

PROSIDING

SEMINAR DAN RAPAT TAHUNAN

BKS PTN WILAYAH BARAT
BIDANG MIPA **2019**

Science and Technology for Nation Prosperity



Bengkulu, 6-7 Juli 2019



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BENGKULU



BKS PTN WILAYAH BARAT



PROSIDING

SEMINAR DAN RAPAT TAHUNAN

BKS PTN WILAYAH BARAT
BIDANG MIPA
2019

PROSIDING

SEMINAR DAN RAPAT TAHUNAN BKS PTN WILAYAH BARAT BIDANG MIPA

“Science and Technology for Nation Prosperity”

Panitia Pelaksana

1	Ketua Pelaksana	Prof. Dr. Irfan Gustian, M.Si,
2	Wakil Ketua Pelaksana	1. Dr. Fanani Haryo Widodo, M.Sc. 2. Dr. M. Farid, MS.
3	Sekretaris	1. Ramya Rachmawati, S.Si., M.Si., Ph.D 2. Dr. Riska Ekawita, S.Si., M.Si. 3. Pepi Novianti, S.Si., M.Si.
4	Bendahara	1. T.A. Alamsyah Siregar, SE. 2. Desi Aprianti, A.Md
5	Bidang Publikasi	1. Suhendra, S.Si., M.T. 2. Dr. Liza Lidiawati, S.Si., M.Si. 3. Santi Nurul Kamilah, S.Si., M.Si 4. Dyah Setyo Rini, S.Si., M.Sc. 5. Nur Afandi, S.Si., M.Sc.
6	Bidang Seminar Internasional	1. Dr. Fanani Haryo Widodo, M.Sc. 2. Dr. Riszky Hadi Wibowo, M.Si. 3. Siska Yosmar, S.Si., M.Si. 4. Dr. Elfi Yuliza, S.Si., M.Si 5. Ulfasari Rafflesia, S.Si., M.Sc.
7	Bidang Seminar Nasional	1. Dr. M. Farid, MS. 2. Drs. Hery Haryanto, M.Sc. 3. Etis Sunandi, S.Si., M.Si 4. Idhia Sriliana, S.Si., M.Si. 5. Nori Wirahmi, S.Si., M.Farm, Apt. 6. Dian Agustina, S.Si., M.Sc
8	Bidang Rapat Dekan	1. M. Bashori, ST 2. Azwar, S.Ag., M.Si.
9	Bidang Rapat Jurusan	1. Ashar Muda Lubis, S.Si., M.Sc., Ph.D. 2. Dr. Mulia Astuti, S.Si., M.Si. 3. Dr. Eng Asdim, S.Si., M.Si. 4. Drs. Choirul Muslim, SU., Ph.D
10	Bidang Komunikasi dan Informasi	1. Faisal Hadi, MT. 2. Fachri Faisal, S.Si., M.Si.
11	Kesekretariatan	1. Zulfia Memi Mayasari, S.Si., M.Si. 2. Herlin Fransiska, S.Si., M.Si.
12	Bidang acara	1. Dr. Arif Ismul Hadi, S.Si, M.Si. 2. Ghufira, S.Si., M.Si.

SCIENTIFIC BOARD

Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc (Universitas Gadjah Mada, Indonesia)
Samphong Jitman, Ph.D (Silpakom University, Thailand)
Saharman Gea, Ph.D (Universitas Sumatera Utara, Indonesia)
Prof. Sigit Nugroho, Ph.D (Universitas Bengkulu, Indonesia)
Prof. Dr. Syukri Arief, M.Eng (Universitas Andalas, Indonesia)
Assoc. Prof. Afroz Ahmad Shah (Brunei Darussalam University, Brunei Darussalam)
Prof. G. Sudarsanam (Sri Venkateswara University, India)
Prof. Teruna J. Siahaan, Ph.D (The University of Kansas, United State)

Reviewer

Prof. Dr. Irfan Gustian, S.Si., M.Si.
Dr. Mochamad Lutfi Firdaus, S.Si., M.T.
Dr. Liza Lidiawati, S.Si., M.Si.
Abdul Rahman, S.Si., M.Si., Ph.D.
Dr. Sipriyadi, S.Si., M.Si.
Dr. Muhammad Isa, S.Si., M.Si.
Dr. Mulia Astuti, S.Si., M.Si.
Ramya Rachmawati, S.Si., M.Si., Ph.D.
Dr. Sutarno, S.Si., M.Pd.
Dr. Dra. Rosane Medriati, M.Pd.

Editor

Matematika : Dyah Setyo Rini, S.Si., M.Sc.
Kimia : Deni Agustriawan, S.Si., M.Sc.
Fisika : Nanang Sugianto, S.Si., M.Sc.
Biologi : Santi Nurul Kamilah, S.Si., M.Si.
Pendidikan : Ahmad Syarkowi, M.Pd.

Managing Editor

Prof. Dr. Irfan Gustian, S.Si., M.Si.
Suhendra, S.Si., M.T.

ISBN 978-602-5830-09-9

Penerbit

UNIB Press

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat dan hidayah-Nya Prosiding Seminar dan Rapat Tahunan BKS PTN Wilayah Barat Bidang MIPA Tahun 2019 yang bertemakan “Science and Technology for Nation Prosperity” dapat kami selesaikan. Prosiding ini merupakan kumpulan makalah seminar yang diadakan oleh Fakultas MIPA Universitas Bengkulu pada tanggal 6 - 7 Juli 2019 di Hotel Grage Bengkulu.

Penyusunan prosiding ini, disamping untuk mendokumentasikan hasil seminar, dimaksudkan agar masyarakat luas dapat mengetahui berbagai informasi terkait dengan berbagai masalah yang terungkap dalam beragam makalah yang telah dipresentasikan dalam seminar.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kami sampaikan kepada para penyaji dan penulis makalah, serta panitia pelaksana yang telah berkerja keras sehingga prosiding ini dapat diterbitkan. Kami sampaikan terima kasih juga kepada Tim *Reviewer* yang telah meninjau ulang semua makalah sehingga kualitas isi makalah dapat terjaga dan dipertanggungjawabkan. Tak lupa kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan bagi terselenggaranya seminar nasional dan tersusunnya prosiding ini kami ucapkan terima kasih.

Akhir kata, semoga prosiding ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak.

Bengkulu, Juli 2019

Tim Publikasi

SAMBUTAN KETUA PANITIA SEMIRATA 2019 FMIPA UNIB

Assalamu'alaikum wr.wb. Kita patut memanjatkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan karuniaNya SEMIRATA 2019 yang diselenggarakan oleh Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya di Grage Hotel dapat berjalan dengan baik.

SEMIRATA (Pertemuan dan Seminar Tahunan) di bidang matematika dan ilmu alam adalah agenda tahunan yang diadakan oleh badan kerja sama Universitas negeri Indonesia Barat. SEMIRATA 2019 ini akan diselenggarakan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) dan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP), Universitas Bengkulu, dari tanggal 6 hingga 7 Juli 2019, dengan tema "Sains dan Teknologi untuk Bangsa Kemakmuran". Kegiatan ini menjadi acara yang bermakna bagi para dosen/peneliti untuk berkomunikasi dan berbagi temuan dari penelitian mereka dalam rangka mengembangkan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya di bidang matematika dan ilmu alam. Pada gilirannya, ilmu pengetahuan dan pendidikan sains akan terus tumbuh dan memberikan kontribusi nyata bagi pembangunan dan kesejahteraan bangsa. Dari kegiatan SEMIRATA 2019 ini dihasilkan suatu output berupa program kolaborasi yang di antara universitas negeri di Indonesia Barat. Agar komunikasi ilmiah ini dapat juga tersampaikan ke komunitas ilmiah lain yang tidak dapat hadir pada kegiatan seminar, panitia memfasilitasi untuk menerbitkan makalah dalam bentuk Prosiding.

Dalam proses penerbitan prosiding ini, panitia telah banyak dibantu oleh Tim Reviewer dan Tim Editor yang dengan sangat intensif mencurahkan waktu, tenaga dan pikiran. Untuk itu, panitia menyampaikan terima kasih dan penghargaan. Panitia juga menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada seluruh penulis makalah yang telah mengikuti guide pada SEMIRATA 2019 yang berhubungan artikelnya

Semoga penerbitan prosiding ini selain bermanfaat bagi para pemakalah dan penulis, juga dapat bermanfaat dalam pengembangan Sains dan Teknologi untuk Kemakmuran Bangsa.

Bengkulu, Oktober 2019
Panitia Semirata-2019 Bidang MIPA
BKS-PTN Barat

Prof. Dr. Irfan Gustian, S.Si, M.Si

DAFTAR ISI

Kata Pengantar	iv
Sambutan Ketua Panitia Semirata 2019 FMIPA UNIB	v
Daftar Isi	vi

BIDANG MATEMATIKA

Model Spatial Autoregressive Poisson pada Jumlah Penderita Malaria di Propinsi Bengkulu <i>Dian Agustina, Etis Sunandi, Dyah Setyo Rini</i>	1-13
Aplikasi Model Arima dalam Peramalan Curah Hujan Bulanan di Kota Bengkulu <i>Dyah Setyo Rini, Idhia Sriliana, Pepi Novianti, Anang Anwar</i>	14-23
Penyelesaian Sensitivitas pada Pemrograman Linear Pecahan <i>Endang Lily, Lely Deswita</i>	24-28
Model Semivariogram Teoritis pada Data Kekuatan Gempabumi di Provinsi Bengkulu Tahun 2000-2016 <i>Fachri Faisal.....</i>	29-36
Model Pemograman Linier untuk Lahan Parkir Berbentuk Belah Ketupat <i>Febby Ariad, Ihda Hasbiyati, M.D.H Gamal.....</i>	37-44
Analisis Perilaku Konsumen Berbelanja Online dengan Metode <i>Regresi Logistik Biner</i> <i>Gusmi Kholijah</i>	45-55
Pendugaan Rata-Rata Populasi dengan Menggunakan Variabel Tambahan pada Sampling Acak Berstrata <i>Haposan Sirait, Noor Ell Goldameir, Rustam Efendi, Leli Deswita, Revi Pertwi.....</i>	56-63
Pemodelan Regresi Spline <i>Truncated</i> pada Angka Kematian Bayi di Indonesia <i>Idhia Sriliana, Dyah Setyo Rini, Silvia Yuliana</i>	64-73
Deskripsi Hubungan Luas Areal dan Produksi Perkebunan Kopi di Provinsi Sumatra Selatan <i>Irmeilyana, Ngudiantoro, Anita Desiani, Desty Rodiah.....</i>	74-86
Penerapan Metode Dekomposisi dan Metode <i>Economic Order Quantity</i> untuk Perencanaan dan Pengendalian Persediaan Parfum <i>Irmeilyana, Kurniawati, Bambang Suprihatin.....</i>	87-98



Fungsi Kontinu Holder pada Kalkulus Fraksional Selaras <i>Supriyadi Wibowo, V Y Kurniawan, Siswanto</i>	235-240
Sifat-Sifat Graf Annihilator Ideal dari Ring Komutatif <i>Ami Rahmawati, Vika Yugi Kurniawan, Supriyadi Wibowo.....</i>	241-250
Perbandingan Solusi Persamaan Van Der Pol Menggunakan Metode Multiple Scale dan Metode Kryloff dan Bogoliuboff <i>Yuni Yulida, Muhammad Ahsat K</i>	251-261
Pengaruh Usia dan Tingkat Pendidikan Ibu Hamil terhadap Kepatuhan Melaksanakan Ante Natal Care melalui Model Cox Proportional Hazard <i>Zubara Hadis, Nur Husna Adila, Miftahuddin</i>	262-267
Penyelidikan Eksistensi Basis dalam Modul P_n atas Ring \mathbb{R} <i>Zulfia Memi Mayasari, Mulia Astuti, Novi Yarni</i>	268-276
Optimalisasi Penjadwalan Waktu Penyelesaian Proyek Kontruksi dengan CPM (Critical Path Method) (Studi Kasus: Pembangunan Gedung Olahraga Universitas Bengkulu) <i>Ririn Hasentri, Fanani Haryo Widodo, Siska Yosmar</i>	277-288
Aplikasi Model Seasonal Arima Untuk Prediksi Jumlah Wisatawan Mancanegara Provinsi Kepulauan Riau <i>Ari Pani Desvina, Khairunnissa, Mas'ud Zein, Rado Yendra.....</i>	289-300

BIDANG KIMIA

Analysis Water Quality and Heavy Metal Pb IN KAPIAT FISH (Barbonymus gonionotus) from Kelinggi River Lubuklinggau City <i>Eka Lokaria, Sepriyaningsih.....</i>	301-305
Karakteristik Fisikokimia Sabun Padat Transparan Berbahan Dasar Minyak Sawit Dari Bak Fat- Pit Dengan Penambahan Minyak Jeruk Kalamansi <i>Devi Silsia, Syafnil dan Irma Manik</i>	306-318
Respon Fisiologis Jintan Hitam (Nigella sativa L.) di Tanah Masam Bengkulu <i>Herlina, Evi Andrian.....</i>	319-329
Optimalisasi Produksi Iggy Anti Diare Dalam Kuning Telur Dengan Suplementasi Piridoksin <i>Pasar Maulim Silitonga, Melva Silitonga, dan Meida Nugrahalia</i>	330-336
Kinetika Adsorpsi Kristal Violet dan Metilen Biru Pada Hibrida Alga Spirulina sp.-Silika <i>Buhani, Ismi Aditya, dan Suharso.....</i>	337-347



Sintesis dan Karakterisasi Nanosilika dari Tetraethylorthosilicate (TEOS) Dengan Penambahan Polietilen Glikol (PEG) Menggunakan Metode Sol-Gel <i>Dwi Rasy Mujiyanti, Ria Shafitri ARH, dan Ahmad Budi Junaidi</i>	348-355
Identifikasi Senyawa Volatil Minyak Atsiri dari Cairan Hasil Samping Industri Sirup Kalamansi <i>Tuti Tutuarima</i>	356-362
Studi Ekstrak Andaliman Sebagai Antioksidan Alami untuk Meningkatkan Kualitas Minyak Kelapa Sawit <i>Indra Lasmana Tarigan, Ricardo Lumbantoruan, dan Marudut Sinaga</i>	363-372
Isolasi, Pemurnian, Dan Karakterisasi Enzim A-Amilase dari <i>Bacillus subtilis</i> ITBCCB148 <i>Yandri, Fathaniah Sejati, Tati Suhartati, Heri Satria dan Sutopo Hadi</i>	373-382
Isolasi Senyawa Bioaktif Dari Kulit Cabang Tumbuhan Pudau (<i>Artocarpus kemando Miq.</i>) <i>Tati Suhartati, Vicka Andini, dan Yandri AS</i>	383-394
AC G3 Sebagai Green Inhibitor Pembentukan Kerak Kalsium Karbonat <i>Suharso, Buhani, Eka Setiososari, Agung Abadi Kiswandono, Heri Satria</i>	395-403
Perengkahan Katalitik Minyak Jelantah Menggunakan Katalis Co-Carbon yang Dihasilkan dengan Metode Ion Exchange <i>NM Yuhermita, N Nazarudin, O Alfernando, IG Prabasari dan M Haviz</i>	404-426
Konverter Katalitik Dari Limbah Pulp Dengan Katalis Zeolit Dari Abu Sekam Padi <i>Iis Siti Jahro</i>	427-438
Pemisahan Kalsium pada Proses Solvent Extraction Nikel Limonit Dengan Pelarut Asam Neodecanoic <i>Sudibyo, S. Oediyani, S. Sumardi, E. Prasetyo, A. Junaedi, A. S. Handoko, Y. I. Supriyatna, F. R. Mufakhir, F. Nurjaman, A. N. Suwirma</i>	439-456
Analisis Kandungan Proksimat Minyak Tengkawang Dari Buah <i>Shorea Sumatrana</i> <i>Yusnelti, Muhammin, dan Richo Giwana Resdy Maulana</i>	457-463
Ekstraksi Minyak Atsiri Kulit Limau Kuit Buah Limau Kuit: Jeruk Lokal Kalimantan Selatan <i>Azidi Irwan, Kholifatu Rosyidah</i>	465-474
Struktur Asosiasi dan Kelarutan Zat Warna dalam Sistem Air, Surfaktan Kationik dan Sikloheksana <i>Ananda Putra, Nurul Aisyah, Umar Kalmar Nizar, Deski Beri, Ali Amran</i>	475-487
Komposit Selulosa Bakterial-Ekstrak Lidah Buaya (Aloe vera Linn) <i>Ananda Putra, Fanny Zahratul Hayati, Sherly Kasuma Warda Ningsih,</i>	



Elsa Yuniarti, dan Ali Imran 488-498

BIDANG FISIKA

- Studi Analisis Kandungan Logam Pada Terumbu Karang Pesisir Pantai Sitiris-Tiris Kabupaten Tapanuli Tengah**
Wardatul Firdausi AF, Ricky Syandi, Riri Syavira, Rita Juliani 499-506
- Kalibrasi Sensor Mq-7 Dan Mq-136 Terhadap Sensor Ecom J2kn Pro Sebagai Alat Pengukur Gas Buang (Co Dan So2) Pada Proses Roasting Kopi**
Samsidar, Kania Nursawitri, Radi Purbakawaca, Suparman, Muhammad Ridho, Jajang Nurjaman, Aris Irfan, Muhammad Ikhsan 507-513
- Rancang Bangun Dan Simulasi Analitik Alat Ukur Denyut Jantung dan Suhu Tubuh Manusia Dengan Pendekatan Regresi Linier**
Lukman Hakim dan Briston Manurung 514-528
- Karakterisasi Bolus Radioterapi Berbasis Komposit Silikon Rubber dan Serbuk Alginat Menggunakan Energi 10 Mev**
Herty Afrina Sianturi, Juliaster Marbun, Ikhwanuddin, Lincewati Sidauruk 529-536
- Pemanfaatan Limbah Ampas Tebu Sebagai Sumber Zat Karbon Aktif Dan Potensinya Untuk Menurunkan Kadar Logam Berat**
Frastica Deswardani, Sarinah Pakpahan, Mega Handayani, Helga Dwi Fahyuan 537-542
- Penentuan Koefisien Momen Inersia Benda Tegar Berbasis Arduino**
Rustan dan Linda Handayani 484-490 543-549
- Efektivitas Praktikum Fisika Modern II Dalam Meningkatkan Keterampilan Bereksperimen Dan Pemahaman Konsep Mahasiswa**
Suwardi 550-560
- Peranan Filsafat Fisika Dan Kesadaran Ilahiyyah Manusia**
M. Sontang Sihotang, Abdul Manan Al Merbawi, Dara Aisyah H.M. Ali Puteh 561-576
- Studi Pengembangan Metode Fk Analisis Beamforming Untuk Monitoring Gempa Megathrust**
Rian Amukti 577-581
- Pemetaan Daerah Rawan Longsor di Jalan Lintas Kabupaten Bengkulu Tengah – Kabupaten Kepahyang Berdasarkan Faktor Amplifikasi (A_0) Data Mikrotremor**
Suhendra, Nanang Sugianto, Halauddin 582-589
- Studi Daerah Rawan Abrasi di Jalan Lintas Barat Bengkulu Utara Berdasarkan Metode Resistivity 2D dan 3D**



PROSIDING

SEMIRATA BKS PTN WILAYAH BARAT BIDANG MIPA

ISBN: 978-602-5830-09-9



ISOLASI, PEMURNIAN, DAN KARAKTERISASI ENZIM α -AMILASE DARI *Bacillus subtilis* ITBCCB148

Yandri *

Universitas Lampung

Fathaniah Sejati

Universitas Lampung

Tati Suhartati

Universitas Lampung

Heri Satria

Universitas Lampung

Sutopo Hadi

Universitas Lampung

ABSTRACT: This study aims to isolate, purify and characterize the α -amylase enzyme from *Bacillus subtilis* ITBCCB148. Isolation of the enzyme was conducted using cold centrifuge to separate the enzyme from the cell mixture. The purification of enzyme was done by using ammonium sulfate fractionation followed by dialysis. Furthermore, the purified enzyme was characterized for some parameters including optimum temperature, substrate concentration and thermal stability. The α -amylase enzyme activity was determined by the Mandels and Fuwa methods and protein content was determined by Lowry method. The results showed that the purified enzyme has specific activity at 7532 U mg⁻¹, it was increase of 5.9 times compared to the crude extract which has a specific activity of 1285 U mg⁻¹. The temperature optimum of the purified enzyme was 65 °C, the K_m and V_{max} values were 7.543 mg mL⁻¹ substrate, and 147.058 μmol mL⁻¹ minute⁻¹. Thermal stability of the purified enzyme for 100 minutes at 65°C remained the residual activity of 20%.

KEYWORDS: α -amilase, *Bacillus subtilis* ITBCCB148, characterization.

* Corresponding Author: Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Lampung, Bandar Lampung 35145 Indonesia; Email: yandri.as@fmipa.unila.ac.id

PENDAHULUAN

Enzim amilase merupakan enzim yang dapat mengkatalisis penguraian pati, glikogen, dan berbagai oligosakarida secara acak. Enzim ini dibagi dalam empat golongan (Horvathova *et al.*, 2000), yaitu: (1) Ekso amilase, adalah enzim yang memutuskan ikatan α -1,4 glikosida pada bagian luar molekul. Salah satu enzim yang termasuk dalam golongan ini adalah β -amilase (EC 3.2.1.2). (2) Glukoamilase (EC 3.2.1.3) adalah enzim yang mengkatalisis pemutusan ikatan α -1,4 dan ikatan α -1,6 glikosida dari bagian luar molekul. (3) *Debranching* enzim adalah enzim yang spesifik dalam memutuskan ikatan α -1,6 glikosida dalam pati (amilopektin). Enzim yang termasuk golongan ini adalah pululanase (EC 3.2.1.41) dan isoamilase (EC 3.2.1.68). (4) Endo amilase adalah enzim yang mengkatalisis penguraian pati dari bagian tengah atau bagian dalam molekul (Fogarty dan Kelly, 1979). Enzim yang termasuk golongan ini adalah α -amilase. Enzim ini dihasilkan oleh beberapa mikroorganisme secara ekstraseluler misalnya *Aspergillus oryzae*, *A. niger*, *A. awamori*, *Bacillus mesentericus*, *B. subtilis*, *B. stearothermophilus*, dan *B. licheniformis*. Enzim α -amilase yang dihasilkan *B. subtilis* mempunyai pH optimum 6,0; dan stabil pada pH antara 5,5-9,5. Suhu optimum enzim ini 60°C. Enzim α -amilase yang dihasilkan *B. stearothermophilus* mempunyai pH optimum 4,6-5,1; suhu optimum 55-70°C. Sedangkan enzim α -amilase yang dihasilkan *B. licheniformis*

373

mempunyai pH optimum 5,0-8,0; stabil pada pH antara 6,0-11,0; dan suhu optimumnya 76°C. Umumnya enzim α -amilase mempunyai bobot molekul sekitar 50 kDa. (Fogarty dan Kelly, 1979). Sedangkan menurut Janecek dan Balaz (1992), bobot molekul enzim α -amilase berkisar antara 45 – 60 kDa.. Ohdan *et al.* (1999), berhasil mengkarakterisasi dua jenis enzim α -amilase dari *B. subtilis* X-23. Hasil penelitiannya menunjukkan enzim α -amilase yang berhasil dimurnikan mempunyai bobot molekul 47 dan 67 kDa.. Sedangkan pH optimum kedua enzim sama, yaitu 5,5; dan kedua enzim tersebut stabil antara pH 5,5 – 10. Semua α -amilase adalah metaloenzim yang mengandung sedikitnya satu ion Ca^{2+} tiap molekul enzim. Ion kalsium ini penting untuk aktivitas dan stabilitas enzim. Ion kalsium dalam enzim Taka amilase A dari *A. oryzae* berada dekat celah antara dua domain strukturalnya, kemungkinan berperan dalam penstabilan bentuk celah (Vihinen dan Mantsala., 1989). Keadaan yang sama diidentifikasi dalam α -amilase pankreas babi yang menunjukkan ion kalsium menstabilkan celah dengan induksi jembatan ionik di antara domain (Buisson *et al.*, 1987). Afinitas ion kalsium pada α -amilase lebih kuat dari kation-kation lain. Masih belum jelas apakah ion kalsium dapat diganti oleh kation-kation lain (Vihinen dan Mantsala., 1989).

374

Banyak sumber utama α -amilase telah diakui sebagai kelompok mikroorganisme yang berbeda, terutama bakteri dan jamur yang mengarah ke penggunaan dalam industri. Ini telah dipelajari secara luas karena peningkatan relatif dalam aplikasi skala besar (Simair, *et al.*, 2017). Bakterial α -amilase memiliki sifat-sifat baru, telah menjadi cakupan utama penelitian terbaru (Trabelsi *et al.*, 2019). *Bacillus subtilis* adalah bakteri gram positif berbentuk batang, dapat membentuk endospora, untuk bertahan di lingkungan ekologi berbahaya dari radiasi, pelarut, suhu dan pH ekstrim (Yu *et al.*, 2014). Amilase enzim pendegradasi pati, adalah enzim penting yang digunakan dalam industri dan menyumbang proporsi tinggi dari pasar enzim (Singh *et al.*, 2016). Pada penelitian ini telah dilakukan karakterisasi pada enzim α -amilase hasil pemurnian dari *Bacillus subtilis* ITBCCB148 meliputi penentuan suhu optimum, konsentrasi substrat dan stabilitas termal.

METODE PELAKSANAAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah yang mempunyai derajat proanalisis. *Bacillus subtilis* ITBCCB148 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Bioproses Jurusan Teknik Kimia Institut Teknologi Bandung.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, mikropipet Eppendorff, autoklaf model S-90N, *laminar air flow* CRUMA model 9005-FL, sentrifuga WIFUG LABOR-50M, *shaker waterbath incubator* GFL1092, Magnetic Stirrer STUART CB 161, incubator PRECISTERM, penangas PRECISTERM, *waterbath incubator* HAAKE dan spektrofotometer UV-VIS Cary Win UV 32.

Prosedur Penelitian

Produksi enzim α -amilase; Enzim α -amilase diproduksi pada media fermentasi yang mengandung: pati 0,5%; ekstrak ragi 0,5%; KH_2PO_4 0,05%; dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01% dengan pH 6,5. Suhu fermentasi 32°C; dan lama waktu fermentasi 72 jam (Yandri *et al.*, 2010).

Isolasi enzim α -amilase; Enzim α -amilase dalam media fermentasi dipisahkan dari sel bakteri lokal *Bacillus subtilis* ITBCCB148 dengan sentrifuga dingin pada laju 6000 rpm selama 30 menit sehingga diperoleh ekstrak kasar enzim (Yandri *et al.*, 2010).

Pemurnian enzim selulase; Pemurnian dilakukan dengan cara fraksinasi menggunakan garam ammonium sulfat dengan berbagai derajat kejenuhan dan dilakukan dialisis (Yandri *et al.*, 2010; Bolag *et al.*, 1996).

375

Uji aktivitas dan penentuan kadar protein enzim; Uji aktivitas α -amilase menggunakan metode Fuwa (Fuwa, 1954) dan pereaksi asam dinitrosalisolat (Mandels *et al.*, 1976). Kadar protein enzim ditentukan dengan metode Lowry *et al.*, (1951).

Penentuan suhu optimum; Penentuan suhu optimum enzim α -amilase ditentukan dengan memvariasikan suhu, yaitu 55; 60; 65; 70; 75; 80; dan 85. Selanjutnya dilakukan pengukuran aktivitas enzim dengan metode Mandels.

Penentuan K_M dan V_{maks} ; Nilai Michaelis-Menten (K_M) dan laju reaksi maksimum (V_{maks}) enzim dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi substrat (larutan pati) yaitu 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0 %.

*Uji stabilitas termal enzim (Yang *et al.*, 1996);* Stabilitas termal enzim dilakukan dengan cara mengukur aktivitas sisa enzim setelah diinkubasi selama 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan 100 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Enzim

Ekstrak kasar enzim α -amilase dalam media fermentasi dipisahkan dari komponen sel lainnya melalui sentrifugasi dingin dengan kecepatan 6000 rpm selama 30 menit. Ekstrak kasar enzim α -amilase yang diperoleh memiliki aktivitas unit dan aktivitas spesifik berturut-turut yaitu 291 U/mL dan 1285 U/mg.

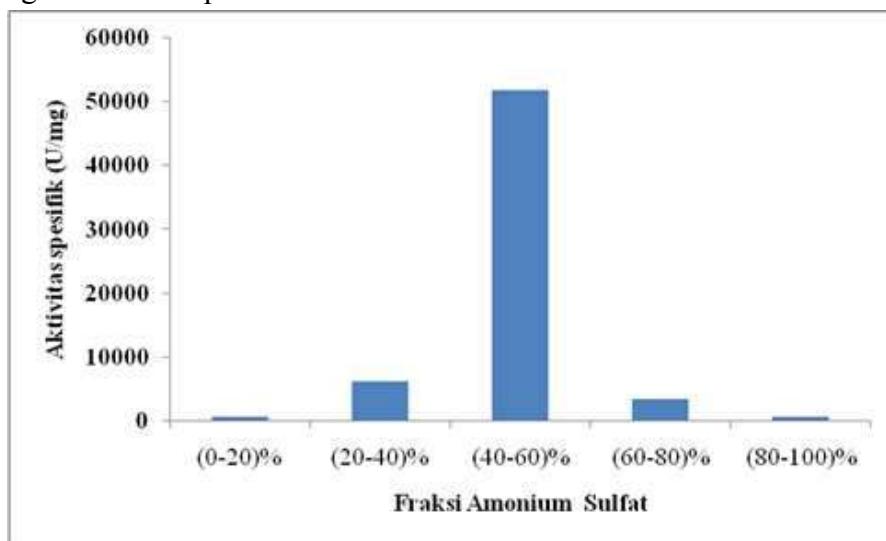
Pemurnian Enzim α -Amilase

Ekstrak kasar Enzim α -Amilase yang diperoleh kemudian dimurnikan. Pemurnian enzim yang dilakukan pada penelitian ini meliputi tahap fraksinasi dengan ammonium sulfat, dan dialisis.

Fraksinasi dengan ammonium sulfat

Pada tahap ini proses pemurnian dilakukan dengan cara menambahkan ammonium sulfat dalam lima tingkat fraksi, yaitu (0-20)%, (20-40)%, (40-60)%, (60-80)%, dan (80-100)%. Gambar 1. menunjukkan hubungan antara tingkat kejemuhan ammonium sulfat dengan aktivitas spesifik enzim α -amilase.

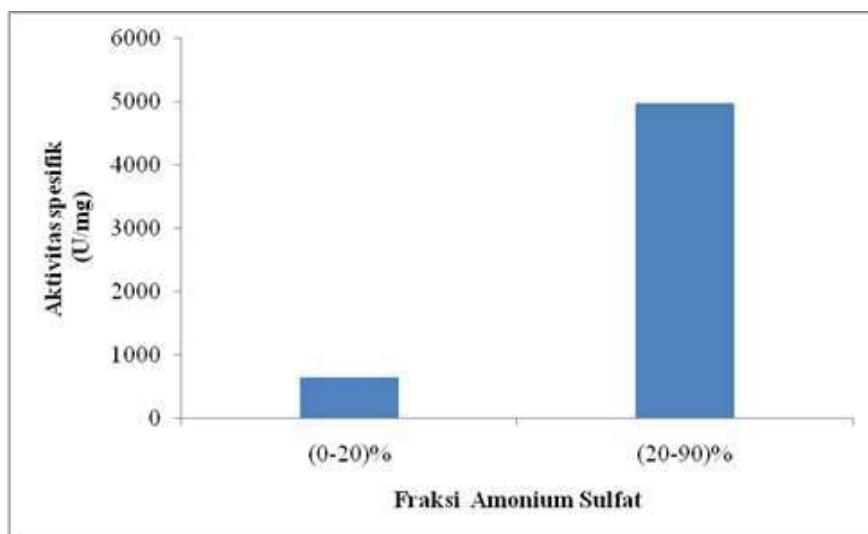
376



Gambar 1. Hubungan antara berbagai tingkat kejemuhan ammonium sulfat dengan aktivitas spesifik enzim α -amilase

Dari gambar di atas diketahui bahwa aktivitas spesifik enzim α -amilase tertinggi berada pada fraksi 40-60%, yaitu sebesar 51.920,736 U/mg. Namun, pada beberapa fraksi enzim seperti fraksi 20-40%, 60-80% dan 80-100% masih terdapat aktivitas spesifik yang cukup besar yaitu 6167,696 U/mg, 3350,864 U/mg, dan 633,315 U/mg.

Hal ini menunjukkan bahwa masih terdapat banyak enzim yang terendapkan pada fraksi-fraksi tersebut. Sehingga untuk proses fraksinasi menggunakan ammonium sulfat berikutnya hanya dibagi menjadi dua fraksi yaitu 0-20% dan 20-90%. Pembagian fraksi tersebut bertujuan untuk meningkatkan perolehan dan aktivitas enzim serta menghindari kehilangan protein enzim yang cukup besar selama proses fraksinasi. Fraksi 0-20% tidak digunakan untuk proses pemurnian selanjutnya karena jumlah enzim yang terendapkan sangat sedikit sehingga aktivitas spesifik enzim pada fraksi ini pun sangat kecil yaitu 648,2 U/mg . Sedangkan aktivitas spesifik pada fraksi 20-90% yaitu sebesar 4991 U/mg. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas spesifik enzim hasil fraksinasi mengalami peningkatan kemurnian dibandingkan eksrak kasar enzim yaitu sebesar 3,9 kali dengan perolehan enzim sebesar 68%. Adapun aktivitas spesifik pola fraksinasi (0-20)% dan (20-90)% dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 . Hubungan antara tingkat kejemuhan ammonium sulfat fraksi (0-20)% dan (20-90)% dengan aktivitas spesifik enzim α -amilase

Dialisis

Dialisis merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan larutan protein dari garam. Metode ini didasarkan pada sifat semipermeabel membran (kantong selofan) yang dapat menahan molekul-molekul besar, tapi dapat meloloskan molekul-molekul kecil seperti garam. Sehingga protein enzim akan terpisahkan dari garam-garam dan ion-ion lain, yang pada akhirnya akan diperoleh enzim dengan kemurnian yang lebih tinggi. Pada penelitian ini didapatkan bahwa enzim α -amilase hasil dialisis memiliki aktivitas spesifik sebesar 7532 U/mg. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas spesifik enzim hasil dialisis mengalami peningkatan

kemurnian dibandingkan ekstrak kasar enzim yaitu sebesar 5,9 kali dengan perolehan enzim sebesar 49%. Tabel 1. menunjukkan ringkasan pemurnian enzim α -amilase dari *B. subtilis* ITBCCB148.

Tabel 1. Pemurnian enzim α -amilase dari *B. subtilis* ITBCCB148

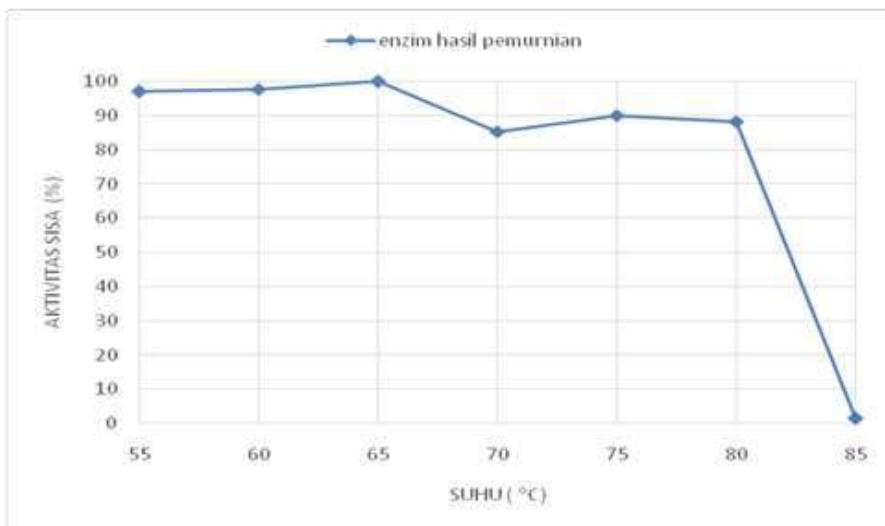
Tahap	Volume Enzim (mL)	Aktivitas Unit (U/mL)	Aktivitas Total (U)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)	Tingkat Kemurnian (kali)	perolehan (%)
Ekstrak							
Kasar	3000	291	873000	0,2265	1285	1	100
Hasil							
Fraksi (20-90%) ammonium sulfat	150	3943	591450	0,790	4991	3,9	68
Hasil Dialisis	300	1416	424800	0,188	7532	5,9	49

Data pada Tabel 1 di atas menunjukkan enzim α -amilase mengalami peningkatan aktivitas spesifik setiap tahap pemurnian. Hal ini didukung oleh penurunan kadar protein dan perolehan (%) enzim yang menunjukkan bahwa enzim telah terpisahkan dari protein lainnya. Hasil ini juga menunjukkan perolehan enzim hasil pemurnian (hasil dialisis) tidak terlalu besar yaitu 49%, hal ini mungkin disebabkan tidak semua enzim α -amilase terendapkan oleh garam ammonium sulfat atau kemungkinan lain enzim kehilangan aktivitas selama proses karena larutan enzim yang sangat encer.

Karakterisasi Enzim Hasil Pemurnian

Penentuan suhu optimum

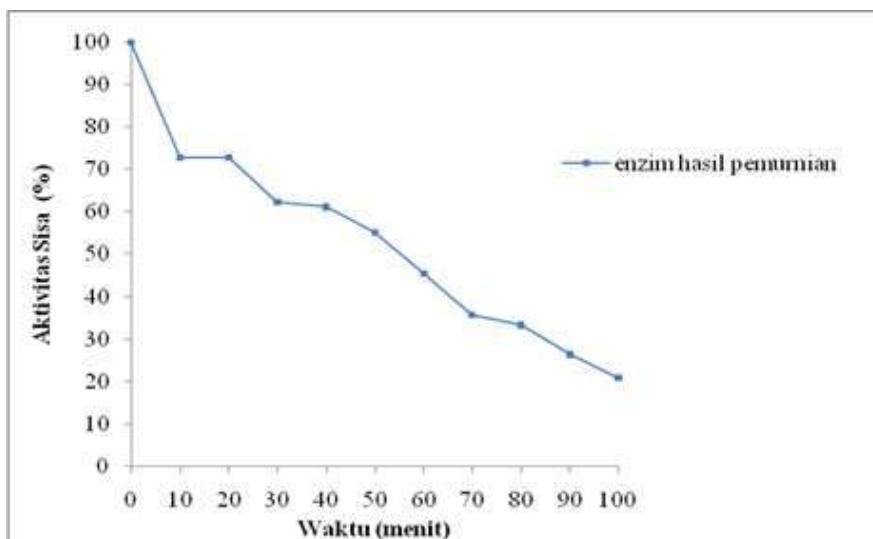
Penentuan suhu optimum enzim α -amilase ditentukan dengan menginkubasi enzim pada berbagai suhu inkubasi 55, 60, 65, 70, 75, 80, dan 85°C. Aktivitas enzim α -amilase dari *Bacillus subtilis* ITBCCB148 hasil pemurnian pada berbagai suhu dapat dilihat pada Gambar 3. Pada gambar tersebut dapat dilihat bahwa suhu optimum enzim hasil pemurnian adalah 65°C. Enzim ini termasuk golongan enzim yang bersifat temostabil yaitu enzim yang dapat bekerja pada rentang suhu antara 60 - 125 °C (Vieille dan Zeikus, 1996; Vieille dan Zeikus, 2001). Gambar 3 juga menunjukkan enzim hasil pemurnian cukup stabil antara suhu 55 – 80 °C dan memenuhi syarat untuk digunakan dalam industri.



Gambar 3. *Suhu optimum enzim hasil pemurnian*

Penentuan stabilitas termal enzim hasil pemurnian

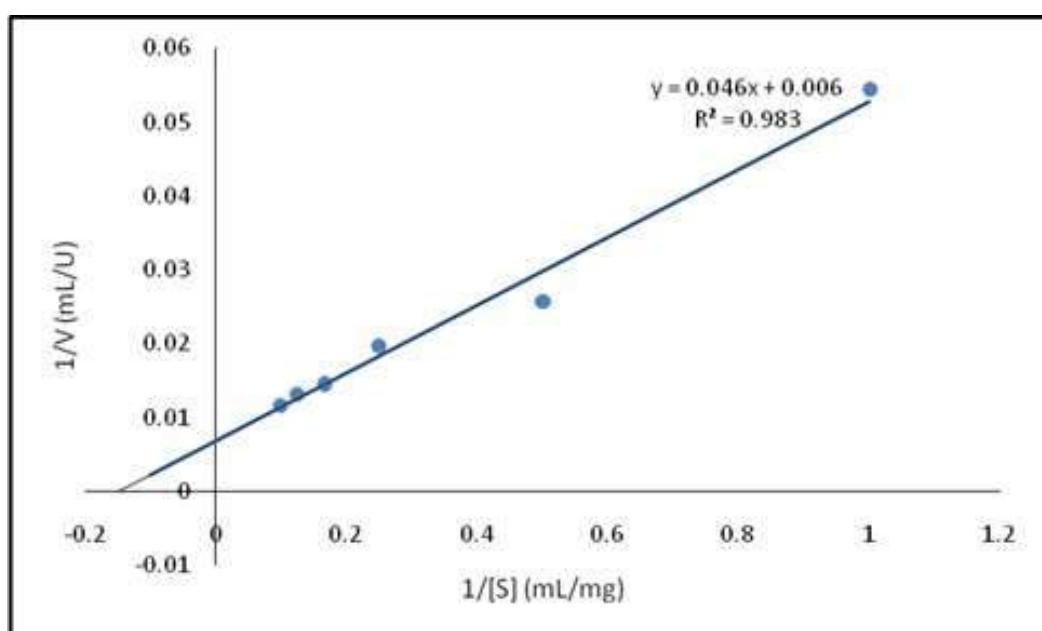
Penentuan stabilitas termal enzim ditentukan dengan menginkubasi enzim pada berbagai waktu inkubasi yaitu 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 menit. Gambar 4 menunjukkan enzim hasil pemurnian mempunyai aktivitas sisa (%) setelah diinkubasi selama 100 menit sebesar 20%. Perlu peningkatan stabilitas enzim agar dapat digunakan dalam industri.



Gambar 4 . *Hubungan antara stabilitas termal enzim hasil pemurnian pada suhu 65°C terhadap waktu.*

Penentuan K_M dan V_{maks} enzim hasil pemurnian

Penentuan harga K_M dan V_{maks} dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi substrat terhadap enzim. Konsentrasi substrat yang digunakan adalah 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1,0%. Grafik penentuan harga K_M dan V_{maks} enzim hasil pemurnian dapat dilihat pada Gambar 5. Dari persamaan *Lineweaver-Burk* diperoleh nilai V_{maks} enzim hasil pemurnian sebesar 147,058 $\mu\text{mol}/\text{mL}\cdot\text{menit}$ dan K_M sebesar 7,543 mg/mL.



Gambar 5. *Grafik Lineweaver-Burk untuk enzim hasil pemurnian*

SIMPULAN

Aktivitas spesifik enzim α -amilase hasil pemurnian meningkat sebesar 5,9 kali dibandingkan ekstrak kasar enzim yaitu sebesar 1285 U/mg menjadi 7532 U/mg. Enzim α -amilase hasil pemurnian memiliki suhu optimum 65°C. Uji stabilitas enzim hasil pemurnian pada suhu 65°C selama 100 menit masih memiliki aktivitas sebesar 20% . Enzim α -amilase hasil pemurnian memiliki $K_M = 7,543 \text{ mg mL}^{-1}$, $V_{maks} = 147,058 \mu\text{mol mL}^{-1} \text{ menit}^{-1}$.

REFERENSI

- Bollag, D. M., M. D. Rozycki, S. J. Edelstein (1996). *Protein Methods* 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., Publication, New York.
- Buisson, G., E. Duee, R. Haser, and F. Payan (1987), Three dimensional structure of porcina pancreatic α -amylase at 2.9 Å resolution. role of calcium in structure and activity, *EMBO J.*, **6**, 3909-3916.
- Fogarty, W.M. and C.T. Kelly (1979), *Enzyme and Fermentation Biotechnology*, Ellis Horwood Limited, West Sussex, England, 45-52.
- Fuwa, H. (1954), A new method for microdetermination of amylase activity by the use of amylose as the substrate, *J. Biochem. (Tokyo)*, **41**, 583-603.
- Horvathova, V. S. Janecek, and E. Sturdik (2000), Amylolytic enzymes: Their specificities, origins, and properties, *Biologia, Bratislava*, **55**:6, 605-615.
- Janecek, S. and S. Balaz (1992), α -Amylase and approaches leading to their enhanced stability, *Febs Lett.*, **304** (1), 1-3.
- Lowry, O.H., N.J., Rosebrough, A.L., Farr, R.J. Randall (1951), Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193-265.
- Mandels, M., A. Raymond , R. Charles (1976), Measurement of saccharifying cellulase, *Biotech. & Bioeng. Symp.*, No. 6, John Wiley & Sons Inc.
- Ohdan, K., T. Kuriki, H. Kaneko, J. Shimada, T. Takada, Z. Fujimoto, H. Mizuno, and S. Okada (1999), Characteristics of two forms of α -amylases and structural implication, *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**/10, 4652-4658.
- Simair, A. A., Qureshi, A. S., Khushk, I., Ali, C. H., Lashari, S., Bhutto, M. A., & Lu, C. (2017), Production and partial characterization of α -amylase enzyme from bacillus sp. bcc 01-50 and potential applications. *BioMed research international* pp 1-9.
- Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., & Mehta, P.K. (2016), Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. *Biotech* **6** 2 174
- Trabelsi S, Mabrouk S B, Kriaa M, Ameri R, Sahnoun M, Mezghani M, Bejar S (2019), The optimized production, purification, characterization, and application in the bread making industry of three acid-stable alpha-amylases isoforms from a new isolated *Bacillus subtilis* strain US586. *J Food Biochem.* e12826.

- Vieille, C. and J. G. Zeikus (1996), Thermozymes: Identifying molecular determinant of protein structural and functional stability, *Tibtech.*, **14** (6), 183-189.
- Vieille, C. and G. J. Zeikus (2001), Hyperthermophilic enzymes: Sources, uses, and molecular mechanisms for thermostability, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **65** (1), 1-43.
- Vihinen, M. and P. Mantsala (1989), Site-directed Mutagenesis of a Thermostable α -Amylase from *Bacillus stearothermophilus*: Putative Role of Three Conserved Residues, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **24**, 329-418.
- Yandri, A.S., T. Suhartati, and S. Hadi. 2010. Purification and characterization of extracellular α -amilase enzyme from locale bacteria isolate *Bacillus subtilis* ITBCCB148. *Eur. J. Sci. Res.* **39** (1): 64-74.
- Yang, Z., D. Michael, A. Robert, X.Y. Fang, and J.R. Alan (1996), Polyethylene glycol-induced stabilization of subtilisin, *Enzyme Microb. Technol.*, **18**, 82-89.
- Yu , AC, Loo JF, Yu S, Kong SK, Chan TF. (2014) Monitoring bacterial growth using tunable resistive pulse sensing with a pore-based technique. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98 (2): 855–62.