

**PRODUKSI DAN PEMURNIAN ENZIM AMILASE DARI BAKTERI**  
*Bacillus licheniformis* TS-10 MENGGUNAKAN FILTRASI GEL

**SKRIPSI**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh**  
**Gelar Sarjana Sains Bidang Studi Kimia**



**Oleh:**

**CITRA PRATIWI**

**08031282025030**

**JURUSAN KIMIA**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**2024**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**PRODUKSI DAN PEMURNIAN ENZIM AMILASE DARI BAKTERI  
*Bacillus licheniformis* TS-10 MENGGUNAKAN FILTRASI GEL**

**SKRIPSI**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains  
Bidang Studi Kimia**

**Oleh:  
CITRA PRATIWI  
08031282925030**

**Indralaya, 23 Desember 2024**

**Menyetujui,**

**Pembimbing I**



**Dr. Henti Yohandini K, M.Si  
NIP. 197011152000122004**

**Pembimbing II**



**Dr. Desnelli, M.Si  
NIP. 196912251997022001**

**Mengetahui,**

**Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**Prof. Hermansyah, S.Si, M.Si, Ph. D  
NIP. 197111191997021001**

## HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul "Produksi dan Pemurnian Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 Menggunakan Filtrasi Gel" telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada Tanggal 19 Desember 2024 dan telah diperbaiki, diperiksa serta disetujui sesuai masukan yang diberikan.

Indralaya, 23 Desember 2024

Ketua:

1. Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D  
NIP. 197111191997021001

(  )

Anggota:

1. Dr. Ferlinahayati, M.Si  
NIP. 197402052000032001
2. Dr. Heni Yohandini K, M.Si  
NIP. 197011152000122004
3. Dr. Desnell, M.Si  
NIP. 196912251997022001

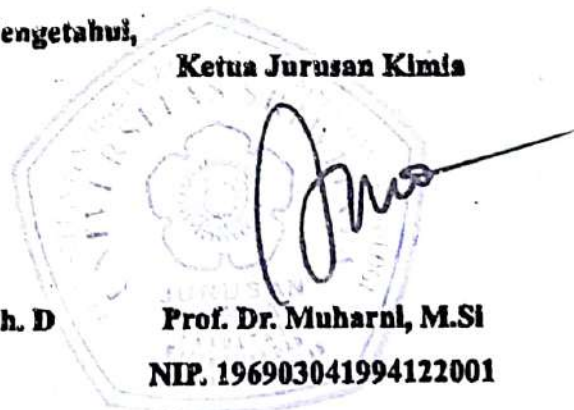
(  )

(  )

(  )



Mengetahui,



## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Citra Pratiwi

NIM : 08031282025030

Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikian Surat ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 23 Desember 2024

Penulis,



Citra Pratiwi

NIM. 08031282025030

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK  
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Citra Pratiwi  
NIM : 08031282025030  
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia  
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya "Produksi dan Pemurnian Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 Menggunakan Filtrasi Gel". Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih edit/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 23 Desember 2024

Yang Menyatakan,



Citra Pratiwi

NIM. 08031282025030

## HALAMAN PERSEMBAHAN

**“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”**

**-Q.S. Al-Baqarah : 286**

**“Maka ingatlah kepada-Ku, Aku pun akan ingat kepadamu. Bersyukurlah kepada-Ku, dan janganlah kamu ingkar kepada-Ku”**

**-Q.S. Al-Baqarah : 152**

**“Science without religion is blind, religion without science is lame”**

**- Albert Einstein -**

Skripsi ini merupakan wujud rasa syukur dan terima kasih kepada Allah SWT dan Suri Tauladan Baginda Rasul Muhammad SAW dan skripsi ini ku persembahkan untuk:

- » Kedua orang tuaku tersayang
- » Saudaraku yang terbaik
- » Tante dan keluarga tersayang
- » Dosen pembimbing tugas akhir dan pembimbing akademik
- » Semua orang yang berperan dalam kehidupan perkuliahan penulis
- » Almamater Universitas Sriwijaya
- » Diri sendiri

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala yang telah memberikan rahmat, nikmat dan karunia-Nya serta Sholawat kepada Rasulullah SAW yang menjadi *role model* terbaik untuk umat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Produksi dan Pemurnian Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 Menggunakan Filtrasi Gel” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains bidang kimia.

Penyusunan skripsi ini terdapat berbagai rintangan dan hambatan, namun banyaknya bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak serta rasa tanggung jawab sebagai mahasiswa, skripsi ini dapat diselesaikan. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Ibu **Dr. Heni Yohandini Kusumawati, M.Si** selaku Dosen pembimbing pertama dan Ibu **Dr. Desnelli, M.Si** selaku Dosen Pembimbing kedua sekaligus Dosen Pembimbing Akademik yang banyak membantu baik material, moril hingga proses penelitian dan penulisan hingga penulis mendapatkan gelar sarjana. Kebaikan Ibu dan Bapak akan selalu penulis kenang dalam hidupnya.

Penulis juga menyampaikan terimakasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan nikmat, kesempatan dan kekuatan dalam setiap waktu sehingga penulis dapat bertahan melewati segala rintangan dan penyelesaian studi perkuliahan.
2. Nabi Muhammad SAW sebagai suri tauladan yang kelak akan memberikan syafaat bagi seluruh umatnya.
3. Bapak Prof. Hermansyah S.Si., M.Si., Ph.D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya sekaligus Dosen penguji seminar hasil hingga sidang sarjana, terima kasih atas saran dan masukan yang bapak berikan terkait penelitian dan penulisan serta nasihatnya.
4. Ibu Prof. Dr. Muharni, M. Si. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
5. Bapak Dr. Addy Rachmat, M.Si Selaku Sekretaris Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

6. Ibu Prof. Dr. Elfita, M.Si selaku Dosen penguji seminar hasil dan Ibu Dr. Ferlinahayati, M.Si selaku dosen penguji sidang, terima kasih atas saran dan masukan yang Ibu berikan terkait penelitian dan penulisan serta nasihatnya.
7. Seluruh Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah membagikan ilmu dan membimbing selama masa perkuliahan. Terima kasih banyak semoga menjadi amal jariyah bagi Bapak dan Ibu sekalian.
8. Mbak Novi dan Kak Iin selaku staff administrasi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya yang banyak membantu penulis selama masa perkuliahan.
9. Analis Jurusan Kimia (Buk Nur, Buk Yuniar, Buk Yanti, dan Buk Dessy) atas bantuannya selama penulis berada di laboratorium jurusan kimia.
10. Keluarga KOSMIC FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah menjadi wadah dalam mengembangkan *soft skill*, kepribadian, dan mempertemukan penulis dengan orang-orang baik yang saling mengingatkan di jalan Allah SWT. Terima kasih juga kepada kakak-kakak yang sudah membimbing dan memberikan kepercayaan bagi penulis untuk menjadi salah satu BPH KOSMIC dan teman-teman BPH lainnya yang kebersamaian selama kepengurusan dan membantu berjalannya kegiatan-kegiatan di KOSMIC.
11. Kedua orang tuaku (Iskandar dan Rouwani) yang paling berharga dan berjasa dalam kehidupan penulis, yang selalu mendoakan, memberikan dukungan, menjadi penguat dan menjadi rumah yang nyaman bagi penulis. *Your are my only reason to be a successful person in this world ang the hereafter. And the also thanks to my best younger Brother* (Galang Hijazi).
12. Keluarga besar penulis (Nenek, Bibik, sepupu, wak, cak, oom dan lainnya yang tidak bisa disebutkan satu persatu) atas bantuan, semangat dan doa yang diberikan untuk penulis.
13. Teman seperjuangan PP Tanjung Batu Zaharo Putri dan Indah Permatasari, atas dukungan dan bantuannya terhadap penulis selama perkuliahan ini dari awal perkuliahan sampai akhir. Sukses terus *guys*.
14. Teman-Teman yang super random (jumat es teh) Resti Atika, Putri Oktarisa, Ira Nurul, Zaharo, Indah, dan Syirrin yang telah mewarnai kehidupan perkuliahan penulis dengan kerandoman dan keabsurdan kalian.



15. Partner penelitian Siti Fath Annisa, Naditarani, dan Zahra yang telah kebersamai perjuangan selama menjalankan tugas akhir di laboratorium yang sudah melewati tawa, tangis, dan kesalnya.
16. Teman-teman TA Biokimia maupun TA lainnya yang sudah kebersamai dan membantu penulis menyelesaikan TA ini Maria, Ayu, Nisa, Zaharo, Novta, Zahra, Ditak, Indah, Pithri, Ira, Melanie, Tiara, Nana, Errinda, Almer, Alief, Alhadyu, Kevin dan lainnya yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terima Kasih juga kepada semua teman-teman Kimia Angkatan 2020.
17. Teman-teman anak kelas genap Pithri diani, Novta, Resti, Putri Oktarisa yang telah menjadi teman saya selama perkuliahan di kelas genap. *Thank you guys*
18. Teman-teman dari SMA, Huzaimah, Ica, Febi, Dania, Yuk Ayu telah mensupport penulis selama perkuliahan.
19. Adik asuh Kimia 2021 Dera Okta Firanda yang menjadi adik yang baik dan semangat karna sebentar lagi mendapat gelar sarjana juga.
20. Orang-orang baik yang telah membantu penulis yang telah disebutkan maupun yang belum disebutkan. Terima kasih atas kebaikannya hingga penulis bisa mencapai titik ini. Semoga Allah SWT membalas kebaikan kalian dan sukses selalu dalam lingkungan Allah SWT.
21. *Thanks to my self* yang telah kuat dan bertahan menghadapi segala rintangan selama perkuliahan, dimana pernah terbesit keraguan atas diri sendiri akankah bisa sampai titik ini *but finally you can do it and you did it*.

Dalam menyusun skripsi ini penulis sangat menyadari bahwa dalam penulisan dan penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan jauh dari kata sempurna karena keterbatasan wawasan serta pengetahuan yang dimiliki penulis. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Indralaya, 23 Desember 2024

Penulis

## SUMMARY

### PRODUCTION AND PURIFICATION OF AMYLASE ENZYMES FROM BACTERI *Bacillus licheniformis* TS-10 USING GEL FILTRATION

Citra Pratiwi: Supervised by Dr. Heni Yohandini K, M.Si and Dr. Desnelli, M.Si

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University

xvi + 66 pages, 10 picture, 3 table, 8 attachment

Amylase enzyme is an extracellular enzyme that can hydrolyze the internal bond of  $\alpha$  1,4-glucan in starch and is also one of the enzymes widely used in the industrial field. In industries that use enzymes, thermostable amylases with low substrate costs are the main choice because they can work at 60-120°C and are usually produced by thermophilic bacteria. For certain purposes enzymes are often required in their pure state. Therefore, a pure thermostable amylase enzyme with low production cost is needed. This study aims to compare the amylase enzyme produced with soluble starch substrate and cassava peel starch from *Bacillus licheniformis* TS-10 bacteria and see the improvement of enzyme purity using gel filtration and protein profile analysis produced.

In this study, the production of amylase enzyme from *Bacillus licheniformis* TS-10 bacteria using soluble starch substrate and cassava peel starch was carried out, which was then tested for enzyme activity by DNS method and protein content by Bradford method. Furthermore, the enzyme produced was purified using Sephacryl S-200 HR resin filtration gel and analyzed for protein profiles using SDS-PAGE electrophoresis and Zymography.

The results showed that amylase enzyme produced using cassava peel starch substrate has specific enzyme activity that is not much different from soluble starch substrate amylase enzyme of 3.950 U/mg and has more protein bands than soluble starch substrate amylase enzyme. The amylase enzyme purified by gel filtration, which has the greatest enzyme specific activity, is found in fraction 6, which is 9.478 U/mg and has an increase in purity by 2.399 times from the crude extract of the enzyme. The protein content of fraction 6 obtained is small so that the protein band is not observed in the electrophoregram, but because the enzyme activity of the 6th fraction obtained is high in the zymogram, the clear zone is observed. The amylase enzyme purified by gel filtration which has the highest protein content is fraction 2 and 3 so that in the electrophoregram there is a protein band located around the size of BSA, namely 65 to 67 kDa.

**Keywords** : Amylase, Starch, Gel filtration, Protein profile, Enzyme activity

**Citation** : 68 (1996-2024)

## RINGKASAN

### PRODUKSI DAN PEMURNIAN ENZIM AMILASE DARI BAKTERI *Bacillus licheniformis* TS-10 MENGGUNAKAN GEL FILTRASI

Citra Pratiwi : Dibimbing oleh Dr. Heni Yohandini K, M.Si dan Dr. Desnelli, M.Si

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas  
Sriwijaya

xvi + 66 halaman, 10 gambar, 3 tabel, 8 lampiran

Enzim amilase merupakan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis ikatan internal  $\alpha$  1,4-glukan pada pati dan juga salah satu enzim yang digunakan secara luas pada bidang industri. Dalam industri yang menggunakan enzim, amilase termotabil dengan biaya substrat yang murah menjadi pilihan yang utama karena dapat bekerja pada suhu 60-120°C dan biasanya dihasilkan oleh bakteri termofilik. Untuk tujuan tertentu enzim sering kali dibutuhkan dalam keadaan murni. Oleh karena itu dibutuhkan enzim amilase termotabil yang murni dengan biaya produksi murah. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan enzim amilase yang diproduksi dengan substrat *soluble starch* dan pati kulit singkong dari bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 serta melihat peningkatan kemurnian enzim menggunakan kromatografi gel filtrasi dan analisis profil protein yang diproduksi.

Pada penelitian ini telah dilakukan produksi enzim amilase dari bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 menggunakan substrat *soluble starch* dan pati kulit singkong yang kemudian diuji aktivitas enzim dengan metode DNS dan kadar protein dengan metode Bradford. Selanjutnya enzim yang diproduksi dimurnikan menggunakan gel filtrasi resin Sephacryl S-200 HR serta dianalisis profil proteinnnya menggunakan elektroforesis SDS-PAGE dan Zimografi.

Hasil penelitian menunjukkan enzim amilase yang diproduksi menggunakan substrat pati kulit singkong memiliki aktivitas spesifik enzim yang tidak jauh berbeda dari enzim amilase substrat *soluble starch* yaitu sebesar 3,950 U/mg dan memiliki pita protein yang teramati lebih banyak dibandingkan enzim amilase substrat *soluble starch*. Enzim amilase hasil pemurnian dengan gel filtrasi, yang memiliki aktivitas spesifik enzim paling besar didapatkan pada fraksi 6 yaitu sebesar 9,478 U/mg dan memiliki peningkatan kemurnian sebesar 2,399 kali dari ekstrak kasar enzimnya. Kadar protein fraksi 6 yang didapatkan kecil sehingga pada elektroforegram pita proteinnnya tidak teramati akan tetapi karena aktivitas enzim fraksi ke 6 yang didapatkan tinggi pada zimogram teramati zona beningnya. Enzim amilase hasil pemurnian dengan gel filtrasi yang memiliki kadar protein paling besar yaitu fraksi 2 dan 3 sehingga pada elektroforegram terdapat pita protein yang terletak sekitar ukuran BSA yaitu 65 sampai 67 kDa.

**Kata kunci** : Amilase, Pati, Gel filtrasi, Profil protein, Aktivitas Enzim

**Sitasi** : 68 (1996-2024)

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>ix</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1. Pati .....	4
2.2. Enzim .....	5
2.3. Enzim Amilase .....	6
2.4. Bakteri Termofilik Penghasil Amilase .....	8
2.5. Uji aktivitas Amilase.....	9
2.6. Analisis Kadar Protein Metode Bradford .....	11
2.7. Pemekatan dan Dialisis .....	12
2.8. Kromatografi Gel Filtrasi.....	14
2.9. Elektrophoresis SDS-PAGE .....	16
2.10. Zimografi .....	17
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	<b>19</b>

3.1 Waktu dan Tempat .....	19
3.2 Alat dan Bahan.....	19
3.2.1 Alat.....	19
3.2.2 Bahan.....	19
3.3 Prosedur Penelitian .....	20
3.3.1 Sterilisasi Alat.....	20
3.3.2 Preparasi Pati Kulit Singkong .....	20
3.3.3 Pembuatan Media .....	20
3.3.3.1 Media Nutrient Agar.....	20
3.3.3.2 Media Nutrient Broth .....	21
3.3.3.3 Media Starter .....	21
3.3.3.4 Media Produksi Pati dan Pati Kulit Singkong.....	21
3.3.4 Inokulasi bakteri.....	21
3.3.5 Produksi Enzim Amilase .....	22
3.3.6 Penentuan Aktivitas Enzim Amilase .....	22
3.3.6.1 Penentuan Kurva Standar Larutan Glukosa .....	22
3.3.6.2 Uji Aktivitas Enzim Amilase Menggunakan Metode DNS.....	22
3.3.7 Penentuan Kadar Protein.....	23
3.3.7.1 Penentuan Kurva Standar Larutan Standar BSA..	23
3.3.7.2 Penentuan Kadar Protein Menggunakan Metode Bradford.....	23
3.3.8 Pemurnian Enzim .....	23
3.3.8.1 Pemekatan Enzim menggunakan Ammonium Sulfat .....	23
3.3.8.2 Dialisis.....	24
3.3.8.3 Kromatografi Gel Filtrasi .....	24
3.3.9 Analisis Enzim Amilase .....	25
3.3.9.1 Elektroforesis SDS-PAGE.....	25
3.3.9.1.1 Persiapan Alat.....	25
3.3.9.1.2 Persiapan <i>Separating</i> Gel .....	25
3.3.9.1.3 Persiapan <i>Stacking</i> Gel.....	25

3.3.9.1.4	Persiapan Sampel.....	25
3.3.9.1.5	Elektroforesis.....	26
3.3.9.1.6	<i>Staining dan Destaining</i> .....	26
3.3.9.2	Zimografi.....	27
3.3.9.2.1	Persiapan Alat.....	27
3.3.9.2.2	Persiapan <i>Separating Gel</i> .....	27
3.3.9.2.3	Persiapan <i>Stacking Gel</i> .....	27
3.3.9.2.4	Persiapan Sampel.....	27
3.3.9.2.5	Elektroforesis.....	28
3.3.9.2.6	Renaturasi Enzim.....	28
3.3.9.2.7	<i>Staining dan Destaining</i> .....	28
3.4	Analisis Data.....	29
3.4.1	Perhitungan Kadar Glukosa dan Protein .....	29
3.4.2	Aktivitas Enzim Amilase.....	29
3.4.3	Aktivitas Enzim Spesifik.....	29
3.4.4	Pita Protein .....	30
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>31</b>
4.1	Perbandingan Ekstrak Kasar Enzim Amilase dan Profil Proteinnnya pada Media <i>Soluble Starch</i> dan Pati Kulit Singkong	31
4.2	Hasil Pemurnian Enzim Amilase .....	33
4.2.1	Pemekatan Enzim dan Dialisis .....	33
4.2.2	Hasil Kromatografi Gel Filtrasi.....	34
4.2.3	Profil Protein .....	36
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>39</b>
5. 1	Kesimpulan .....	39
5. 2	Saran .....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>40</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>46</b>

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
<b>Gambar 1.</b> (a) Struktur amilosa dan (b) Struktur amilopektin.....	4
<b>Gambar 2.</b> Mekanisme kerja enzim (Wibowo <i>et al.</i> , 2021).....	6
<b>Gambar 3.</b> Mekanisme pemutusan ikatan $\alpha$ -1,4-glikosidik oleh $\alpha$ -amilase (Howard, 2015).....	7
<b>Gambar 4.</b> Reaksi DNS dan glukosa (Rahayu & Kuswytasari, 2013). .....	10
<b>Gambar 5.</b> Struktur Comassie Brilliant Blue (Santhosh <i>et al.</i> , 2018).....	11
<b>Gambar 6.</b> Proses dialisis menggunakan membran selofan (Thompson <i>et al.</i> , 2018). .....	14
<b>Gambar 7.</b> Proses pemurnian enzim dengan kromatografi gel filtrasi (Von <i>et al.</i> , 2014). .....	15
<b>Gambar 8.</b> (a). Skema peralatan yang digunakan untuk SDS-PAGE. ....	17
<b>Gambar 9.</b> Elektroforegram SDS-PAGE ekstrak kasar enzim .....	32
<b>Gambar 10.</b> Elektroforegram SDS-PAGE(a) dan zymogram(b) enzim amilase yang telah dimurnikan. ....	36

## DAFTAR TABEL

	Halaman
<b>Tabel 1.</b> Kadar protein, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim pada media <i>soluble starch</i> dan pati kulit singkong.....	31
<b>Tabel 2.</b> Kadar protein, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim hasil pemekatan dengan amonium sulfat.....	33
<b>Tabel 3.</b> Data hasil pemurnian enzim enzim amilase .....	35



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>Lampiran 1.</b> Skema Penelitian.....	47
<b>Lampiran 2.</b> Pembuatan Larutan.....	51
<b>Lampiran 3.</b> Kurva Standar Glukosa.....	55
<b>Lampiran 4.</b> Data Pengukuran Absorbansi dan Aktivitas Enzim Amilase pada Media Soluble Starch dan Pati Kulit Singkong .....	56
<b>Lampiran 5.</b> Kurva Standar Bovine Serum Albumin (BSA) .....	58
<b>Lampiran 6.</b> Data Pengukuran Absorbansi dan Kadar Protein Enzim Amilase pada Media Soluble Starch dan Pati Kulit Singkong .....	59
<b>Lampiran 7.</b> Data Absorbansi dan Perhitungan Aktivitas Enzim dan Kadar Protein Enzim Setelah Pemekatan dengan Amonium Sulfat....	60
<b>Lampiran 8.</b> Pemurnian Enzim.....	62

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Enzim merupakan protein yang membantu proses metabolisme seluler dengan mengurangi tingkat energi aktivasi ( $E_a$ ) untuk memulai reaksi kimia antar biomolekul (Wibowo *et al.*, 2021). Enzim digunakan secara luas pada bidang industri karena semakin berkembangnya teknologi aplikasi enzim, teknologi fermentasi, dan rekayasa genetika (Purnawan *et al.*, 2015). Beberapa enzim yang biasa digunakan secara luas diantaranya enzim amilase, lipase, dan protease (Supriyatna *et al.*, 2015). Amilase merupakan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis ikatan internal  $\alpha$  1,4-glukan pada pati sehingga membentuk dekstrin dan polimer kecil lainnya yang biasanya terdiri dari unit glukosa (Sharma *et al.*, 2018). Dalam industri yang menggunakan enzim, amilase termotabil menjadi pilihan utama karena dapat beroperasi secara optimal pada suhu antara 60–125 °C dan dalam rentang pH yang luas (Yassin *et al.*, 2021; Yandri *et al.*, 2020). Penggunaan enzim termotabil meningkatkan efisiensi proses, mempercepat reaksi, dan mengurangi biaya produksi (Albejo & Hamza, 2017).

Enzim termotabil umumnya dihasilkan oleh bakteri termofilik, yang mampu bertahan pada suhu tinggi dan memiliki protein yang tahan terhadap denaturasi (Mahestri *et al.*, 2021). Kusumayanti (2022) telah melakukan skrining bakteri termofilik yang dapat menghasilkan enzim amilase. Bakteri termofilik yang diskriming merupakan bakteri termofilik Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat yang telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi oleh Yohandini *et al.*, 2015. Berdasarkan penelitian Kusumayanti (2022) dari 15 isolat bakteri termofilik terdapat 4 isolat yang dapat menghasilkan enzim amilase yaitu bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 dan TS-3, serta *Anoxybacillus rupiensis* TS-1 dan TS-4 berdasarkan pembentukan zona bening pada media yang mengandung pati. Diameter zona bening yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 dan TS-3, serta *Anoxybacillus rupiensis* TS-1 dan TS-4 berturut-turut yaitu 8,55 dan 8,05 serta 7,5 dan 6,95 mm.

Produksi amilase menggunakan media sintesis memerlukan biaya yang cukup besar, sehingga para peneliti berupaya menemukan alternatif untuk mengurangi

biaya produksi. Pada umumnya, *soluble starch* digunakan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan organisme. Walaupun sudah ada sumber alternatif lain seperti maltosa, laktosa, dan galaktosa yang dapat digunakan, namun substrat tersebut masih tergolong mahal untuk aplikasi dalam skala besar (Badmos *et al.*, 2021). Oleh karena itu, diperlukan sumber karbon alternatif yang lebih ekonomis untuk produksi amilase. Limbah pertanian yang terjangkau dan mudah diperoleh seperti kulit singkong berpotensi menjadi sumber kaya mikroorganisme penghasil amilase. Ekstrak kasar enzim amilase dapat dianalisis profil proteinnya lebih lanjut menggunakan elektroforesis SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). Elektroforesis SDS-PAGE merupakan teknik untuk memisahkan rantai polipeptida pada protein berdasarkan kemampuannya untuk bergerak dalam arus Listrik (Putranto *et al.*, 2006) .

Enzim yang telah diproduksi sering kali diperlukan dalam keadaan murni untuk tujuan tertentu. Proses pemurnian enzim sangat penting untuk memisahkan enzim yang diinginkan dari senyawa yang tidak dikehendaki (Rahmi *et al.*, 2020). Beberapa metode pemisahan yang biasa digunakan untuk pemurnian enzim diantaranya kromatografi penukar ion, kromatografi afinitas, dan kromatografi gel filtrasi (Coskun, 2016). Kromatografi gel filtrasi adalah suatu teknik pemisahan yang digunakan untuk memisahkan protein dan makromolekul biologis lainnya berdasarkan ukuran molekulnya (Rahmi *et al.*, 2020). Abd-Elaziz *et al* (2020) melakukan pemurnian enzim amilase menggunakan kromatografi gel filtrasi resin *sephacryl S-200* dan mendapatkan peningkatan kemurnian sebesar 2,3 kali dari ekstrak enzim kasarnya. Enzim yang sudah dimurnikan dapat dianalisis profil proteinnya dan aktivitas enzimnya menggunakan elektroforesis SDS-PAGE dan zimografi.

Penelitian Kusumayanti (2022) telah berhasil melakukan produksi enzim amilase menggunakan substrat pati kulit singkong, akan tetapi belum dimurnikan dan dianalisis lebih lanjut. Oleh karena itu, pada penelitian ini telah dilakukan produksi enzim amilase dari bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 yang juga menggunakan substrat pati kulit singkong dan dilanjutkan pemurnian enzim amilase dengan kromatografi gel filtrasi *sephacryl S-200 HR* serta menganalisis profil protein menggunakan elektroforesis SDS-PAGE dan zimografi.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana perbandingan aktivitas spesifik enzim amilase dan profil proteinnya yang diekspresikan oleh bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 dengan substrat *soluble starch* dan pati limbah kulit singkong ?
2. Bagaimana tingkat kemurnian enzim amilase setelah pemurnian dengan kromatografi gel filtrasi ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Membandingkan aktivitas spesifik enzim amilase dan profil protein yang diekspresikan oleh bakteri *Bacillus licheniformis* TS-10 dengan substrat *soluble starch* dan pati limbah kulit singkong
2. Mendapatkan enzim amilase yang lebih murni menggunakan pemurnian kromatografi gel filtrasi

## 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pemurnian enzim amilase dengan kromatografi gel filtrasi dan profil protein dengan SDS-PAGE, serta pemanfaatan pati limbah kulit singkong sebagai substrat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abd-Elaziz, A. M., Karam, E. A., Ghanem, M. M., Moharam, M. E., & Kansoh, A. L. (2020). Production of a Novel  $\alpha$ -Amylase by *Bacillus atrophaeus* NRC1 Isolated from Honey: Purification and Characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148(1), 292–301.
- Abdel-Fattah, Y. R., Soliman, N. A., El-Toukhy, N. M., El-Gendi, H., & Ahmed, R. S. (2013). Production, Purification, and Characterization of Thermostable  $\alpha$ -amylase Produced by *Bacillus licheniformis* Isolate AI20. *Journal of Chemistry*, 2013.
- Abo-Kamer, A. M., Abd-El-salam, I. S., Mostafa, F. A., Mustafa, A. E. R. A., & Al-Madboly, L. A. (2023). A Promising Microbial  $\alpha$ -amylase Production, and Purification From *Bacillus cereus* and Its Assessment As Antibiofilm Agent Against *Pseudomonas aeruginosa* Pathogen. *Microbial Cell Factories*, 22(1), 1–27.
- Abriyani, E., Widyaningsih, A., Pangestu, An. D., Dewi, S. R., & Setiawan, S. (2023). Literatur Riview : Penetapan Kadar Salbutamol Sedian Tablet Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *Jurnal Pendidikan Dan Konseling*, 5(1), 813–822.
- Adrian, Syaiful, A. Z., Ridwan, & Hermawati. (2020). Sakarifikasi Pati Ubi Jalar Putih Menjadi Gula Dekstrosa Secara Enzimatis. *Saintis*, 1(1), 1–12.
- Ahmad, M. A., Isah, U., Raubilu, I. A., Muhammad, S. I., & Ibrahim, D. (2020). An overview of the enzyme: Amylase and its industrial potentials. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 12(1), 352–358.
- Albejo, A. L., & Hamza, T. A. (2017). Isolation and Characterization of Thermostable Amylase Producing Bacteria from Hot Spring at Arba Minch Nech Sar National Park, Southern Ethiopia. *International Journal of Novel Research in Interdisciplinary Studies*, 4(5), 9–16.
- Arfah, R. A., Patong, A. R., Ahmad, A., & Djide, M. N. (2019). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofil Penghasil Amilase Dari Sumber Air Panas Lejja Sulawesi Selatan. *Al-Kimia*, 1(1), 36–46.
- Badmos, S. A., Adesanmi, A. J., Tijani, M. O., Adeyinka, O. T., Babatunde, P. F., Sanusi, A. B., Ifijeh, O. J., & Ayoola, A. J. (2021). Production and Optimization of Alpha Amylase from *Aspergillus niger* Using TME 419 Cassava Peel as Substrate. *African Journal of Biological Sciences (South Africa)*, 3(4), 50–59.
- Baltas, N., Dincer, B., Ekinci, A. P., Kolayli, S., & Adiguzel, A. (2016). Purification and Characterization of Extracellular  $\alpha$ -Amylase from a Thermophilic *Anoxybacillus* Thermarum A4 strain. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59(1), 1–14.
- Bose, K., & Kumhari, R. (2022). *Textbook on Cloning, Expression and Purification of Recombinant Proteins*. Mumbai: Springer.

- Bulal, I., Mandik, Y. I., & Maryuni, A. E. (2021). Produksi Gula Pereduksi dari Ampas Sagu (*Metroxylon sp.*) Menggunakan Metode Hidrolisis Asam Selama 30 Menit. *Jurnal Kimia*, 5(2), 71–79.
- Coskun, O. (2016). Separation Tecniques: Chromatography. *Northern Clinics of Istanbul*, 3(2), 156–160.
- Fahima, A., Mukaromah, A. H., & Ethica, S. N. (2018). Profil Protein Berbasis Sds-Page Pada Ulat Sagu Hasil Pengeringan Dengan Garam Dan Tanpa Garam. *In Prosiding Seminar Nasional & Internasional*, 1(1), 15–20.
- Fahmi, I., Astuti, W., & Sitorus, S. (2017). Isolasi Amilase dari Kecambah Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus Lam*). *Atomik*, 2(1), 140–142.
- Fauziyah, L. Z., Suhara, N. F., Yunita, S., Priyandoko, D., & Surtikanti, H. K. (2024). Keunggulan Pati Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) sebagai Bahan Pembuatan Edible Film Ramah Lingkungan. *Applied Environmental Science*, 1(2), 103–111.
- Hadinoto, S., & Syukroni, I. (2019). Pengukuran Protein Terlarut Air Cucian Gelembung Renang Dan Kulit Ikan Tuna Menggunakan Metode Bradford. *Majalah BIAM*, 15(01), 15–20.
- Harahap, M. R. (2018). Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*, 2(1), 21–26.
- Hartati, I. (2012). Pemurnian Enzim Selulase dari Rumen Sapi Menggunakan Teknologi Expanded Bed Adsorption. *Jurnal Techno*, 13(1), 43–51.
- Howard, W. (2015). Konversi Enzimatik Pengujian Aktivitas Enzim  $\alpha$ -Amilase Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Bandung. *Researchgate*, 1(1), 1–12.
- Irdawati, Arini, N., Meisy, R., Putri, E., Fadila, S. N., & Namidya, S. K. (2021). Tinjauan Literatur: Imobilisasi Sel Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Xylanase. *Prosiding SEMNAS BIO*, 1(1), 1217–1225.
- Jannah, S. N., Hanifa, Y. rahmadias, Utomo, A. B., Prambodo, A. K. D., & Lunggani, A. T. (2021). Isolasi dan Potensi Enzim Hidrolase Bakteri Symbion Padina sp. dari Pantai Lengkuas Belitung. *Bioma*, 23(1), 11–17.
- Machsun, I. R., & Zulaika, E. (2017). Profil Protein Bakteri Ureolitik. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 6(2), 2–4.
- Mahestri, L., Harpeni, E., & Setyawan, A. (2021). Isolasi dan Penapisan Bakteri Termofilik Pemecah Amilum dan Protein dari Sumber Air Panas Way Panas Kalianda Lampung Selatan. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 26(3), 161–168.
- Mawati, S. D., Harpeni, E., & Fidyandini, H. P. (2021). Screening of Amylolytic Potential Thermophilic Bacteria From Way Belerang Hot Spring Kalianda Lampung Selatan. *Journal of Aquatropica Asia*, 6(1), 1–7.
- Muharam, T., Fitriani, D., Jannah, D. F. M., Ghifari, M. Z. Al, & Sihombing, R. pasonang. (2022). Karakteristik Daya Serap Air Dan Biodegradabilitas Pada

- Bioplastik Berbasis Pati Singkong Dengan Penambahan Polyvinyl Alcohol. *Prosiding Snast*, 1(1), 35–49.
- Muliasari, H., & Permatasari, L. (2022). Studi Awal Uji Aktivitas Enzim Amilase dari Tumbuhan secara Kualitatif Berdasarkan Perbedaan Suhu dan Konsentrasi Substrat. *Journal of Agritechnology and Food Processing*, 2(1), 29.
- Muniasamy, R., & Rathnasaamy, S. (2024). Sustainable Production and Preparative Purification of Thermostable Alkaline  $\alpha$ -amylase by *Bacillus simplex* (ON754233) Employing Natural Deep Eutectic Solvent-Based Extractive Fermentation. *Scientific Reports*, 14(481), 1–16.
- Nangin, D., & Sutrisno, A. (2015). Enzim Amilase Pemecah Pati Mentah dari Mikroba : Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(3), 1032–1039.
- Narayan, M. (2021). Zymography-types, advantages, uses and troubleshooting - A detailed review. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 12(3), 2190–2199.
- Nasution, U. J., Wijaya, S. M., Wibisana, A., Safarrida, A., Rachmawati, I., Puspitasari, D. J., Naim, S., Mahsunah, A. H., Wulyoadi, S., & Suyanto, S. (2018). Pemurnian Enzim Sefalosporin-C Asilase Dan Optimasi Proses Kromatografi Penukar Ion. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 5(2), 119.
- Niharika, D., Jaipurian, D., & Vaishnav, V. (2020). Analysing the Biocatalytic Aspect of Amylase From Plant and Microbial Sources for Industrial Application. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 12(2), 85–87.
- Novitasari, Y. E., & Herdyastuti, N. (2014). Screening Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas Singgahan Tubah, Jawa Timur. *Journal of Chemistry*, 3(3), 189–193.
- Pujiati, Ardhi, M. W., & Prasetyo, E. N. (2018). *Bioteknologi Berbasis Proyek (Produksi Purifikasi Enzim Selulase dari Kapang Trichoderma Virde dan Potensinya dalam Bioscouring)*. Magetan: CV. AE Media Grafika.
- Pujiyanto, S., Wijanarka, W., Raharjo, B., & Anggraeni, V. (2019). Aktivitas Inhibitor  $\alpha$ -Amilase Ekstrak Etanol Tanaman Brotowali (*Tinospora crispa L.*). *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 21(2), 91–99.
- Purnawan, A., Capriyanti, Y., Kurniatin, P., Rahmani, N., & Yopi. (2015). Optimasi Produksi Enzim Amilase dari Bakteri Laut Jakarta (*Arthrobacter arilaitensis*). *Jurnal Biologi Indonesia*, 11(2), 215–224.
- Putra, W. A., Diharmi, A. R., & Karnila, R. (2021). Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Kolagenase dari Organ Dalam Ikan Malong (*Congresox talabon*) pada pH Berbeda. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 13(1), 27–30.
- Putranto, W. S., Budiarti, S., Suhartono, M. T., Wibawan, W. T., & Hayati, Z. (2006). Pemurnian Ekstraseluler Hyaluronidase *Streptococcus agalactiae*

- (*Streptokokus Grup B*). *Ilmu Ternak*, 6(1), 16–22.
- Rahayu, A., & Kuswytasari, N. D. (2013). Pengaruh Masa Inkubasi dan Konsentrasi Inokulum *Penicillium sp.* Terhadap Aktivitas Enzim Selulase pada Medium Tongkol Jagung. *Jurnal Sains Dan Seni POMITS*, 2(1), 1–4.
- Rahmawati, M. P., Fajriyanti, L. A., Afiddah, T., Mustikaningtyas, D., & Atunnisa, R. (2023). Perbedaan Sifat Bioplastik Limbah Kulit Singkong Dengan Bioplastik Tepung Tapioka. *Seminar Nasional IPA XIII*, 1(1), 16–25.
- Rahmi, H., Hariyanti, ., Ariyanti, R. P., & Wulandari, D. (2020). Analisis hasil fraksinasi Protease dan Lipase yang Berasal dari Saluran Pencernaan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 7(2), 194–202.
- Ramadhan, B., & Wikandari, P. R. (2021). Review Artikel: Aktivitas Enzim Amilase Dari Bakteri Asam Laktat (Karakteristik Dan Aplikasi). *Unesa Journal of Chemistry*, 10(2), 109–120.
- Ratnayani, O., Yulianthi, E., & Wirajana, N. (2021). Fraksinasi Selulase Mikroba Selulolitik dengan Amonium Sulfat dan Amobilisasi Pada Agar-Agar Komersial. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 9(1), 1–9.
- Remijawa, E. S., Rupidara, A. D. N., Ngginak, J., & Radjasa, O. K. (2020). Isolasi Dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler Pada Tanah Mangrove Di Pantai Noelbaki. *Jurnal Enggano*, 5(2), 164–180.
- Rismawati, Y., Bahri, S., & Prismariyanti. (2016). Produksi Glukosa dari Jerami Padi (*Oryza sativa*) menggunakan Jamue *Trichoderma sp.* *KOVALEN*, 2(2), 67–76.
- Rosenberg, I. M. (1996). *Protein Analysis and Purification*. Boston: Birkhäuser.
- Santhosh, A.M., Yogendra, K., Mahadevan, K.M., Mallikarjuna, I.H., and Madhusudhana, N. (2018). a Comparative Study in Photocatalytic Degradation of Coomassie Brilliant Blue G Dye By Using Nickel Calcite Nanoparticles. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 5(9), 155–164.
- Saputra, E. arya, & Santri, A. (2022). Peran Enzim Dalam Metabolisme Berdasarkan Al-Qur'an Dan Hadist. *Bengkulu Journey: Journal of Development and Reseach in Education*, 2(1), 27–35.
- Sinaga, M., Nugroho, T. ., & Dahliaty, A. (2015). Pemekatan Enzim Selulase *Penicillium sp.* LBKURCC20 dengan Pengendapan Amonium Sulfat 80% Jenuh. *JOM FMIPA*, 1(1), 283–288.
- Soeka, Y. S., & Ilyas, M. (2021). Mycelial Amylase and Cellulase Characterization As Well As Basidioma Physicochemical Analysis of Lingzhi Mushroom. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 8(1), 77–88.
- Sriatun, Karso, & Wuryanti. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Kitinase Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik KC3 dari Kecoa (*Orthoptera*). *Jurnal Kimia Sains Dan*



*Aplikasi*, 17(2), 51–57.

- Suharti, Dewantari, A., & Lisdiyarini, N. (2017). Pemekatan Keratinase dari *Bacillus sp.* 24 untuk Meningkatkan Aktivitas Dehairing. *JC-T (Journal Cis-Trans): Jurnal Kimia Dan Terapannya*, 1(2), 1–8.
- Supriyatna, A., Amalia, D., Jauhari, A. A., & Holydaziah, D. (2015). Aktivitas Enzim Amilase, Lipase, Dan Protease dari Larva *Hermetia illucens* yang diberi Pakan Jerami Padi. *Uin Sunan Gunung Djati Bandung*, 9(2), 18–32.
- Susilawati, I. O., Batubara, U. M., & Riany, H. (2015). Analisis Aktivitas Enzim Amilase yang Berasal dari Bakteri. *Prosiding Semirata Universitas Tanjungpura Pontianak*, 1(1), 359–367.
- Tazkiah, N. P., Rosahdi, T. D., & Supriadin, A. (2019). Isolasi dan Karakterisasi Enzim Amilase dari Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus*). *Al-Kimiya*, 4(1), 17–22.
- Thompson, A. L., Ball, A. N., & Love, B. J. (2018). Controlled Release Characteristics of Aqueous PEO-PPO-PEO Micelles With Added Malachite Green, Erythrosin, and Cisplatin Determined by UV–Visible Spectroscopy. *Journal of Surfactants and Detergents*, 21(1), 5–15.
- Turner, P., Mamo, G., & Karlsson, E. N. (2007). Potential and Utilization of Thermophiles and Thermostable Enzymes in Biorefining. *Microbial Cell Factories*, 6(9), 1–23.
- Utami, P., Lestari, S., & Lestari, S. D. (2016). Fishtech-Jurnal Teknologi Hasil Perikanan Pengaruh Metode Pemasakan Terhadap Komposisi Kimia dan Asam Amino Ikan Seluang (*Rasbora argyrotaenia*). *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*, 5(1), 73–84.
- Vandooren, J., Geurts, N., Martens, E., Van Den Steen, P. E., & Opdenakker, G. (2013). Zymography methods for visualizing hydrolytic enzymes. *Nature Methods*, 10(3), 211–220.
- Wardani, A. K., & Nindita, O. L. (2012). Purification and Characterization of Protease from Protease-producing Bacteria Isolated from Tofu Whey. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 13(3), 149–156.
- Wibowo, L. M. S. A., Yuliatmo, R., Maryati, T., & Pahlawan, I. . (2021). *Enzyme for Leather*. Yogyakarta: PT Sepadan Putra mandiri.
- Wilkesman, J. & Kurz, L. (2017). *Zymography : Methods and Protocols*. New York: Springer.
- Yandri, Y., Nadila, N., Suhartati, T., Satria, H., & Hadi, S. (2020). Peningkatan Kestabilan Enzim A–Amilase Dengan Penambahan Gliserol. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 5(02), 143–154.
- Yassin, S. N., Jiru, T. M., & Indracanti, M. (2021). Screening and Characterization of Thermostable Amylase-Producing Bacteria Isolated from Soil Samples of Afdera, Afar Region, and Molecular Detection of Amylase-Coding Gene. *International Journal of Microbiology*, 1(1), 1–14.

- Yohandini, H., Julinar, & Muharni. (2015). Isolation and Phylogenetic Analysis of Thermophile Community Within Tanjung Sakti Hot Spring, South Sumatera, Indonesia. *HAYATI Journal of Biosciences*, 22(3), 143–148.
- Zuraidah, Wahyuni, D., & Astuty, E. (2020). Karakteristik Morfologi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik dari Kawasan Wisata Ie Seuum (Air Panas). *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 11(2), 40–47.