilase adalah kemampuan untuk memecah pullulan yaitu polisakarida unit maltotitrosa dengan ikatan 1,6. Pullulanases memecah ikatan α -1,6 glikosidik dalam pullulan dan amilopektin, sedangkan isoamilase hanya dapat memecah α -1,6 pada amilopektin.

Kelompok keempat enzim pengkonversi pati adalah transferase yang membelah, 1-4 donor molekul ikatan glikosidik dan mentransfer bagian donor tersebut ke akseptor glikosidik dengan membentuk ikatan glikosidik baru. Enzim seperti amilomaltase (EC 2.4.1.25) dan siklodextrin glikosiltransferase (EC 2.4.1.19) membentuk ikatan α -1,4 glikosidik baru sedangkan 1,4 α glucoamilase membentuk ikatan α -1,6 glikosidik baru

(MJECV *et al.*, 2002). α -Amilase dapat diproduksi dari berbagai macam mikroorganisme, namun produksi komersil α -amilase saat ini banyak memanfaatkan bakteri genus *Bacillus*. Selain bakteri, mikroorganisme lain yang memproduksi enzim α -amilase adalah mikroorganisme jenis fungi seperti *Aspergillus sp.* dan *Penicillium sp.* α -Amilase yang diproduksi dari *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus*, dan *Bacillus amyloliquefaciens* memiliki potensi untuk digunakan pada berbagai industri seperti industri makanan, fermentasi, tekstil, dan kertas.

Pada penelitian ini bakteri yang digunakan adalah *Bacillus amyloliquefaciens* T1 yang merupakan isolat koleksi Laboratorium Teknologi Bioindustri, LAPTIAB, BPPT, Puspiptek, Serpong. Pada penelitian sebelumnya dilakukan produksi α -amilase pada skala laboratorium yaitu 50 ml dengan variasi suhu, pH, dan agitasi. Pada penelitian tersebut diketahui bahwa variabel optimum untuk produksi enzim α -amilase adalah pH 6, suhu 37°C, dan agitasi 150 rpm (Suwandari, 2005)

Produksi enzim skala industri umumnya dilakukan dengan proses fermentasi batch. Untuk produksi skala industri, maka proses scale up memerlukan data hidrodinamika seperti kecepatan agitasi. Perpindahan massa gas - cair dalam bioreaktor sangat dipengaruhi oleh kondisi hidrodinamik. Kondisi hidrodinamik adalah fungsi disipasi energi yang tergantung pada kondisi operasional, sifat fisikokimia kultur, parameter geometris bioreaktor dan juga pada adanya oksigen yang dikonsumsi oleh sel (Ahamed & Vermette, 2010; Garcia-Ochoa & Gomez, 2005). Aktivitas enzim yang diproduksi pada skala industri sering kali mengalami penurunan dibandingkan dengan produksi skala laboratorium (Zhong, 2011). Optimasi hasil produksi pada skala laboratorium tidak dapat digunakan sebagai acuan kondisi terbaik untuk proses produksi pada fermentor karena faktor biologis dan faktor fisik yang cukup berbeda antara skala laboratorium dengan skala industri (Thiry & Cingolani, 2002; Gangadharan *et al.*, 2011).

Peningkatan produksi enzim diperoleh dengan melakukan optimasi kondisi mikroorganisme, lingkungan, tipe fermentasi, komposisi media, kandungan oksigen terlarut, aerasi, agitasi, pH, dan temperatur.

Diantara jenis fermentor yang digunakan pada proses fermentasi, fermentasi jenis tangki berpengaduk dengan nilai KLa yang tinggi merupakan jenis reaktor yang paling banyak digunakan karena memungkinkan kontak tiga fasa yaitu fasa gas, *liquid*, dan solid. Gas disuplai melalui sparger, ukuran gelembung gas dan distribusi gas dalam tangki merupakan faktor kritis pada kinerja reaktor. Proses agitasi yang dilakukan secara

normal dapat mencukupi kebutuhan oksigen selama proses fermentasi. Diantara faktor yang mempengaruhi kondisi operasi selama proses fermentasi dalam fermentor adalah agitasi dan pencampuran. Proses agitasi mempengaruhi pencampuran dimana agitasi yang baik dapat memberikan pencampuran, transfer massa, dan transfer panas yang cukup untuk proses fermentasi (Kongkiattikajorn *et al.*, 2007; Gangadharan *et al.*, 2011).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan kondisi optimal komposisi media dan kecepatan agitasi untuk produksi α amylase dengan menggunakan *Bacillus amyloliquefaciens* T1 pada skala *bench*.

2. Bahan dan Metode

2.1. Mikroorganisme

Mikroorganisme yang digunakan adalah bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* T1 yang berasal dari koleksi kultur yang dimiliki oleh Laboratorium Teknologi Bioindustri-BPPT, LAPTIAB, Serpong.

2.2. Optimalisasi media

Media yang digunakan adalah molase dan media sintesis. Molase didapatkan dari pabrik gula yang berada di Malang, Jawa Timur. Media molase memiliki kandungan (b/v) molase 0,5%, pati tapioka 0,1%, urea 0,005%. Sedangkan media sintesis adalah media dengan kandungan (b/v) pati kentang 1%, pepton soya 0,82%, *yeast extract* 1,7%, CaCl_2 0,1%, MgSO_4 0,05%, dan KH_2PO_4 0,05%. Masing-masing media digunakan untuk fermentasi skala 50 ml. Media yang menghasilkan aktivitas enzim tertinggi diseleksi sebagai media fermentasi scale up menggunakan fermentor skala 10 L.

2.3. Pemiakan bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* T1 pada 10 ml

Medium inokulum yang digunakan adalah media Luria Bertani (LB). Media ini merupakan media yang dibuat dengan kandungan (b/v) 0,5% *yeast extract*, 1,0% pepton, 0,5% NaCl dalam 10 ml aquades yang ditempatkan pada erlenmeyer 50 ml yang ditutupi dengan kapas. Kemudian erlenmeyer tersebut disterilisasi dalam autoklaf dengan tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah medium didinginkan, satu ose *Bacillus amyloliquefaciens* T1 ditambahkan secara aseptis agar tidak terjadi kontaminasi. Kemudian inokulum tersebut diinkubasi ke dalam *shaking incubator* dengan putaran 150 rpm pada 37°C selama 6 jam. Pada 6 jam inkubasi dihasilkan populasi bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* T1 $0,88 \times 10^7$ cfu/ml.

2.4. Pemiakan bakteri dalam 100 ml media sintesis

Media yang digunakan pada proses ini adalah 100 ml media sintesis steril, diinokulasi dengan 10 ml inokulum secara aseptis. Kemudian diinkubasi pada *shaking incubator* (150 rpm, 37°C) selama 6 jam.

2.5. Pemiakan bakteri pada 1 liter media sintesis

Media sintesis dilarutkan dalam 1 liter aquades menggunakan erlenmeyer 5 liter. Proses sterilisasi dilakukan didalam autoklaf dengan tekanan 1 atm dan suhu 121°C selama 15 menit. Pemiakan bakteri dilakukan dengan memasukkan 100 ml media sintesis ke dalam 1lt media sintesis secara aseptis. Kemudian diinkubasi pada *shaking incubator* dengan putaran 150 rpm pada 37 °C selama 6 jam.

2.6. Produksi enzim skala 10 L

Produksi enzim dilakukan dengan menumbukan bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* T1 menggunakan media sintetik skala 10 liter dengan variasi agitasi 100 rpm, 150 rpm, 200 rpm dalam fermentor selama 48 jam. Variabel yang dijaga tetap selama proses produksi adalah pH 7, aerasi 5 vvm dan suhu 37°C.

2.7. Separasi

Proses separasi dilakukan dengan sentrifugasi dengan putaran 6000 rpm dan suhu 4°C selama 15 menit. α -Amilase dipanen pada supernatant, sedangkan pelletnya adalah zat fasa padat yaitu sel bakteri dan substrat.

2.8. Pengukuran aktivitas enzim (unit/ml)

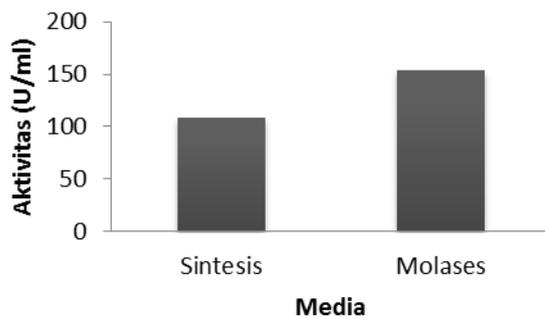
Unit pada penelitian ini didefinisikan sebagai pembentukan 1 μmol gula reduksi dari substrat oleh enzim. Uji kandungan gula reduksi menggunakan spektrofotometer UV Genesys dengan menambahkan pati dan DNS pada sampel dan melihat konsentrasi dengan absorbansi pada panjang gelombang 547 nm.

Metode penghitungan sel dilakukan dengan pembacaan OD600. Nilai OD600 dikonversi menjadi cfu/ml melalui kurva standar pertumbuhan sel.

3. Hasil dan Pembahasan

Substrat harus memiliki kandungan karbon dan nitrogen dan ion-ion yang cukup untuk digunakan sebagai sumber energi untuk proses pertumbuhan dan metabolisme bakteri. Perbandingan antara media molase dengan media sintesis dilakukan untuk mendapatkan informasi sejauh mana

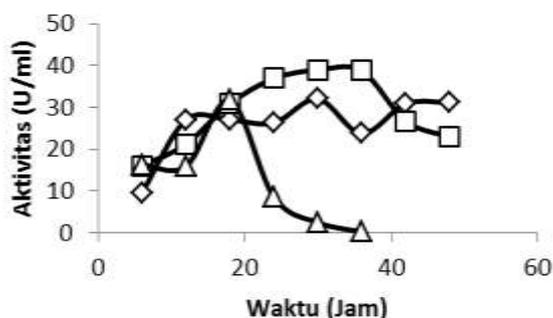
keefektifan media sintesis untuk memproduksi α -amilase. Dari hasil percobaan, diketahui bahwa substrat molase menghasilkan enzim dengan aktivitas 154,0 U/ml sementara substrat sintesis dapat menghasilkan enzim dengan aktivitas 108,6 U/ml sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1. Substrat yang menggunakan molase memiliki kandungan 25 - 40 % sukrosa dan 12 - 25 % gula pereduksi dengan total kadar gula 50 - 60 % sehingga media molasses dapat menghasilkan α -amilase dengan aktivitas tinggi dibandingkan dengan media sintesis yang memiliki kandungan ion-ion yang berfungsi untuk pertumbuhan sel. Pada penelitian selanjutnya media yang digunakan adalah media sintesis walaupun aktivitas α -amilase yang diperoleh tidak sebaik media LB. Selain itu, media sintesis mempunyai nilai ekonomis yang lebih baik daripada media LB



Gambar 1. Aktivitas enzim α -amilase pada substrat sintesis dan molases

3.1. Pengaruh agitasi terhadap aktivitas α amilasi pada Fermentor 10 L

Proses optimasi agitasi dilakukan dengan melakukan 3 variasi agitasi yaitu 100 rpm, 150 rpm, dan 200 rpm pada kondisi pH 7, aerasi 5 vvm, dan suhu 37°C.



Gambar 2. Aktivitas enzim α -amilase pada \diamond 100 rpm, \square 150 rpm, Δ 200 rpm.

Gambar 2 menunjukkan aktivitas enzim α -amilase meningkat mulai dari jam ke 0 sampai jam 15 untuk setiap variasi agitasi. Pada agitasi 100

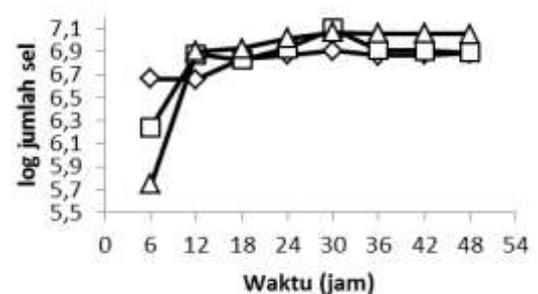
rpm nilai aktivitas enzim mengalami kenaikan hingga mencapai titik tertinggi pada jam ke 30 dengan nilai 32,04 U/ml dan pada 150 rpm nilai tertinggi pada jam ke 30 dengan nilai 39,0 U/ml. Sedangkan agitasi 200 rpm nilai tertinggi dicapai pada jam ke 18 dengan nilai 31,7 U/ml. Penurunan aktivitas enzim pada kecepatan agitasi 200 rpm kemungkinan terjadi pembentukan enzim protease yang dapat merusak protein pada α -amilase sebagaimana pada penelitian yang dilaporkan Anthony (Anthony *et al.*, 2003) dan Oliviera (Oliviera *et al.*, 2006).

Gigras *et al.*, (2002) melakukan penelitian dengan 3 variabel yaitu pati, ekstrak ragi, dan di kalium hidrogen fosfat untuk produksi α -amilase oleh *Aspergillus oryzae* dalam labu kocok dan fermentor. Produksi α -amilase dalam labu kocok adalah 133U/ml sedangkan dalam fermentor adalah 161 U/ml. Namun, ada perbedaan dalam waktulabu kocok dan fermentor. Waktu fermentasi yang maksimum untuk produksi alpha amylase oleh *A. oryzae* dalam labu kocok adalah 120 jam tetapi dalam fermentor menjadi 48 jam.

Berbeda dengan hasil penelitian ini, kecepatan agitasi optimum pada kecepatan 150 rpm. Jam ke 30 dan suhu fermentasi 37°C. Meskipun peningkatan kecepatan agitasi meningkatkan oksigen terlarut tapi tidak meningkatkan pembentukan α -amilase. Walaupun waktu optimum pada kecepatan agitasi 200 rpm dicapai pada waktu yang lebih pendek tetapi aktivitas α -amilase mengalami penurunan.

3.2. Pengaruh kecepatan agitasi terhadap pertumbuhan sel

Gigras *et al.*, (2002) juga melakukan penambahan konsentrasi tinggi dari fosfat dalam medium fermentasi dan penggunaan ukuran inokulum yang rendah sangat penting untuk mencegah terjadinya busa dalam bioreaktor; tetapi mengelola tingkat dan agitasi tingkat pO₂ tidak wajib untuk α -amilase. Sedangkan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan media sintesis yang mengandung ion-ion yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba.



Gambar 3. Pertumbuhan *Bacillus amyloliquefaciens* T1 pada media sintesis dengan agitasi \diamond 100 rpm, \square 150 rpm, Δ 200 rpm.

Pada Gambar 3 menunjukkan pertumbuhan *Bacillus amyloliquefaciens* T1 terhadap variasi agitasi. Pengujian berbagai kecepatan agitasi dilakukan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh agitasi untuk membentuk oksigen terlarut terhadap pertumbuhan sel untuk memenuhi oksigennya.

Pertumbuhan bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* T1 berjalan sangat lambat pada agitasi 100 rpm. Pada nilai agitasi ini nutrisi yang membantu pertumbuhan dan metabolisme bakteri tidak larut dengan sempurna sehingga sulit dimanfaatkan untuk proses pertumbuhannya. Pada agitasi 200 rpm pertumbuhan sel menunjukkan peningkatan dengan cepat yakni mencapai aktivitas maksimum pada jam ke 18. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada kecepatan agitasi 200 rpm terjadi homogenitas larutan, nutrisi dan oksigen dapat larut dengan cepat sehingga dapat dikonsumsi oleh mikroba untuk metabolismenya. Namun, homogenitas yang tinggi tidak menunjukkan nilai optimum karena pada agitasi ini aktivitas yang dihasilkan pada kecepatan agitasi 200 rpm lebih rendah daripada aktivitas yang dihasilkan pada agitasi 150 rpm.

Jumlah bakteri tertinggi pada agitasi 150 rpm terdapat pada jam ke 30 dengan jumlah sel sebanyak $1,27 \times 10^7$ cfu/ml dan merupakan jumlah sel terbanyak diantara kecepatan agitasi lainnya. Kecepatan agitasi terhadap pertumbuhan sel yang optimum dicapai pada kecepatan agitasi 150 rpm dan jumlah sel maksimum dicapai pada waktu fermentasi 30 jam. *Bacillus amyloliquefaciens* T1 merupakan bakteri yang memerlukan oksigen bagi kelangsungan hidupnya. Apabila oksigen terlarut dalam media yang diakibatkan oleh agitasi sudah banyak maka sel akan mengalami keracunan yang mengakibatkan kematian. Pada jumlah sel yang meningkat akan meningkatkan pula pembentukan α -amilase karena enzim yang dihasilkan oleh *Bacillus amyloliquefaciens* T1 merupakan enzim ekstraseluler.

Proses agitasi dapat terjadi secara optimum bila terjadi turbulensi. Pada saat terjadi turbulensi terjadi proses difusi secara optimal sehingga terjadi homogenitas di dalam larutan. Pola aliran turbulen diidentifikasi oleh bilangan reynold. Bila bilangan reynold nilainya di bawah 2100 maka aliran pada bilangan yang demikian adalah aliran laminar, bila bilangan reynold nilainya di atas 4000 maka aliran pada bilangan yang demikian adalah aliran turbulen, sedangkan aliran yang bilangannya diantara 2100 dan 4000 adalah aliran transisi dimana alirannya bisa jadi turbulen dan bisa jadi laminar (Doran, 2013).

Pada tangki berpengaduk bilangan reynold dipengaruhi oleh diameter pengaduk, viskositas,

densitas, dan kecepatan agitasi seperti yang terlihat pada persamaan 1.

$$Re = \frac{NiDi^2\rho}{\mu} \quad (1)$$

dimana:

Re	= bilangan reynold
ρ	= densitas fluida
Ni	= kecepatan stirrer
μ	= viskositas fluida
Di	= diameter impeller

Produksi α -amilase dengan menggunakan media sintesis yang mengandung tepung kentang menunjukkan bahwa pada agitasi 100 rpm jumlah sel dan aktivitas enzimnya tidak optimal disebabkan karena rendahnya kecepatan agitasi akan mengakibatkan turbulensi yang tidak sempurna sehingga pengadukan yang terbentuk belum sempurna dan hanya sedikit oksigen yang terlarut. Sedangkan pada agitasi 200 rpm turbulensi terjadi secara cepat sehingga terjadi homogenitas dengan cepat. Hal ini ditunjukkan dengan aktivitas enzim maksimal yang terjadi pada waktu lebih cepat dibandingkan dengan agitasi lainnya yakni pada jam ke 18. Ketika telah mencapai nilai maksimal sel kehabisan sumber nutrisi dan jumlah oksigen terlarut terlalu banyak.

4. Kesimpulan

Produksi enzim α -amilase menghasilkan enzim dengan aktivitas tertinggi pada penggunaan substrat molase dibandingkan dengan substrat sintesis. Pada penelitian ini digunakan media sintesis sebagai pengganti media yang biasa dipakai yaitu molase. Dengan menggunakan media sintesis, agitasi optimum untuk produksi α -amilase adalah agitasi 150 rpm dengan aktivitas tertinggi 38,96 U/ml pada suhu 37°C.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Muhammad Rizky Putra Pratama serta rekan-rekan peneliti LABTIAB BBPT Serpong yang telah membantu dalam pengumpulan data dan diskusi yang memperkaya wawasan.

Daftar Pustaka

- Ahamed, A., & Vermette, P. (2010). Effect of mechanical agitation on the production of cellulases by *Trichoderma reesei* RUT-C30 in a draft-tube airlift bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 49(3), 379-387.
- Anthony, T., Raj, K. C., Rajendran, A., & Gunasekaran, P. (2003). Inhibition of proteases during fermentation improves xylanase production by alkali tolerant *Aspergillus fumigatus* ARI. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 96(4), 394-396. doi:10.1016/S1389-1723(03)90143-5.

- BBC. (2013). Reseach Market Forecasting. Global Markets for Enzymes in Industrial Applications. Diakses 23 Juni 2013 dari <http://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/enzymes-industrial-applications-markets-bio030g.html>
- Doran, P.M. (2013). *Fluid Mechanics and Mixing, in Bioprocess Engineering Principle*. United Kingdom: Academic Press.
- Gangadharan, D., Namphoothiri, K.M., & Pandey, A. (2011). α -Amylase Production by *Bacillus amyloliquefaciens* Using Agro Wastes as Feed Stock. *Food Technoogy and Biotechnoogy*, 49(3), 336-340.
- Garcia-Ochoa, F., & Gomez, E. (2009). Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: an overview. *Biotechnology Advances*, 27(2), 153-76. doi:10.1016/j.biotechadv.2008.10.006
- Gigras, P., Sahai, V., & Gupta, R. (2002). Statistical media optimization and production of ITS alpha-amylase from *Aspergillus oryzae* in a bioreactor. *Current Microbiology*, 45(3), 203-8. doi:10.1007/s00284-001-0107-4
- Kongkiattakajorn, J., Rodmui, A., & Dandusitapun, Y. (2007). Effect of agitation rate on batch fermentation of mixture culture of yeasts during ethanol production from mixed glucose and xylose. *Thailand Journal Biotechnoogy*, 5, 1-4.
- Oliveira, L. A., Porto, A. L. F., & Tambourgi, E. B. (2006). Production of xylanase and protease by *Penicillium janthinellum* CRC 87M-115 from different agricultural wastes. *Bioresource Technology*, 97(6), 862-867. doi:10.1016/j.biortech.2005.04.017
- Serin, B., Akcan, N., & Uyar, F. (2012). Production and Optimization of α -Amylase from *Bacillus circulans* ATCC 4516 with Solid State Fermentation. *Hacettepe Journal Biology and Chemistry*, 40(4), 393-400.
- Suwandari, S. (2005). *Produksi amilase dengan memanfaatkan limbah cair tapioca menggunakan Bacillus smiloliquefaciens T1*. Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Thiry, M., & Cingolani, D. (2002). Optimizing scale-up fermentation processes. *Trends in Biotechnology*, 20(3), 103-5.
- Transparency Market Research. (2013). Global Biofuel Enzymes Market Will Reach USD 1,653.1 Million in 2018: Transparency Market Research. Diakses 23 Juni 2013 dari <http://www.culrav.org/pr/global-biofuel-enzymes-market-will-reach-usd-1653-1-million-in-2018-transparency-market-research.php>
- Van der Maarel, M. J. E. C., van der Veen, B., Uitdehaag, J. C. M., Leemhuis, H., & Dijkhuizen, L. (2002). Properties and applications of starch-converting enzymes of the alpha-amylase family. *Journal of Biotechnology*, 94(2), 137-55.
- Zhong, J. J. (2011). *Bioreactor Engineering in Comprehensive Biotechnology*. (2nd ed.), Volume 2:165-177.