

## PENGARUH KELEMBAPAN RELATIF DAN SUHU TERHADAP AKTIVITAS GLUKOAMILASE *ASPERGILLUS FLAVUS* PADA PENYAKIT SIMPANAN GAPLEK

H. A. Oramahi<sup>1</sup>, Christanti Sumardiyono<sup>2</sup>, Nursamsi Pusposendjojo<sup>2</sup>, dan Haryadi<sup>3</sup>

### ABSTRACT

*The effect of relative humidity and temperatur to glucoamylase activity of Aspergillus flavus on storage disease of dried cassava.* *Aspergillus flavus* is the most important species because of its toxigenic characteristic on agricultural product. Among several *Aspergillus* species growing on dried cassava. This study was conducted to show the role of glucoamylase produced by *Aspergillus flavus* fowards the storage disease of dried cassava. The effect of RH and storage room temperature to glucoamylase activity was evaluated for 4 months using Randomized Completely Block Design (Factorial). Variables observed were glucoamylase activity and starch content of dried cassava. Glucoamylase activity could be used as an early indicator of the infestation of dried cassava by *Aspergillus* while the change of dried cassava color had not been visible. Starch content of dried cassava decreased during the storage. Due to the glucoamylase activity of *A. flavus* which degrading starch into glucose. The interaction effect of RH and storage room temperature to glucoamylase activity of *A. flavus* was significant.

**Key words:** storage disease, dried cassava, glucoamylase, *Aspergillus flavus*

### PENDAHULUAN

Penyakit pascapanen terdiri atas penyakit nonpatogenik dan patogenik, terutama dalam bahan simpanan, yang sering disebut sebagai penyakit simpanan (*storage disease*) (Semangun, 2001). Jamur merupakan salah satu ancaman terpenting sebagai penyebab kerusakan hasil pertanian yang disimpan atau diolah. Kerusakan tersebut lebih parah terjadi di daerah tropika basah dan hangat yang kondisinya cocok bagi penyebaran dan pertumbuhan jamur tersebut (Essono *et al.*, 2007). Jamur dapat menimbulkan kerusakan melalui proses enzimatik karena jamur dapat mengeluarkan enzim pendegradasi komponen pada bahan simpanan.

Pengujian aktivitas enzim merupakan metode yang cepat dan akurat sebagai indikator kerusakan biji-bijian yang disebabkan oleh jamur. Pengujian enzim sebagai indikator kerusakan bahan tergantung pada substrat yang dominan pada bahan hasil pertanian. Beberapa penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa enzim proteolitik yang dihasilkan oleh *Aspergillus* dan *Penicillium* dapat digunakan sebagai indikator kerusakan kacang tanah, sedangkan enzim lipolitik yang dihasilkan oleh *Aspergillus* dan *Penicillium* dapat dipakai sebagai indikator kerusakan kopra (Ismail, 2001).

Berdasarkan kenyataan di atas maka diduga kerusakan gaplek akibat jamur *Aspergillus* dapat dideteksi melalui pengukuran aktivitas glucoamilase. Hal ini disebabkan gaplek mengandung pati yang tinggi sehingga jamur marga *Aspergillus* yang tumbuh pada gaplek mampu menghasilkan glucoamilase. Aktivitas glucoamilase ini menyebabkan perombakan pati menjadi glukosa. Penurunan kadar pati akibat aktivitas enzim tersebut dapat diduga dengan membandingkan kadar pati gaplek yang ditumbuhi oleh jamur *Aspergillus* dengan gaplek yang tidak ditumbuhi oleh jamur *Aspergillus*.

Gaplek merupakan medium yang cocok untuk pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus*. Jamur-jamur yang dilaporkan tumbuh pada gaplek antara lain *A. clavatus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, dan *A. ochraceus* (Yulineri *et al.*, 1997; Wareing *et al.*, 2001; Essono *et al.*, 2007). Di antara spesies-spesies tersebut, *A. flavus* merupakan jamur toksigenik yang sering ditemukan tumbuh dominan pada produk hasil pertanian. Beberapa pustaka sebelumnya mengungkapkan bahwa kehilangan hasil gaplek dalam simpanan mencapai 16-25% (Balagopalan *et al.*, 1988; Ginting *et al.*, 1992).

Penelitian yang telah dilakukan dan dipublikasikan juga belum mencakup peran aktivitas glucoamilase yang dihasilkan *A. flavus* pada penyakit

<sup>1</sup> Jurusan Teknologi Hasil Hutan, Fakultas Kehutanan, Universitas Tanjungpura Pontianak, Jl. Imam Bonjol Pontianak 78124.

<sup>2</sup> Jurusan Perlindungan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Bulaksumur Yogyakarta.

<sup>3</sup> Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Bulaksumur Yogyakarta.

simpanan gaplek serta pengaruh kelembapan relatif dan suhu ruang penyimpanan terhadap aktivitas glukamilase. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui peran glukamilase *A. flavus* pada penyakit simpanan gaplek serta pengaruh kelembapan relatif dan suhu ruang penyimpanan terhadap aktivitas glukamilase.

## METODE PENELITIAN

**Tempat dan Waktu.** Ubi kayu diperoleh dari Kabupaten Gunungkidul yang merupakan sentra ubi kayu dan gaplek di Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Percobaan penyimpanan gaplek dan analisis-analisis dilakukan di Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan Klinik, Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian UGM, Laboratorium Bioteknologi, dan Laboratorium Kimia-Biokimia Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Rekayasa Pangan, Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian UGM. Penelitian dilaksanakan pada Agustus 2005 sampai dengan Maret 2006.

**Pembuatan gaplek.** Ubi kayu varietas Adira I dikupas dengan pisau, kemudian dipotong berbentuk kubus dengan sisi masing-masing berukuran 2 cm, dicuci, dan dikeringkan dengan alat pengering kabinet yang dirancang oleh Laboratorium Rekayasa Pangan Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian UGM. Pengeringan gaplek dilakukan pada suhu 40 °C sampai kadar air 12,50%.

**Perbanyakkan inokulum *A. flavus*.** Isolat ditumbuhkan pada medium agar miring PDA dan diinkubasikan selama 7 hari pada suhu ruangan. Panen spora dilakukan setelah isolat berumur 7 hari dengan cara sebagai berikut. Isolat dalam medium agar miring sebanyak empat tabung masing-masing ditambahkan 5 ml Tween 80 (0,05%) (Pitt & Hocking, 1997), digoyang dengan perlahan, dituangkan ke dalam erlenmeyer yang berisi air steril, dan dihitung kerapatan spora dengan *haemocytometer*. Kerapatan spora diencerkan menjadi 10<sup>6</sup>/ml.

**Inokulasi.** Gaplek seberat 100 g didesinfeksi dalam alkohol 96% dengan cara dicelup selama 30 detik, kemudian dikeringkan dengan kertas saring steril selama 15 menit agar alkohol menguap, dan dibilas dengan air steril, dikering-anginkan lagi di atas kertas saring steril sekitar 30 menit. Inokulasi gaplek dilakukan dengan cara penyemprotan gaplek dengan suspensi

spora *A. flavus* (10<sup>6</sup> CFU/ml) sebanyak 2 ml, sedangkan perlakuan kontrol dilakukan dengan penyemprotan dengan air steril sebanyak 2 ml (Diener & Davis, 1969).

**Penyimpanan gaplek.** Gaplek yang telah diinokulasi dibungkus dengan kain kasa dan disimpan selama 4 bulan dalam stoples bertutup yang di dalamnya terdapat penyangga. Pengaturan lengas nisbi udara di dalam stoples dilakukan dengan menggunakan larutan garam-garam jenuh yang diletakkan dalam stoples di bawah penyangga. Untuk memperoleh lengas nisbi udara 65% digunakan larutan jenuh garam NaNO<sub>2</sub> dan lengas nisbi udara 80% digunakan (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Shurtleff & Averre, 1997). Selanjutnya gaplek tersebut disimpan dalam inkubator yang dilengkapi dengan alat pengatur suhu. Suhu ruang penyimpanan ditentukan pada 30 dan 35 °C.

**Rancangan percobaan.** Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok faktorial dengan 3 faktor. Faktor I yaitu inokulasi *A. flavus* terdiri atas 2 aras (diinokulasi dan tidak diinokulasi), faktor II yaitu lengas nisbi udara terdiri atas 2 aras 65 dan 80%, dan faktor III yaitu suhu ruang penyimpanan terdiri atas 30 dan 35 °C. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam. Untuk mengungkapkan pengaruh antarperlakuan digunakan uji rentang berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

## Peubah pengamatan

### Aktivitas glukamilase *A. flavus* pada gaplek

**Ekstraksi glukamilase.** Ekstraksi dilakukan dalam erlenmeyer volume 100 ml. Gaplek yang ditumbuhi *A. flavus* sebanyak 4 g dihaluskan, dimasukkan dalam erlenmeyer, ditambah 20 ml bufer asetat pH 5,5, kemudian digoyang dengan *shaker* selama 1 jam. Cairan enzim kasar disentrifugasi pada 7000 g pada suhu 4 °C selama 20 menit. Supernatan (enzim kasar) digunakan untuk pengujian aktivitas glukamilase (Marin *et al.*, 2003 yang dimodifikasi).

**Pengujian Aktivitas glukamilase.** Supernatan sebanyak 0,5 ml ditambahkan dengan 1 ml (1%) pati mentah dalam bufer asetat pH 5,5. Campuran diinkubasi pada suhu 40°C selama 30 menit, dipanaskan dengan penangas air selama 5 menit, dan didinginkan. Setelah dingin gula reduksi diukur dengan metode Nelson-Somogyi (Sudarmadji *et al.*, 1997). Satu unit aktivitas glukamilase didefinisikan sebagai

kemampuan enzim untuk membebaskan 1 μ mol glukosa pada kondisi pengujian.

**Analisis kadar pati gapek.** Sebanyak 2 g gapek yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam gelas piala 250 ml, ditambah dengan 50 ml aquades dan diaduk selama 1 jam. Suspensi disaring dengan kertas saring dan dicuci dengan akuades sampai volume filtrat 250 ml dan filtrat ini dibuang. Residu dipindahkan secara kuantitatif dari kertas saring ke dalam erlenmeyer dengan pencucian 200 ml akuades dan ditambahkan 20 ml HCl 25%, ditutup dengan pendingin balik dan dipanaskan di atas penangas air mendidih selama 2,5 jam. Setelah dingin larutan dinetralkan dengan larutan NaOH 45% dan diencerkan sampai volume menjadi 500 ml dalam labu takar, kemudian disaring. Kadar gula (%) dinyatakan sebagai glukosa dari filtrat yang diperoleh. Penentuan glukosa seperti pada penentuan gula reduksi. Berat glukosa dikalikan 0,9 merupakan berat pati (AOAC, 1970).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

**Aktivitas glukoamilase *A. flavus* pada gapek.** Penyimpanan selama 4 bulan menyebabkan perubahan aktivitas glukoamilase *A. flavus* yang bervariasi sesuai dengan perlakuan yang diteliti. Aktivitas glukoamilase *A. flavus* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa aktivitas glukoamilase tertinggi pada bulan pertama penyimpanan untuk perlakuan I1R1S2, setelah

penyimpanan bulan kedua dan ketiga cenderung mengalami penurunan, namun pada bulan keempat aktivitas glukoamilase mengalami peningkatan. Aktivitas glukoamilase pada perlakuan I1R1S1 maksimum terjadi pada bulan pertama dan setelah bulan kedua, ketiga, dan keempat cenderung mengalami penurunan. Secara umum makin lama penyimpanan gapek makin turun aktivitasnya, walaupun ada beberapa perlakuan yang mengalami peningkatan aktivitas glukoamilase. Beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim, antara lain jumlah substrat (Nahas et al., 2002), suhu (Okolo et al., 2000; Aggarwal et al., 2001; Cherry et al., 2004; Moreiira et al., 2004; Omemu et al., 2005) dan lama inkubasi (Okolo et al., 2000; Cherry et al., 2004; Hag et al., 2002).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa bahwa RH, suhu penyimpanan gapek dan interaksi keduanya berpengaruh nyata terhadap aktivitas glukoamilase. Aktivitas glukoamilase *A. flavus* paling tinggi diperoleh pada penyimpanan gapek pada bulan pertama dalam ruang dengan RH 65% dan suhu 35 °C (Tabel 1). Menurut Cherry et al. (2004) aktivitas glukoamilase pada medium buatan dipengaruhi oleh suhu inkubasi. Aktivitas glukoamilase optimum pada suhu 35 °C.

Selain RH dan suhu penyimpanan, glukoamilase juga dipengaruhi oleh konsentrasi substrat dan lama inkubasi (penyimpanan). Menurut Marin et al. (2002), produksi glukoamilase ekstraseluler dipengaruhi oleh konsentrasi pati. Aktivitas glukoamilase tertinggi pada konsentrasi pati 1%. Bila konsentrasi lebih dari 1%

Tabel 1. Aktivitas glukoamilase *A. flavus* selama penyimpanan gapek

Perlakuan <sup>1)</sup>	Aktivitas glukoamilase <i>A. flavus</i> (U/ml) <sup>2)</sup> setelah penyimpanan gapek selama 1 sampai dengan 4 bulan			
	1 bulan	2 bulan	3 bulan	4 bulan
I0R1S1	0,634 d A	0,598 f A	0,598 f A	0,505 e B
I0R1S2	0,630 d A	0,524 g B	0,455 g C	0,457 e C
I0R2S1	0,122 f C	0,855 e A	0,763 e B	0,733 d B
I0R2S2	0,224 e D	0,621 f B	0,770 e A	0,533 e C
I1R1S1	1,983 b A	1,533 b B	1,466 b C	1,450 b C
I1R1S2	2,617 a A	1,772 a B	1,566 a C	1,794 a B
I1R2S1	1,200 c A	1,050 d B	0,961 d AB	1,100 c AB
I1R2S2	1,156 c B	1,406 c A	1,172 c B	1,195 c B

Keterangan:

- 1) I0= tidak diinokulasi dan I1= diinokulasi dengan *A. flavus*. R1= RH 65% dan R2= RH 80%. S1= 30°C dan S2= 35 °C
- 2) Rerata yang diikuti huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada aras 5%. Rerata yang diikuti huruf kapital yang sama dalam baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada aras 5%

aktivitas glukoamilase menurun. Haq *et al.* (2002) menyatakan bahwa sebanyak 20 isolat jamur yang diisolasi dari tanah, semuanya memproduksi enzim  $\alpha$ -amilase. Produksi  $\alpha$ -amilase meningkat dengan peningkatan suhu inkubasi dan makin lama waktu inkubasi produksi enzim menurun. Produksi enzim optimum terjadi pada saat tiga hari inkubasi. Makin lama inkubasi aktivitas glukoamilase menurun.

Aktivitas glukoamilase *A. flavus* pada penelitian ini dapat digunakan sebagai indikator infeksi jamur sebelum kerusakan secara fisik terlihat seperti warna gaplek (gejala) dan bobot gaplek (data tidak ditampilkan). Hal ini ditunjukkan oleh warna gaplek yang belum berubah pada pengamatan bulan pertama, namun aktivitas glukoamilase sudah tinggi. Begitu juga dengan bobot gaplek pada saat pengamatan 1 bulan bobot gaplek belum berubah. Hal yang sama dilaporkan oleh Magan *et al.* (2004) bahwa pengujian aktivitas enzim merupakan metode yang cepat dan akurat sebagai indikator kerusakan biji-bijian sebelum warna jamur tampak.

Pengujian aktivitas enzim dapat digunakan sebagai indikator kerusakan bahan (*spoilage*) yang disebabkan oleh jamur (Keshri *et al.*, 2002; Magan *et al.*, 2004). Jain *et al.* (1991 *cit.* Keshri *et al.*, 2002) menyatakan bahwa pengujian enzim hidrolitik dapat digunakan sebagai indikator kerusakan biji-bijian yang disebabkan oleh jamur. Lebih lanjut dikatakan bahwa peningkatan enzim N-Acetil- $\beta$ -D-glukosamidase signifikan pada barli dan gandum. Marin *et al.* (1998

*cit.* Keshri *et al.*, 2002) menemukan bahwa enzim N-Acetil- $\beta$ -D-glukosamidase,  $\alpha$ -D-galaktosidase, dan  $\beta$ -D-glukosidase dominan pada jagung. Peningkatan ketiga jenis enzim tersebut dipakai sebagai indikator kerusakan jagung karena kontaminasi jamur. Jamur-jamur yang ditemukan adalah *Fusarium verticillioides* dan *F. proliferatum*.

Glukoamilase *A. flavus* dapat mendegradasi pati mentah gaplek. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Okolo *et al.* (2000) dan Omemu *et al.* (2005). Menurut Okolo *et al.* (2000), glukoamilase *A. carbonarius* dapat mendegradasi pati mentah kentang, sorgum, ubi kayu, dan jagung. Begitu juga hasil penelitian Omemu *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa aktivitas glukoamilase *A. niger* AMO7 dapat mendegradasi pati mentah ubi kayu, gadung, dan ubi jalar.

**Kadar pati gaplek.** Pengaruh *A. flavus* terhadap perubahan kadar pati gaplek selama penyimpanan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa kadar pati gaplek yang diinokulasi *A. flavus* lebih rendah daripada yang tidak diinokulasi jamur ini baik pada penyimpanan 1, 2, 3, maupun 4 bulan. Pada umumnya penurunan kadar pati yang nyata terjadi pada 3 dan 4 bulan penyimpanan untuk gaplek yang tidak diinokulasi, sedangkan pada gaplek yang diinokulasi *A. flavus* penurunan kadar pati sudah terjadi mulai 2 bulan penyimpanan. Kadar pati gaplek untuk semua perlakuan masih sesuai dengan

Tabel 2. Pengaruh *A. flavus* terhadap perubahan kadar pati gaplek selama penyimpanan

Perlakuan <sup>1)</sup>	Kadar pati gaplek (% , berat kering) setelah penyimpanan selama 1 sampai dengan 4 bulan				
	0 bulan	1 bulan	2 bulan	3 bulan	4 bulan
I0R1S1	78,20 a A	77,77 a A	77,68 a A	72,70 b B	72,41 a B
I0R1S2	78,20 a A	77,86 a A	78,00 a A	74,40 a B	72,61 a C
I0R2S1	78,20 a A	75,97 ab B	75,34 b B	71,34 bc C	71,85 a C
I0R2S2	78,20 a A	77,96 a A	75,14 b B	72,38 b C	68,59 bc D
I1R1S1	78,20 a A	75,57 ab B	74,15 b C	71,82 bc D	67,27 cd E
I1R1S2	78,20 a A	74,42 c B	71,67 c C	70,24 c C	66,28 d D
I1R2S1	78,20 a A	72,15 cd B	70,14 d B	71,12 bc BC	69,50 b C
I1R2S2	78,20 a A	71,89 d B	69,55 d BC	70,40 c BC	69,50 b C

Keterangan:

- 1) I0= tidak diinokulasi dan I1= diinokulasi dengan *A. flavus*. R1= RH 65% dan R2= RH 80%. S1= 30°C dan S2= 35°C
- 2) Rerata yang diikuti huruf kecil yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada aras 5%. Rerata yang diikuti huruf kapital yang sama dalam baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada aras 5%

kualitas yang disyaratkan SNI, yaitu 68% untuk kualitas I dan 65% untuk kualitas II.

Penurunan kadar pati ini terjadi karena glukoamilase *A. flavus* memecah pati menjadi glukosa. *A. flavus* tumbuh pada gapek dengan memanfaatkan substrat pati. Menurut Fakhoury & Waloshuk (1999), *A. flavus* tumbuh dan berkembang biak pada medium pati sebagai sumber karbon dan dapat memecah pati menjadi glukosa. Hal yang sama dilaporkan oleh Amusa *et al.* (2002) yang menyatakan bahwa penurunan karbohidrat pada buah sukun dari 70,2% awal penyimpanan menjadi 59,4% akhir penyimpanan (9 hari) pada suhu ruang. Penurunan ini disebabkan asosiasi antara *A. niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Botryodiplodia theobromae*, *Mycovellosiella fulva*, *Penicillium* sp., dan *A. flavus*.

Menurut Okigbo & Nwakammah (2005), beberapa jamur tumbuh pada gadung (*Dioscorea rotunda* dan *D. alata*) antara lain *F. oxysporum*, *A. niger*, *A. flavus*, *R. stolonifer*, *F. solani*, *B. theobromae*, *Mucor* sp., *Geotrichum* sp., *Pichia* sp., dan *Candida* sp. Jamur-jamur tersebut memanfaatkan substrat pati sehingga kandungannya menurun selama penyimpanan. Menurut Quisenberry (1949 *cit.* Lacey, 1989), kolonisasi jamur membentuk enzim ekstraseluler yang menggunakan komponen berupa karbohidrat, protein, dan lemak, sehingga mengakibatkan penurunan bahan kering dan kualitas hasil pertanian.

### SIMPULAN

Aktivitas glukoamilase *A. flavus* dapat digunakan sebagai indikator awal serangan jamur pada gapek sebelum kerusakan secara fisik tampak. *Aspergillus flavus* tumbuh pada gapek memanfaatkan substrat pati. Penurunan kadar pati terjadi karena glukoamilase *A. flavus* memecah pati menjadi glukosa. Kelembapan relatif, suhu penyimpanan gapek dan interaksi keduanya berpengaruh nyata terhadap aktivitas glukoamilase.

### DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal, N.K., S.K. Yadav., S.S. Dhamija & B.S. Yadav. 2001. Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Pearmillet for Glucose Production, *Starch*, 53: 330-335.
- Amusa, N.A. I.A. Kehinde & O.A. Ashaye. 2002. Biodeterioration of Breadfruit (*Artocarpus communis*) in Storage and Its Effect on the Nutrient Composition. *African Journal of Biotechnology*, 1: 57-60.
- AOAC. 1970. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, Washington.
- Balogopalan, C., G. Padmaja., S.K. Nanda & S.N. Moorthy. 1988. *Cassava in Food, Feed and Industry*. CRC Press. Florida.
- Cherry, H.M., M.T. Hossain & M.N. Anwar. 2004. Extracellular Glucoamylase from the Isolate *A. fumigatus*, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7: 1988-1992.
- Diener U.L & N.D. Davis. 1969. Aflatoxin Formation by *Aspergillus flavus*, p:13 -54 Dalam Goldblatt, L.A. (Ed) *Aflatoxin, Scientifics, Background, Control, and Implications*. Academic Press. New York and London.
- Essono, G, M. Ayodele., A. Akoa., J. Foko., S. Olembo & J. Gockowski. 2007. *Aspergillus* species on Cassava Chips in Storage in Rural Areas of Southern Cameroon: Their Relationship with Storage Duration, Moisture Content and Processing Methods. *African Journal of Microbiology Research*. Online <http://www/academicjournals.org/ajmr> (Diakses tanggal 7 Agustus 2007) .
- Fakhoury, A.M & C.P Woloshuk. 1999. Amy1, The  $\alpha$ -amylase Gene of *Aspergillus flavus*: Involvement in Aflatoxin Biosynthesis in Maize Kernels, *Phytopathology*, 89: 908-914.
- Ginting, E., B. Kusbiantoro., R. Merk., & D. Harnowo. 1992. Primary Post Harvest Handling of Cassava at Farm Level in South Malang. *Risalah Seminar Hasil Penelitian Tanaman Pangan Tahun 1992*. p: 249-307.
- Hag, I., R. Abdullah., H. Ashraf & A.H. Shah. 2002. Isolation and Screening of Fungi for the

- Biosynthesis of Alpha Amylase, *Biotechnology* 1: 61-66.
- Ismail, M.A. 2001. Deterioration and Spoilage of Peanuts and Desiccated Coconuts From Two Sub-Saharan Tropical East Africa Countries Due to The Associated Mycobiota and Their Degradative Enzymes. *Mycopathologia*, 150 (2): 67-84 (Abstract).
- Keshri, G., P. Voysey, & N. Magan. 2002. Early Detection of Spoilage Moulds in Bread Using Volatile Production Patterns and Quantitative Enzym Assays. *Journal of Applied Microbiology*, 9: 165-172.
- Lacey, J., N. Ramakrishna, & A. Hamer. 1991. Grain Fungi. p: 121-177. Dalam Arora, D.K., K.K. Mukerji & E.H. Marth (Eds.). *Handbook of applied Mycology: Food and Feed*. Marcel Dekker. New York.
- Magan, N., & Aldred. 2004. The Role of Spoilage Fungi in Seed Deterioration. Dalam D.K. Arora, 2004. *Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Enviromental Applications*. Marcel Dekker, New Orleans, Louisiana.
- Marin, S., M.E. Guynot., V. Sanchis & A.J. Ramos. 2003. Hydrolytic Enzym Activities as Indicators of Fungal Spoilage in Bakery Products, *Journal of the Science Food and Agriculture*, 83: 685-691.
- Moreira, F.G., V. Lenartovicz., C.G.M. de Souza., E.P. Ramos, & R.M. Perelta. 2001. The Use of a-Mehtyl-D-Glucoside, A Synthetic Analogue of Maltose, As Inducer of Amylase by *Aspergillus* sp. In Solid-State and Submerged Fermentations, *Brazilian Journal of Microbiology*, 32:15-19.
- Nahas, E. & M.M. Waldemarin. 2002. Control of Amylase Production and Growth Characteristics of *Aspergillus ochraceus*, *Revista Latinoamericana Microbiologia*, 44 (1): 5-10.
- Okigbo, R.N. & P.T. Nwakammah. 2005. Biodegradation of White Yam (*Dioscorea rotunda* Poir) and Water Yam (*Dioscorea alata* L.) Slices Dried Under Different Condition, *Science Technology Journal*, 5 (3): 577-586.
- Okolo, B.N., F.S. Ire., L.I. Ezeogu., C.U. Anyanwu & F.J. Odibo. 2000. Purification and Some Properties of a Novel Raw Starch-digesting Amylase from *Aspergillus carbonarius*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 329-336.
- Omemu, A.M., I. Akpan., M.O. Bankole & O.D. Teniola. 2005. Hydrolysis of Raw Tuber Starch by Amylase of *Aspergillus niger* AMO7 Isolated from the Soil, *African Journal of Biotechnology*, 4: 19-25.
- Pitt. J.I & A.D. Hocking. 1997. *Fungi and Food Spoilage*. Academic Press, London.
- Semangun, H. 2001. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Shurtleff, M.C. & C.W. Averre. 1997. *The Plant Disease Clinic and Field Diagnosis of Abiotic Disease*. APS. Press. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota.
- Sudarmadji, S., B. Haryono., & Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.
- Wareing, P.W., A. Westby., J.A. Gibbs., L.T. Allotey & M. Halm. 2001. Consumer Prefferences and Fungal and Mycotoxin Contamination of Dried Cassava Product from Ghana. *International Journal of Food Science & Technology*. 36 (1): 1-10.
- Yulineri, T., R. Hardiningsih, & Suciati. 1997. Keberadaan Kapang pada Gapek: Pengaruh terhadap Kualitas dan Daya Simpan. Balitbang Mikrobiologi. Puslitbang Biologi-LIPI Jakarta. p: 27-33.