

Optimasi Linamarase pada Umbi Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dan Umbi Gadung (*Dioscorea hipsida* Dennst) dengan Variasi Suhu dan pH yang Berbeda

YONI ANGGUN ENDAH KURNIATI¹, WIJANARKA¹, ENDANG KUSDIYANTINI¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro. Jl. Prof. H. Soedharto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah, Indonesia 50275. Telp. +6281904403867 *email: yonianggun@gmail.com

Abstrak

Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dan gadung (*Dioscorea hipsida* Dennst) merupakan bahan pangan yang memiliki kandungan karbohidrat tinggi. Singkong dan gadung sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia sebagai pengganti nasi. Kedua bahan pangan ini berpotensi menyebabkan keracunan sianida apabila tidak diolah dengan baik. Umbi singkong dan gadung mengandung enzim hidrolitik yaitu linamarase (EC 3.2.1.2.1) dan substrat linamarin. Senyawa sianida dihasilkan akibat adanya hidrolisis linamarase dengan linamarin pada kondisi pH>6. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimal linamarase dari umbi singkong dan gadung. Parameter yang diukur adalah kadar sianida menggunakan spektrofotometri = 510 nm. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial. Faktor pertama optimasi linamarase meliputi suhu 35°C, 40°C, dan 45°C, sedangkan faktor kedua meliputi pH 6.5, 7.0, dan 7.5. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimal linamarase singkong pada suhu 45°C dan pH 7.5. Kondisi optimal linamarase gadung pada suhu 35°C dan pH 7.5.

Kata kunci : Singkong (*Manihot esculenta* Crantz), Gadung (*Dioscorea hipsida* Dennst), Linamarase, Linamarin, Sianida

Abstract

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and gadung (*Dioscorea hipsida* Dennst) are comestibles that have carbohydrate content. Cassava and gadung are always consumed by Indonesian. Both of them have potential to cause cyanide poisoning, if not treated well. Cassava and gadung content hydrolitic enzyme are linamarase (EC 3.2.1.2.1) and linamarin. Cyanide is obtained because hydrolisis activity between linamarase and linamarin at pH >6. The study aims to determine optimal condition linamarase from cassava and gadung. The measured parameters was cyanide content used spectrofotometry (= 510 nm). This study was done experimentally used randomize block design, factorial pattern. The first factor of linamarase optimization was temperature 35°C, 40°C, and 45°C, while the second factor was pH 6.5, 7.0, and 7.5. The results showed that the optimal condition of linamarase cassava at temperature 45°C and pH 7.5, while the optimal condition of linamarase gadung at temperature 35°C and pH 7.5.

Keyword : Cassava (*Manihot esculenta* Crantz), Gadung (*Dioscorea hipsida* Dennst), Linamarase, Linamarin, Cyanide

1. PENDAHULUAN

Singkong, dan gadung merupakan bahan pangan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Berbagai macam olahan makanan dari bahan-bahan ini sangat digemari dari berbagai kalangan. Kedua bahan pangan ini memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi, sehingga dapat dijadikan sebagai sumber karbohidrat alternatif. Meninjau dari kelemahannya, kedua tanaman ini berpotensi memberikan dampak keracunan bagi pengonsumsinya apabila saat proses pengolahan singkong, dan gadung tidak sempurna. Potensi keracunan ini disebabkan karena singkong, dan gadung mengandung senyawa glukosida sianogenik, linamarin, sejumlah lotaustratin (methil-linamarin). Senyawa tersebut terdapat di bagian dalam sel tumbuhan dengan suatu enzim hidrolitik spesifik yaitu linamarase yang terletak di bagian dinding sel (Harijono *dkk.*, 2011). Senyawa seperti linamarin dan lotaustratin ini dapat berubah menjadi sianida yang sangat beracun apabila terjadi kontak dengan linamarase. Berdasarkan WHO/FAO kadar sianida yang diperbolehkan dalam makanan maksimal adalah 10 ppm dan berdasarkan standar Indonesia tingkat keamanan konsumsi sianida adalah 40 ppm (Cardoso *et al.*, 2005). Munculnya senyawa sianida (HCN) dalam singkong dan gadung disebabkan adanya katalisis oleh linamarase, dimana linamarin dihidrolisis menjadi aseton sianohidrin dan glukosa, serta lotaustratin dihidrolisis menjadi sianohidrin dan glukosa. Kondisi dibawah neutral atau basa, aseton sianohidrin terurai menjadi aseton dan HCN/CN⁻ (Bradbury, *et al.*, 1999).

Beberapa upaya penurunan sianida, diantaranya yaitu penggunaan metode perendaman dianggap sebagai cara yang sederhana. Tepung singkong yang mengandung residu linamarase direndam dalam air dengan perbandingan 1:1.25, kemudian didiamkan selama 5 jam pada suhu 30°C. Perlakuan ini akan mengurangi kandungan sianida sebanyak 3x lipat (Bradbury, 2006).

Proses pencucian, perendaman, perebusan dan penjemuran dapat menurunkan kandungan sianida dalam tepung singkong. Hal ini dikarenakan adanya penguapan sianida bebas saat pengeringan pada suhu 70°C dan adanya sianida bebas yang larut dalam air pada proses perebusan serta perendaman (Askurrahman, 2010).

Perendaman, perebusan dan pengeringan dengan menggunakan linamarase endogen masih belum dapat menghilangkan secara sempurna senyawa sianida, karena proses ini masih menyisakan senyawa linamarin dan residu sianida. Upaya penurunan sianida dapat dilakukan dengan mengoptimalkan kerja linamarase dalam menghidrolisis linamarin. Penambahan linamarase eksogen untuk ketiga perlakuan tersebut diperlukan untuk membantu dan meningkatkan kerja linamarase dalam pemecahan linamarin serta mempercepat proses pengurangan residu sianida (Harijono *dkk.*, 2011).

2. BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Optimasi linamarase pada umbi singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dan umbi gadung (*Dioscorea hispida* Dennst) dalam penelitian ini dilakukan Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2015 -Mei 2015.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah umbi singkong dan umbi gadung, asam pikrat jenuh 2,5%, aquadest, HCl 0.1 M, KCN, H₂SO₄ 25%, buffer sitrat-fosfat 0.1 M pH 7.0, buffer fosfat 1M pH 6.5, 7.0 dan 7.5, guaninin hydrochloride, dan es batu. Alat yang digunakan meliputi tabung reaksi, mikropipet, mikrotip, gelas ukur, gelas beker, falcontube, cawan petri, kertas saring (whatman), gunting, kertas mika, kasa, picrat paper test, aluminium foil, pisau, talanan, spatula, label, spidol, alat tulis, erlenmeyer, botol, double tipe, rak tabung reaksi, spektrofotometer, inkubator, *centrifuge*, *vortex*, sonikator, timbangan, pH meter, blender, *refrigerator*, *stirer*, *cuvet* dan *tissue*.

Metode Penelitian

Pembuatan Indikator Picrate Paper

Pembuatan indikator *picrate paper* dibuat menggunakan kertas saring (whatman) dan kertas mika yang dipotong dengan ukuran 0,8cm x 7cm. Kertas yang telah disatukan direndam dalam asam pikrat jenuh (2,5%) (Bradbury *et al.*, 1999) selama ± 3 menit, terakhir kertas diangkat dan dikeringkananginkan.

Pembuatan Kurva Standar Sianida

Standar HCN dibuat dengan cara 100µl larutan KCN dengan konsentrasi berbeda (0, 50, 100, 200, 400, 600 ,800 (ppm)) dimasukkan dalam masing-masing tabung reaksi, kemudian ditambahkan 100 µl H₂SO₄ 25%. *Picrate paper* dimasukkan dengan cara digantungkan pada bibir tabung reaksi, selanjutnya tabung reaksi ditutup dan diinkubasi selama overnight. *Picrate paper* diambil dan direndam dalam 5ml aquadest selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang 510nm (Bradbury *et al.*, 1999).

Isolasi Linamarin

Isolasi linamarin dari singkong dan gadung dilakukan dengan cara (daun muda/umbi) singkong dan gadung sebanyak 5 g dipotong kecil, kemudian (daun muda/umbi) singkong dan gadung ditumbuk dalam mortar. Hasil tumbukan ditambahkan larutan HCl 0,1M sebanyak 5 ml dan dicampur secara merata. Hasil campuran (tumbukan daun/umbi + HCl) ditambahkan lagi 5 ml larutan HCl 0,1 M. Larutan campuran tersebut disentrifuge 3500rpm untuk mendapatkan supernatan. Cairan supernatan yang dihasilkan dipindahkan ke dalam *falcontube*. Campuran cairan supernatan dengan 0,1 M HCl merupakan ekstrak linamarin dari singkong dan gadung yang telah diisolasi. Tahap selanjutnya ekstrak linamarin dibekukan dalam suhu -20°C (Haque *et al.*, 2004).

Isolasi Crude Enzim Linamarase

Isolasi crude enzim linamarase dapat dilakukan dengan cara 100 g umbi singkong dan gadung dipotong kecil. Umbi yang telah dipotong ditambahkan 100 ml buffer sitrat fosfat pH 7. Bahan- bahan tersebut diblender pada suhu dingin hingga membentuk bubur. Bubur dimasukkan dalam botol dan disonikasi selama ± 15 menit. Bubur singkong dan gadung yang telah disonikasi, selanjutnya disaring menggunakan kasa dan filtrat dimasukkan dalam erlenmeyer. Filtrat kemudian dibagi ke dalam *falcontube* dengan volume yang sama. Filtrat disentrifuge selama ± 20 menit pada 4000 rpm dan suhu 4°C. Supernatan yang dihasilkan adalah enzim kasar. Supernatan dipisahkan dan dimasukkan dalam botol kemudian disimpan dalam *refrigerator* (Harijono *dkk.*, 2011).

Uji Kandungan Linamarin pada Daun dan Umbi Singkong serta Gadung

Uji keberadaan substrat linamarin dilakukan dengan cara menyiapkan tabung reaksi yang telah ditandai berdasarkan volume linamarin yaitu (0, 100, 200, 300,400, 500) µl. Masing- masing tabung dimasukkan linamarin cair sesuai dengan volume yang telah ditentukan. 0,5 ml aquadest ditambahkan ke dalam tabung.

Linamarase dimasukkan sebanyak 100 µl, diikuti dengan 50µl buffer fosfat pH 6,5 pada masing-masing tabung. *Picrate paper* dimasukkan dengan cara digantungkan di bibir tabung, kemudian ditutup dan diinkubasi pada suhu 30⁰ C selama overnight. Perlakuan ini dibuat triplo. *Picrate paper* selanjutnya dipindahkan ke dalam tabung reaksi lain yang sudah berisi 5 ml aquades, direndam selama 30 menit dan kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada $\lambda = 510\text{nm}$. Kandungan sianida (ppm) diperoleh dengan mengalikan 396 dengan absorbansi (Haque and Bradbury, 2004).

Uji Optimasi Aktivitas Linamarase

Tabung reaksi ditandai terlebih dahulu menurut volume enzim yang akan ditambahkan. enzim dimasukkan ke dalam masing-masing tabung dengan volume 0µl, 100µl, 200µl, 300µl, 400µl dan 500µl. Aquadest ditambahkan ke dalam masing-masing tabung hingga total volume menjadi 500µl. Setiap perlakuan dibuat triplo. Masing-masing perlakuan, setiap tabungnya ditambahkan (50µl buffer fosfat 1 M pH 6.5), (50µlbuffer fosfat 1 M pH 7.0/), dan (50µlbuffer fosfat 1 M pH 7.5/) kemudian ditambahkan 100µl linamarin. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. *Picrate paper* dimasukkan ke dalam masing-masing tabung dengan cara digantungkan diatas mulut tabung dan dijepit menggunakan tutup tabung. Tabung yang telah ditutup, kemudian diinkubasi masing-masing pada suhu (35⁰C/ perlakuan I), (40⁰C/perlakuan II), dan (45⁰C/ perlakuan III). 200 mg guanidine hydrochloride dimasukkan setelah sampel pada tabung reaksi didiamkan selama 15 menit. Tabung reaksi ditutup dan diinkubasi kembali pada suhu (35⁰C/ perlakuan I), (40⁰C/ perlakuan II), dan (45⁰C/ perlakuan III) selama 3 jam untuk mengetahui perubahan *picrate paper*. *Picrate paper* yang berada pada tabung reaksi setelah 3 jam, selanjutnya dipindahkan ke dalam tabung reaksi lain yang masing-masing telah diisi 5 ml aquadest hingga warna larut. *Picrate paper* yang telah dimasukkan dalam aquadest, selanjutnya didiamkan selama 30 menit. Hasil dari larutan warna *picrate paper* dalam aquadest dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan $\lambda = 510\text{nm}$. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dikonversi dengan rumus untuk memperoleh kandungan sianida. Adapun rumus persamaannya adalah
Kandungan sianida (µg HCN) = 39,6 x absorbansi

Total kandungan sianida (µg HCN) yang diperoleh kemudian dibuat grafik terhadap volume linamarase (µl). Gradien garis (*gr*) yang didapat dari grafik digunakan untuk menentukan aktivitas linamarase. Adapun rumus persamaannya adalah

$$\text{Aktivitas Linamarase (U/}\mu\text{l)} = \text{gr}/27 \times t$$

Keterangan:

gr (gradien) ; t (waktu=15 menit) (Haque dan Bradbury, 1999)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Ekstrak Linamarin Bagian Daun dan Umbi pada Tanaman Singkong dan Gadung

Kandungan linamarin bagian daun dan umbi pada tanaman singkong dan gadung diukur berdasarkan kandungan total sianida (µg HCN/g). Hasil kandungan sianida berdasarkan volume ekstrak (Tabel 3.1). Tabel 3.1 menunjukkan bahwa terdapat kandungan linamarin di bagian daun dan umbi pada tanaman singkong. Kandungan sianida bagian daun singkong paling tinggi sebesar 551,628 ppm pada volume ekstrak 500µl, sedangkan pada bagian umbi singkong kandungan sianida tertinggi sebesar 306,108 ppm. Kandungan sianida pada gadung paling tinggi terdapat pada bagian umbi dengan volume ekstrak 500 µl sebesar 90,684 ppm, sedangkan pada bagian daun gadung kandungan sianida bernilai negatif. Hal ini menunjukkan pada bagian daun gadung tidak mengandung linamarin. Peningkatan kandungan sianida bagian daun dan umbi tanaman singkong dan gadung seiring dengan tingginya volume ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi volume ekstrak, maka semakin banyak kandungan linamarin sehingga sianida yang dihasilkan tinggi.

Tabel 3.1 Kandungan Sianida Bagian Daun dan Umbi pada Tanaman Singkong dan Gadung

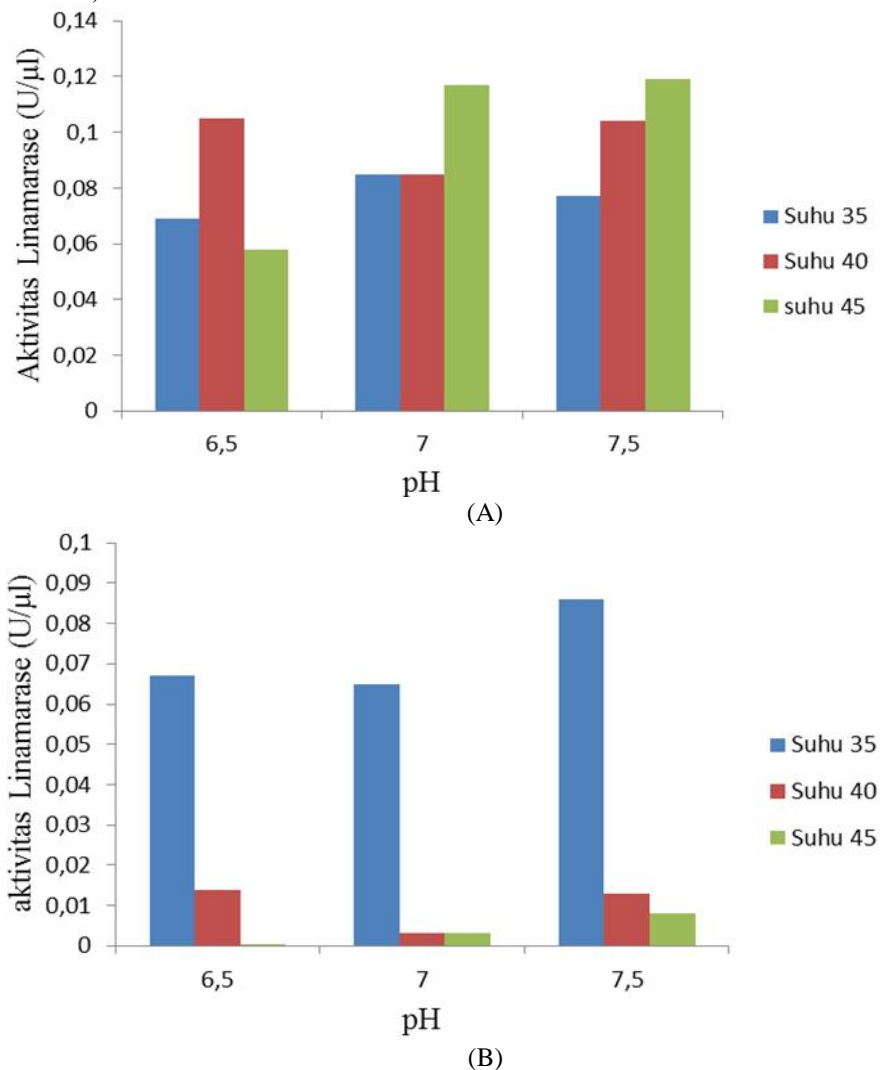
Volume Ekstrak (µl)	Kandungan Sianogen			
	Singkong		Gadung	
	Daun	Umbi	Daun	Umbi
0	43,56	17,82	-5,15	5,15
100	140,98	51,08	-57,42	46,73
200	318,38	55,44	-62,57	49,50
300	425,70	61,78	-41,18	59,00
400	491,83	302,15	-46,33	77,62
500	551,63	306,11	-42,37	90,68

Faktor yang mempengaruhi perbedaan kandungan sianida pada tanaman singkong dan gadung diantaranya adalah jenis spesies, perbedaan bagian-bagian tanaman seperti daun dan umbi, usia tanaman, musim yang menyebabkan stress air, dan curah hujan (Prastyo, *dkk.* (2011); Hidayat, *dkk.* (2002); Cardoso, *et al.* (2005). Kandungan linamarin pada tanaman singkong di bagian daun muda lebih banyak daripada bagian umbi (Haque & Bradbury, 2004). Hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa walaupun bagian umbi gadung mengandung sianida yang tinggi daripada daun, akan tetapi jika dibandingkan dengan singkong, kandungan sianida umbi gadung lebih rendah. Hal ini sesuai dengan penelitian Prastyo, *dkk.* (2011) yang menunjukkan bahwa kandungan sianida pada umbi gadung lebih rendah daripada kandungan sianida singkong. Berdasarkan potensi sianida, yang menunjukkan bahwa bagian umbi mempunyai kandungan linamarin yang tinggi dibandingkan daun, maka penelitian ini menggunakan ekstrak linamarin yang diisolasi dari bagian umbi untuk diuji selanjutnya.

Optimasi Linamarase pada Umbi Singkong dan Gadung

Optimasi linamarase ditentukan untuk mengetahui aktivitas enzim dari sampel umbi singkong dan gadung. Penentuan kondisi optimal linamarase pada penelitian ini menggunakan variasi suhu (35°C ; 40°C ; 45°C) dan pH (6.5; 7.0; 7.5). Aktivitas enzim yang paling tinggi dianggap sebagai kondisi optimum linamarase yang baik, selanjutnya hasil optimasi akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Aktivitas linamarase hasil isolasi dari umbi singkong dan umbi gadung menunjukkan kondisi optimum yang berbeda (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Aktivitas Linamarase (A) Umbi Singkong (B) Umbi Gadung pada Kondisi Suhu dan pH yang Berbeda

Perlakuan suhu 35^oC memiliki aktivitas linamarase umbi singkong tertinggi pada pH 7.0 sebesar 0,085 U/ μ l, perlakuan suhu 40^oC tertinggi pada pH 6,5 sebesar 0,105 U/ μ l dan perlakuan suhu 45^oC pada pH 7.5 sebesar 0,119 U/ μ l. Perlakuan suhu 35^oC memiliki aktivitas linamarase umbi gadung tertinggi pada pH 7.5 sebesar 0,086 U/ μ l, perlakuan suhu 40^oC memiliki pada pH 6,5 sebesar 0,014 U/ μ l dan perlakuan suhu 45^oC pada pH 7.5 sebesar 0,008 U/ μ l.

Hasil analisis sidik ragam (Anova) terhadap aktivitas linamarase umbi singkong menunjukkan bahwa perlakuan suhu (S_{35}, S_{40} dan S_{45}), perlakuan pH ($P_{6.5}, P_{7.0}, P_{7.5}$) dan interaksi S_aP_b , berpengaruh terhadap kondisi optimum linamarase. Hasil uji duncan terhadap aktivitas linamarase singkong berdasarkan perlakuan suhu, pH dan interaksinya menunjukkan bahwa perlakuan (S_{40} dan S_{45}), perlakuan ($P_{7.0}$ dan $P_{7.5}$) dan interaksi perlakuan ($S_{45}P_{7.5}$ dan $S_{45}P_{7.0}$) berpengaruh secara signifikan (Tabel 3.2).

Hasil analisis sidik ragam (Anova) terhadap aktivitas linamarase gadung menunjukkan bahwa perlakuan suhu (S_{35}, S_{40} dan S_{45}) berpengaruh terhadap kondisi optimum linamarase, sedangkan perlakuan pH ($P_{6.5}, P_{7.0}, P_{7.5}$) dan interaksi S_aP_b tidak berpengaruh terhadap kondisi optimum linamarase. Hasil uji duncan terhadap optimasi linamarase gadung berdasarkan pengaruh perlakuan suhu menunjukkan bahwa perlakuan suhu (S_{35}) berpengaruh secara signifikan (Tabel 4.2). Aktivitas linamarase umbi singkong tertinggi terjadi pada suhu 45^oC dan pH 7.5, sedangkan umbi gadung terjadi pada suhu 35^oC dan pH 7.5, sehingga kondisi ini dianggap yang paling optimal untuk linamarase umbi singkong dan umbi gadung. Hal ini dikarenakan suhu 45^oC pH 7.5 pada umbi singkong dan suhu 35^oC pH 7.5 pada umbi gadung, linamarase bekerja secara maksimal dalam proses hidrolisis.

Tabel 3.2 Pengaruh Signifikan Aktivitas Enzim terhadap Interaksi Perlakuan pada Optimasi Linamarase Umbi Singkong dengan Uji Lanjut Anova

Suhu (^o C)	pH	Rerata Aktivitas Linamarase pada Umbi Singkong
35	6,5	0,069
	7,0	0,085
	7,5	0,077
40	6,5	0,105
	7,0	0,085
	7,5	0,105
45	6,5	0,059
	7,0	0,118 ^b
	7,5	0,119 ^a

Tabel 3.3 Pengaruh Signifikan Aktivitas Enzim terhadap Perlakuan Suhu pada Optimasi Linamarase Umbi Gadung dengan Uji Lanjut Anova

Suhu	pH			Total	Rerata Aktivitas Linamarase pada Umbi Gadung
	6,5	7	7,5		
35	0,203	0,194	0,254	0,651	0,072 ^a
40	0,107	0,011	0,042	0,159	0,017
45	0,002	0,009	0,024	0,035	0,004
Total	0,311	0,215	0,320	0,846	
Rerata	0,035	0,024	0,036		

Keterangan : Huruf “superscript” berbeda pada angka menunjukkan pengaruh signifikan

Perubahan suhu sangat mempengaruhi kecepatan reaksi enzim, akibatnya semakin meningkat suhu maka akan meningkatkan energi kinetik molekul-molekul enzim yang bereaksi sehingga peluang terjadinya

tumbukan semakin meningkat. Pengaruh suhu terhadap enzim dapat merubah konformasi enzim yang mempengaruhi ikatan ion dan hidrogen (Askurrahman, 2010). Perubahan pH sangat mempengaruhi aktivitas linamarase, karena pH dapat merubah susunan intramolekular linamarase. Derajat keasaman optimum berperan dalam membentuk struktur ruang yang stabil (Askurrahman, 2010).

Berdasarkan uji lanjut duncan, peningkatan aktivitas linamarase umbi gadung cenderung dipengaruhi oleh suhu. Suhu yang mempengaruhi adalah suhu 35⁰C, berbeda halnya dengan pH yang tidak ada pengaruh terhadap peningkatan linamarase umbi gadung. Hal ini disebabkan perubahan pH tidak merubah struktur ruang dimensi dari linamarase gadung, sehingga struktur enzim tetap stabil.

4. SIMPULAN

Kandungan linamarin bagian umbi dan daun pada tanaman singkong dan gadung memiliki kadar yang berbeda-beda. Pada umbi dan daun singkong positif mengandung linamarin, berbeda halnya pada tanaman gadung bagian umbi mengandung linamarin, sedangkan pada bagian daun tidak mengandung linamarin karena hasil yang negatif. Kandungan linamarin pada umbi dan daun diukur berdasarkan kadar sianida bebasnya. Suhu dan pH optimal linamarase umbi singkong adalah 45⁰C dan 7.5, sedangkan suhu dan pH optimal linamarase gadung adalah 35⁰C dan 7.5.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena atas rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul 'Optimasi Linamarase pada Umbi Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dan Umbi Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst)'. Penulis mengucapkan terima kasih kepada: Dr. Munifatul Izzati, M.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi FSM Universitas Diponegoro, Dr. Drs. Wijanarka, M.Si dan Dr. Endang Kusdiyantini, DEA yang telah memberikan bimbingan, kritik, saran, doa dan nasehat selama penelitian dan penyusunan laporan dan kedua orang tua yang telah memberikan kasih sayang, dukungan secara materil dan spiritual, dan doa

DAFTAR PUSTAKA

- Askurrahman. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Linamarase Hasil Isolasi dari Umbi Singkong (*Manihot esculenta* Crantz). *Agrointek* Vol 4. No. 2
- Bradbury, M.G, Bradbury, S.V. Egan and J.H. Bradbury. 1999. Picrate Paper Kits for Determination of Total Cyanogens in Cassava Roots and all Forms of Cyanogens in Cassava Products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, pp. 593–601.
- Cardoso, A. Paula, Estevao Mirione, Maro Ernesto, Fernando Massaza, Jullie Cliff, M.Rezaul Haque, J. Howard Bradbury. 2005. Processing cassava roots to remove cyanogens. *Journal of Food Composition and Analysis*. 451-460.
- Haque, M. Rezaul, J. Howard Bradbury. 1999. Preparation of Linamarase solution from cassava latex for use in the cassava cyanide kit. *Food Chemistry*. 67, 305-309
- Haque, M. Rezaul, J. Howard Bradbury. 2002. Total Cyanide Determination of Plants and Foods Using The Picrate and Acid Hydrolysis Methods. *Food Chemistry*. 77,107-114
- Haque, M. Rezaul, J. Howard Bradbury. 2004. Preparation of Linamarin from Cassava Leaves for Use in Cassava Cyanide kit. *Food Chemistry*, pp. 27-29.
- Harijono, Tassa Agustriana sari, Erryana Martati. 2008. Detoksifikasi Umbi Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst) dengan Pemanasan terbatas dalam Pengolahan Tepung Gadung. *Jurnal Teknologi Pertanian*, pp.75-82
- Harijono, Siwi. N, Aji Sutrisno. 2011. Purifikasi dan Karakterisasi Linamarase Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst) untuk Detoksifikasi Bubur Umbi Gadung. *Jurnal Teknologi Pertanian*, pp. 76-79 .
- Hidayat. A, N. Zuraida, I. Hanarida. 2002. The Cyanogenic Potential of Roots and Leaves of Ninety Nine Cassava Cultivar. *Indonesian Journal of Agriculture Science*. pp. 25-32.
- Prastyo. Dian Heru, Wahyu Triaji. 2011. Penurunan Sianida Umbi gadung dengan Proses Leaching dan Pengukusan sebagai Bahan Dasar Tepung. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro Semarang