

**SKRINING BAKTERI AMILOLITIK, PEMURNIAN PARSIAL DAN
KARAKTERISASI AKTIVITAS ENZIM AMILASE DARI ISOLAT
BAKTERI SUMBER AIR PANAS TANJUNG SAKTI LAHAT**

SKRIPSI

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



Oleh :
SITI SHEFIRA KUSUMAYANTI
08031381823066

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
INDRALAYA
2022**

HALAMAN PENGESAHAN

SKRINING BAKTERI AMILOLITIK, PEMURNIAN PARSIAL DAN KARAKTERISASI AKTIVITAS ENZIM AMILASE DARI ISOLAT BAKTERI SUMBER AIR PANAS TANJUNG SAKTI LAHAT

SKRIPSI

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

Oleh :

SITI SHEFIRA KUSUMAYANTI

08031381823066

Indralaya, 4 November 2022

Pembimbing I



Dr. Heni Yohandini, M.Si
NIP. 197011152000122004

Pembimbing II



Dr. Zainal Fanani, M.Si
NIP. 196708211995121001

Mengetahui

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul “Skrining Bakteri Amilolitik, Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Aktivitas Enzim Amilase dari Isolat Bakteri Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat” telah dipertahankan dihadapan Tim Pengaji Sidang Sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada Tanggal 1 November 2022 dan telah diperbaiki, diperiksa serta disetujui sesuai masukan yang diberikan.

Indralaya, 4 November 2022

Ketua:

1. **Dra. Julinar, M.Si**

NIP. 196507251993032002

Sekretaris :

1. **Dr. Ferlinahayati, M.Si**

NIP. 197402052000032001

Pembimbing:

1. **Dr. Heni Yohandini, M.Si**

NIP. 197011152000122004

2. **Dr. Zainal Fanani, M.Si**

NIP. 196708211995121001

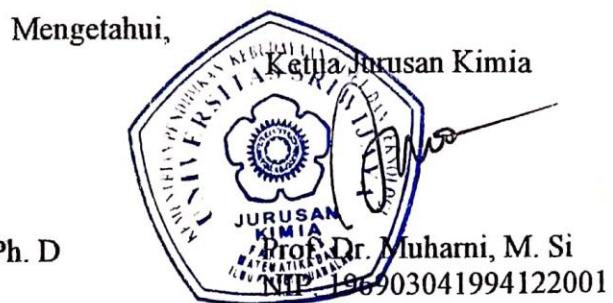
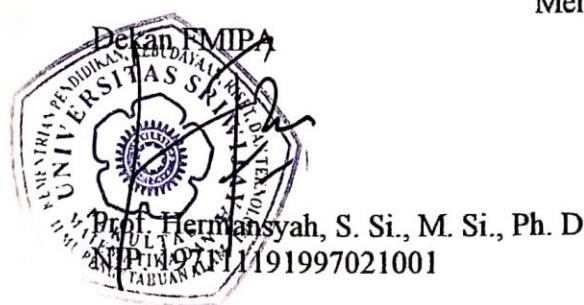
Pengaji:

1. **Prof. Hermansyah, S. Si., M. Si., Ph.D**

NIP. 197111191997021001

2. **Dr. Nirwan Syarif, M.Si**

NIP. 197010011999031003



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Siti Shefira Kusumayanti

NIM : 08031381823066

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 pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 4 November 2022

Penulis,



Siti Shefira Kusumayanti
NIM. 08031381823066

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama Mahasiswa : Siti Shefira Kusumayanti

NIM : 08031381823066

Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/ Kimia

Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “Skrining Bakteri Amilolitik Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Aktivitas Enzim Amilase dari Isolat Bakteri Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat”. Dengan hak bebas royalty non-eksclusive ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih edit/menformatkan, 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, 4 November 2022

Penulis,



Siti Shefira Kusumayanti
NIM. 08031381823066

HALAMAN PERSEMBAHAN

"Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan."

-Q.S. Al-Insyirah : 5-6

"Dan sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia lainnya."

(HR. Al-Qadlaa'iy dalam Musnad Asy-Syihab no. 129, Ath-Thabaraaniy dalam Al-Ausath no. 5787)

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
- Kedua saudaraku yang terbaik
- Keluarga tersayang di Indralaya
- Dosen pembimbing tugas akhir dan pembimbing akademik
- Semua orang yang berperan dalam kehidupan perkuliahan penulis
- Almamater Universitas Sriwijaya
- Diri sendiri

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan kasih sayang-Nya serta Sholawat kepada Rasulullah SAW yang menjadi *role model* terbaik untuk umat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Skrining Bakteri Amilolitik Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Aktivitas Enzim Amilase dari Isolat Bakteri Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat” 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, M.Si selaku Dosen pembimbing pertama dan Bapak Zainal Fanani, M.Si selaku Dosen pembimbing kedua 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 terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan nikmat, kesempatan dan kekuatan dalam setiap waktu sehingga penulis dapat bertahan melewati segala rintangan dan menyelesaikan studi perkuliahan.
2. Keluarga tersayang, Mama, Papa, Teh Hepi dan Saleh yang selalu memberikan dukungan, menjadi penguat dan menjadi rumah yang nyaman bagi penulis. *Thank you for being the biggest reason I can survive in my life.*
3. Keluarga penulis selama di tanah rantau ini, Om Hasan, Bi Heni, Almh. Bi Anjai, Shifa dan Lisa yang sudah menjadi rumah kedua yang nyaman, membantu penulis beradaptasi, serta memberikan banyak warna selama perkuliahan .
4. Keluarga besar penulis (Sepupu, Paklek, Buklek, Mba, Wak, Bibi, Oom dan lainnya yang tidak bisa disebutkan satu persatu) atas semangat dan doa yang diberikan untuk penulis.

5. Bapak Prof. Hermansyah, Ph.D. selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya sekaligus Dosen penguji seminar hasil hingga sidang sarjana, terima kasih atas saran dan masukan yang bapak berikan terkait penelitian dan penulisan.
6. Ibu Prof. Dr. Muharni, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya dan Bapak Addy Rachmat, M.Si selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
7. Bapak Dr. Nirwan Syarif, M.Si. selaku Dosen penguji seminar hasil hingga sidang sarjana, terima kasih atas saran dan masukan yang diberikan terkait penelitian dan penulisan.
8. 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.
9. Kak iin dan Mba Novi selaku staff administrasi Jurusan Kimia yan telah berbaik hati membantu penulis selama perkuliahan terutama masa-masa tugas akhir.
10. Kak agus selaku analis laboratorium genetika dan bioteknologi yan telah banyak membantu, membimbing dan memberikan pengalaman yang menyenangkan selama penulis melakukan penelitian. Terima kasih banyak kak agus sudah menjadi mentor sekaligus teman bagi penulis
11. 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 kepada kakak-kakak yang sudah membimbing dan memberikan kepercayaan bagi penulis untuk menjadi salah satu pengurus di KOSMIC, BPH KOSMIC yang telah bersama perjuangan selama kepengurusan serta adik-adik KOSMIC yan telah membantu berjalannya kegiatan-kegiatan di KOSMIC
12. Keluarga COIN FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah menjadi wadah dalam mengembangkan *soft skill*, kepribadian, dan mempertemukan penulis dengan orang-orang yang luar biasa. Terima kasih kepada kakak-kakak yang sudah membimbing dan memberikan kepercayaan bagi penulis untuk menjadi

salah satu pengurus di COIN, BPH COIN yang telah membersamai perjuangan selama kepengurusan serta adik-adik COIN yan telah membantu berjalannya kegiatan-kegiatan di COIN.

13. Sahabat-sahabat penulis yang telah menemani dari masa sekolah hingga sekarang, Intan, Likha, Noor dan Ingga. Terima kasih banyak sudah mau bertahan menjadi sahabat orang introvert dan kaku ini, menerima segala kekurangan, memberikan canda dan tawa, serta selalu menjadi *support system* bagi penulis. *Love you guys*
14. Duo partner penelitian sekaligus sahabat penulis selama perkuliahan yang membersamai perjuangan lika liku perkuliahan dari awal hingga akhir, Reza dan Bening. Terima kasih banyak ya sudah bertahan, berjuang bersama dan memberikan warna dengan kerandoman kalian dalam hidup penulis yang pendiam ini.
15. Adik-adik asuh kimia 2019 dan 2020, Putri dan Vira yang menjadi adik-adik yang baik dan penyemangat bagi penulis. Terima kasih atas kebaikan kalian, semangat Putri yang sebentar lagi mendapatkan gelar sarjana juga dan Vira tetap semangat kuliahnya di Jurusan Kimia hingga meraih gelar sarjana.
16. Orang-orang baik yan telah membantu penulis yang belum disebutkan sebelumnya. Terima kasih untuk kebaikannya hingga penulis bisa mencapai di titik ini, semoga Allah SWT membalas kebaikan kalian.
17. Diri sendiri yang telah kuat bertahan menghadapi segala rintangan, perdramaan hidup dan keluar dari zona nyaman selama perkuliahan demi menjadi pribadi yang lebih baik dan menggapai cita-cita.

Indralaya, 4 November 2022

Penulis,



Siti Shefira Kusumayanti
NIM. 08031381823066

SUMMARY

AMYLOLYTIC BACTERIAL SCREENING, PARTIAL PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF AMYLASE ENZYME ACTIVITY FROM ISOLATES BACTERIA OF TANJUNG SAKTI LAHAT HOT SPRING

Siti Shefira Kusumayanti : Supervised by Dr. Heni Yohandini, M.Si and Dr. Zainal Fanani, M.Si

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University x + 61 pages, 8 picture, 2 table, 11 attachment

Amylase enzyme was a type of enzyme that has been widely used in industry to increase production profits. In industry, amylase is needed which can work at high temperatures and amylase production at low substrate costs. Therefore, thermostable enzymes are needed that can be produced from thermophilic bacteria and alternative substrates that can produce amylase well and are more cost-effective by utilizing agricultural waste, one of which is cassava peel. Research on amylolytic bacterial screening, partial purification and characterization of amylase enzyme activity from bacterial isolates of Tanjung Sakti Lahat Hot Springs had been carried out.

The research was conducted by screening 15 bacterial isolates on starch media and then isolates bacteria of potential amylolytic observed the best growth time in producing amylase enzymes using the hemasitometer and DNS methods on starch and cassava peel starch media. Crude extracts of the enzymes produced are purified by fractionation of ammonium sulfate and dialysis. Enzymes with high purity levels are tested for enzyme activity against the influence of temperature, pH and substrate concentration.

The screening results obtained 4 isolates of amylase-producing bacteria with selected isolates that have the largest clear zone, namely *Bacillus licheniformis* TS-10. The best time for bacterial growth in producing the amylase enzyme was obtained at the 24th hour with enzyme activity in starch media of 0.316 U/mL and cassava peel media of 0.385 U/mL. The partial pure amylase enzyme with the highest level of purity was obtained at a fraction of 40-60% with a specific activity of 2.413 U/mg which has a specific activity three times greater than the crude extract of the enzyme which has a specific activity of 0.792 U/mg. The results of enzyme characterization obtained the optimum conditions of amylase enzyme activity at a temperature of 50°C, pH 7 and a starch substrate concentration of 1.25% with an enzyme activity value of 0.437 U/mL.

Keywords : Amylase, Thermophilic Bacteria, Cassava Peel Starch, Enzyme Activity

Citation : 65 (1994-2022)

RINGKASAN

SKRINING BAKTERI AMILOLITIK, PEMURNIAN PARSIAL DAN KARAKTERISASI AKTIVITAS ENZIM AMILASE DARI ISOLAT BAKTERI SUMBER AIR PANAS TANJUNG SAKTI LAHAT

Siti Shefira Kusumayanti : Dibimbing oleh Dr. Heni Yohandini, M.Si dan Dr. Zainal Fanani, M.Si

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya ix + 61 halaman, 8 gambar, 2 tabel, 11 lampiran

Enzim amilase merupakan salah satu jenis enzim yang luas pemanfaatannya dalam industri. Pada industri dibutuhkan amilase yang dapat bekerja pada temperatur tinggi dan produksi amilase dengan biaya substrat yang murah. Oleh karena itu dibutuhkan enzim termostabil yang dapat dihasilkan dari bakteri termofilik dan media alternatif yang dapat menghasilkan amilase dengan baik serta lebih hemat biaya dengan memanfaatkan limbah pertanian salah satunya ialah kulit singkong. Pada penelitian ini telah dilakukan skrining bakteri amilolitik, pemurnian parsial dan karakterisasi aktivitas enzim amilase dari isolat bakteri Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat.

Skrining bakteri amilolitik dilakukan terhadap 15 isolat bakteri pada media pati. Isolat bakteri amilolitik potensial selanjutnya diamati waktu pertumbuhan dalam memproduksi enzim amilase dengan metode hemasitometer dan DNS pada media pati dan pati kulit singkong. Ekstrak kasar enzim yang diproduksi dimurnikan dengan fraksinasi amonium sulfat dan dialisis. Fraksi enzim dengan tingkat kemurnian tertinggi diuji aktivitas enzimnya terhadap pengaruh temperatur, pH dan konsentrasi substrat.

Hasil skrining didapatkan 4 isolat bakteri penghasil amilase dengan isolat yang memiliki zona bening paling besar yaitu *Bacillus licheniformis* TS-10. Waktu terbaik pertumbuhan bakteri dalam memproduksi enzim amilase didapatkan pada jam ke-24 dengan aktivitas enzim pada media pati sebesar 0,316 U/mL dan media kulit singkong sebesar 0,385 U/mL. Ekstrak kasar enzim yang diproduksi dari media pati kulit singkong memiliki aktivitas spesifik 0,792 U/mg. Enzim amilase murni parsial dengan tingkat kemurnian paling tinggi didapatkan pada fraksi 40-60% dengan aktivitas spesifik sebesar 2,413 U/mg yang memiliki kemurnian tiga kali lebih besar daripada ekstrak kasar enzim. Hasil dari karakterisasi enzim diperoleh kondisi optimum aktivitas enzim amilase terdapat pada temperatur 50°C, pH 7 dan konsentrasi substrat pati 1,25% dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0,437 U/mL.

Kata kunci : Amilase, Bakteri Termofilik, Pati Kulit Singkong, Aktivitas Enzim

Sitası : 65 (1994-2022)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
SUMMARY.....	x
RINGKASAN.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Amilum.....	5
2.2 Pertumbuhan Bakteri.....	6
2.3 Enzim Termostabil.....	8
2.4 Enzim Amilase.....	9
2.5 Pemurnian Enzim.....	10
2.6 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim.....	12
2.7 Hemasitometer.....	13
2.8 Spektrofotometer UV-Vis.....	14
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	16
3.1 Waktu dan Tempat.....	16
3.2 Alat dan Bahan.....	16
3.2.1 Alat.....	16

3.2.2 Bahan.....	16
3.3 Prosedur Penelitian.....	17
3.3.1 Sterilisasi Alat.....	17
3.3.2 Preparasi Pati Kulit Singkong.....	17
3.3.3 Pembuatan Media.....	17
3.3.3.1 Media Nutrien Agar.....	17
3.3.3.2 Media Nutrien Broth.....	17
3.3.3.3 Media Agar Pati.....	18
3.3.3.4 Media Produksi Pati dan Pati Kulit Singkong....	18
3.3.4 Peremajaan Bakteri.....	18
3.3.5 Skrining Bakteri Penghasil Enzim Amilase.....	18
3.3.6 Pembuatan Kurva Pertumbuhan.....	19
3.3.7 Produksi Enzim Amilase.....	19
3.3.8 Uji Aktivitas Enzim Amilase.....	19
3.3.8.1 Penentuan Absorbansi Larutan Standar Glukosa	19
3.3.8.2 Uji Aktivitas Enzim Amilase dengan Metode	
DNS.....	20
3.3.9 Pemurnian Parsial Enzim Amilase.....	20
3.3.9.1 Fraksinasi Amonium Sulfat	20
3.3.9.2 Dialisis.....	21
3.3.10 Penentuan Kadar Protein.....	21
3.3.10.1 Pengukuran Absorbansi Larutan Standar BSA..	21
3.3.10.2 Penentuan Kadar Protein dengan Metode	
Bradford.....	22
3.3.11 Karakterisasi Aktivitas Enzim Amilase.....	22
3.3.11.1 Karakterisasi Temperatur Enzim.....	22
3.3.11.2 Karakterisasi pH Enzim.....	22
3.3.11.3 Karakterisasi Konsentrasi Substrat	
Enzim.....	23
3.4 Analisis Data.....	23

3.4.1 Pengukuran Zona Bening Bakteri Termofilik Penghasil Amilase.....	23
3.4.2 Penentuan Jumlah Bakteri.....	23
3.4.3 Perhitungan Kadar Glukosa.....	24
3.4.4 Aktivitas Enzim Amilase.....	24
3.4.5 Penentuan Kadar Protein.....	25
3.4.6 Aktivitas Spesifik Enzim.....	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Skrining Bakteri Termofilik Penghasil Amilase.....	26
4.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri dan Produksi Enzim Amilase....	27
4.3 Pemurnian Parsial Enzim dengan Penambahan Amonium Sulfat.....	30
4.4 Karakterisasi Aktivitas Enzim Amilase.....	31
4.4.1 Karakterisasi Temperatur Enzim.....	32
4.4.2 Karakterisasi pH Enzim.....	33
4.4.3 Karakterisasi Konsentrasi Substrat Enzim.....	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur molekul amilosa dan amilopektin.....	5
Gambar 2. Fase pertumbuhan bakteri	7
Gambar 3. Tahapan Pemurnian Protein	11
Gambar 4. Hasil skrining empat isolat bakteri positif penghasil amilase...	27
Gambar 5. Kurva pertumbuhan bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> TS-10 dan aktivitas enzim amilase dalam media pati (A) dan kulit singkong (B)	28
Gambar 6. Pengaruh Temperatur terhadap aktivitas enzim amilase dari isolat bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> TS-10	32
Gambar 7. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim amilase dari isolat bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> TS-10	33
Gambar 8. Pengaruh Konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim amilase dari isolat bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> TS-10	35

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1 Hasil pengukuran zona bening skrining isolat bakteri termofilik penghasil amilase	26
Tabel 2 Nilai kadar protein, aktivitas enzim dan aktivitas spesifik pada setiap fraksi	
Error! Bookmark not defined.	

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Penelitian	44
Lampiran 2. Pembuatan Larutan	45
Lampiran 3. Skrining Isolat Bakteri Sumber Air Panas Tanjung Sakti....	48
Lampiran 4. Kurva Standar Larutan Glukosa.....	49
Lampiran 5. Kurva Standar BSA.....	50
Lampiran 6. Data Jumlah Bakteri pada Kurva Pertumbuhan Bakteri Amilolitik <i>Bacillus licheniformis</i> TS 10 menggunakan Metode Hemasitometer.....	51
Lampiran 7. Data Aktivitas Enzim Amilase pada Kurva Pertumbuhan Bakteri Amilolitik Isolat <i>Bacillus licheniformis</i> TS 10.....	53
Lampiran 8. Tabel Kejenuhan Amonium Sulfat.....	56
Lampiran 9. Perhitungan Amonium Sulfat dalam Fraksinasi.....	57
Lampiran 10. Pemurnian Parsial Enzim.....	58
Lampiran 11. Karakterisasi Enzim Amilase.....	60

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim merupakan biokatalisator yang mempercepat reaksi biokimia dalam sistem kehidupan. Selain sifat enzim yang bekerja efisien dan spesifik, menurut Fawzya *et al* (2013) enzim juga ramah lingkungan sehingga enzim sering digunakan dalam industri untuk meningkatkan keuntungan produksi. Salah satu jenis enzim yang telah luas pemanfaatannya ialah enzim amilase. Enzim amilase merupakan enzim yang menghidrolisis α -1,4-glikosidik polisakarida untuk menghasilkan dekstrin, oligosakarida, maltosa, dan D-glukosa (Ariandi, 2016).

Enzim amilase telah diaplikasikan secara luas seperti dalam industri tekstil, industri farmasi, industri kertas, industri penyulingan, hidrolisis pati, bir, detergen, roti, sirup, pemanis buatan, etanol, dan energi terbarukan (Purnawan *et al.* 2015). Produksi amilase menggunakan media sintetik seperti pati komersial membutuhkan modal besar untuk kultur skala besar organisme penghasil amilase, oleh karena itu diperlukan substrat karbon alternatif yang lebih murah untuk produksi amilase. Pemanfaatan limbah pertanian dapat menjadi solusi dalam mencari substrat penghasil amilase yang baik dan hemat biaya (Adebare *et al*, 2021). Salah satunya adalah dengan memanfaatkan limbah kulit singkong. Menurut Ezekiel and Aworth (2013) kandungan pati sebesar 51,93% dari 91,15% karbohidrat yang terkandung dalam kulit singkong cukup besar sehingga berpotensi sebagai substrat alternatif penghasil amilase.

Proses pengolahan pati secara enzimatik dalam industri sebagian besar dimulai dengan pemanasan adonan pati dan air pada temperatur yang sangat tinggi, sehingga amilase termostabil atau yang dapat bekerja optimum pada temperatur tinggi sangat dibutuhkan (Sutrisno, 2017). Keunggulan lain dari penggunaan enzim termostabil ini juga diantaranya dapat meminimalisir kontaminasi mikroba mesofilik yang dapat berbahaya bagi kesehatan manusia dan penurunan biaya produksi (Septiani, 2019). Enzim amilase termostabil dapat diproduksi dari bakteri termofilik yaitu bakteri yang dapat tumbuh pada rentang

temperatur 40°C - 80°C dengan pertumbuhan optimal pada temperatur 50°C - 65°C (Adi *et al.* 2020).

Mikroba termofilik penghasil enzim amilase telah diteliti dalam beberapa penelitian, seperti penelitian yang dilakukan oleh Mawati *et al* (2021) yang berhasil mengisolasi mikroba termofilik penghasil amilase Sumber Air Panas Way Belerang Kalianda Lampung Selatan yang memiliki temperatur optimum pertumbuhan 50°C. Penelitian lainnya juga telah dilakukan oleh Pitri, *et al* (2015) yang mengisolasi bakteri termofilik penghasil amilase dari Sumber Air Panas Sungai Medang yang berada di Jambi dengan rentang temperatur 45°C - 88°C. Salah satu tempat hidup bakteri termofilik di Sumatera Selatan adalah sumber air panas di Tanjung Sakti Kabupaten Lahat Sumatera Selatan. Bakteri termofilik dalam sumber air panas ini telah diisolasi pada penelitian sebelumnya oleh Yohandini *et al* (2015) yang mendapatkan isolat bakteri genera *Geobacillus*, *Brevibacillus*, *Bacillus*, dan *Anoxybacillus*.

Isolasi enzim ekstraseluler dari mikroba seperti enzim amilase ini umumnya menggunakan metode sentrifugasi yang akan memisahkan ekstrak kasar enzim dengan sel-sel mikroba (Wirajana *et al.* 2021). Ekstrak kasar enzim yang didapatkan masih mengandung protein lainnya selain enzim amilase yang mempengaruhi stabilitas enzim dan aktivitasnya. Stabilitas enzim dan aktivitasnya dapat meningkat melalui pemurnian parsial ekstrak kasar enzim salah satunya dengan menggunakan metode pengendapan ammonium sulfat (Sabilla dan Susanti, 2019). Oleh karena itu perlu dilakukan pemurnian parsial untuk mendapatkan enzim amilase dengan stabilitas dan aktivitas yang lebih baik.

Penelitian skrining dan optimasi produksi enzim amilase termostabil dari isolat bakteri Sumber Air Panas Tanjung Sakti sebelumnya telah dilakukan oleh Sagala (2015). Akan tetapi belum ada penelitian mengenai potensi dari berbagai isolat bakteri Sumber Air Panas Tanjung Sakti yang paling unggul dalam memproduksi enzim amilase dan keadaan optimum yang mempengaruhi aktivitas enzim amilase hasil pemurnian parsial yang diproduksi menggunakan substrat pati kulit singkong. Menurut Sumbodono (2019) setiap jenis enzim memiliki aktivitas yang dipengaruhi oleh tingkat konsentrasi subsrat, temperatur dan derajat

keasaman optimum yang berbeda-beda. Jika enzim berada diluar kondisi optimumnya maka akan terjadi perubahan bentuk strukturnya atau enzim mengalami kerusakan sehingga enzim tidak dapat berfungsi. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Hiteshi *et al* (2016) memperoleh kondisi optimum aktivitas enzim amilase yang disekresikan oleh *Bacillus licheniformis* dari Sumber Air Panas Himachal Pradesh, India pada temperatur 50°C, pH 8 dan konsentrasi substrat pati 0,15%. Penelitian lain yang dilakukan oleh Fatoni dan Zusfahar (2012) memberikan hasil yang berbeda dengan enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri *Thermus sp.* dari Sumber Air Panas di Purwakarta, Indonesia dengan kondisi optimum aktivitas enzim pada temperature 60°C, pH 8 dan konsentrasi substrat pati 10%. Hal ini menunjukkan keragaman kondisi optimum aktivitas enzim amilase dari bakteri termofilik. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan skrining isolat bakteri Sumber Air Panas Tanjung Sakti dalam menghasilkan enzim amilase dilanjutkan dengan produksi pada media pati dan pati kulit singkong, pemurnian parsial dan karakterisasi aktivitas enzim amilase.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana potensi bakteri termofilik isolat Sumber Air Panas Tanjung Sakti dalam memproduksi enzim amilase?
2. Berapa lama waktu pertumbuhan bakteri amilolitik yang paling baik pada media pati dan media pati kulit singkong dalam memproduksi enzim amilase?
3. Apakah metode fraksinasi dengan ammonium sulfat dapat memurnikan secara parsial enzim amilase yang diproduksi mikroba ?
4. Bagaimana pengaruh temperatur, derajat keasaman dan konsentrasi substrat terhadap kerja enzim amilase ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan mikroba yang memproduksi enzim amilase termostabil paling banyak dari isolat bakteri Sumber Air Panas Tanjung Sakti
2. Membandingkan waktu paling baik pertumbuhan mikroba pada media pati dan pati kulit singkong dalam memproduksi enzim amilase

3. Mendapatkan enzim amilase parsial murni dengan metode fraksinasi amonium sulfat
4. Menentukan pengaruh temperatur, derajat keasaman dan konsentrasi substrat terhadap kerja enzim amilase

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini dapat menjadi rujukan bagi peneliti lain dalam melakukan penelitian terkait bakteri termofilik penghasil enzim amilase termostabil dari isolat Sumber Air Panas Tanjung Sakti, Lahat
2. Penelitian ini dapat menambah informasi mengenai produksi enzim amilase dengan memanfaatkan kulit singkong

DAFTAR PUSTAKA

- Adebare, B. S., Johnson, A. A., Olanrewaju, T. M., Titilope, A. O., Femi, B. P., Bankole, S. A., Joseph, I. O., & Joshua, A. A. (2021). Production and optimization of alpha amylase from *Aspergillus niger* using TME 419 cassava peel as substrate. *African Journal of Biological Sciences*, 3(4), 50. <https://doi.org/10.33472/afjbs.3.4.2021.50-59>
- Adi, A.D & Ardiansyah. (2020). *Eksplorasi dan Pemanfaatan Biodiversitas dalam Menunjang Pembangunan Nasional Berkelanjutan*. Kendari : Universitas Halu Oleo Press.
- Aehle, W. (2007). *Enzymes in Industry Production and Application*. Weinheim : WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Ariandi. (2016). Pengenalan enzim amilase (alpha-amylase) dan reaksi enzimatisnya menghidrolisis amilosa pati menjadi glukosa. *Jurnal Dinamika*, (April), 274–282.
- Arikan, B. (2008). Highly thermostable, thermophilic, alkaline, SDS and chelator resistant amylase from a thermophilic *Bacillus* sp. isolate A3-15. *Bioresource Technology*, 99(8), 3071–3076. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.019>
- Asiah, N., Cempaka, L., Ramadhan, K., & Matatula, S. H. (2020). *Prinsip Dasar Penyimpanan Pangan pada Suhu Rendah*. Makassar : Nas Media Pustaka
- Apriadi, Syaiful, A. S. & Hermawati. (2020). Likuifikasi Pati Ubi Jalar Putih Secara Enzimatis dengan Menggunakan Enzim α -Amilase, *Jurnal Saintis*, 1(1), pp. 40–46.
- Awwioroko, O. J., Anigboro, A. A., Unachukwu, N. N., & Tonukari, N. J. (2018). Isolation, identification and in silico analysis of alpha-amylase gene of *Aspergillus niger* strain CSA35 obtained from cassava undergoing spoilage. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 14(March), 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2018.03.006>
- Azhar, M. (2016). *Biomolekul Sel Karbohidrat, Protein, dan Enzim*. Padang: UNP Press.
- Fatoni, A., & Zusfahair. (2012). Thermophilic amylase from *Thermus* sp. isolation and its potential application for bioethanol production. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 34(5), 525–531.
- Fibriana, R. S. (2017). *Teknologi Enzim*. Yogyakarta: CV Andi Offset.

- Gandjar, I.G & Rohman, A. (2018). *Spektroskopi Molekuler untuk Analisis Farmasi*. Yogyakarta : UGM Press.
- Herlinda, S., Darma Utama, M., Pujiastuti, Y., & Suwandi, S. (2006). Kerapatan Dan Viabilitas Spora Beauveria Bassiana (Bals.) Akibat Subkultur Dan Pengayaan Media, Serta Virulensinya Terhadap Larva Plutella Xylostella (Linn.). *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 6(2), 70–78. <https://doi.org/10.23960/j.hptt.2670-78>
- Hiteshi, K., Didwal, G. & Gupta, R. (2016). Production optimization of α -amylase from *Bacillus licheniformis*. *Journal of Advance Research in Business Management and Accounting* (ISSN: 2456-3544), 2(5), pp. 01–14. doi: 10.53555/nnbma.v2i5.497.
- Ihsan, B. (2021). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Solok: Insan Cendekia Mandiri.
- Indriati, G., Megahati, R. R. P. & Rosba, E. (2018). Potency of Amylase-producing Bacteria and Optimization Amylase Activities. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 335(1). doi: 10.1088/1757-899X/335/1/012023.
- Jamil, S. N. A., Wijaya, A. Sendra, E., Rahman, I.W., Chairiyah,R., Ulimaz, A., Wahyuni, T.P., Abna, I.M., Ifadah, R.A., & Lindawati. (2022). *Mikrobiologi*. Padang : Get Press
- Irdawati, Fifendy, M., & Yenti, N. (2015). Penapisan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro Kabupaten Solok Selatan. *Eksakta*, 1, pp. 1–115.
- Khambhati, K., Bhattacharjee, G., Gohil, N., Braddick, D., Kulkarni, V., & Singh, V. (2019). Exploring the Potential of Cell-Free Protein Synthesis for Extending the Abilities of Biological Systems. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7(1), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00248>
- Kresnawaty, I., Wahyu, R., & Sasongko, A. (2019). Aktivitas Amilase Bakteri Amilolitik Asal Larva Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens*). *E-Journal Menara Perkebunan*, 87(2).
- Kumalawati, H., Izzati, M., & Suedy, S. W. A. (2018). Bentuk, Tipe dan Ukuran Amilum Umbi Gadung, Gembili, Uwi Ungu, Porang dan Rimpang Ganyong. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 3(1), 56. <https://doi.org/10.14710/baf.3.1.2018.56-61>
- Mawati, S. D., Harpeni, E., & Fidyandini, H. P. (2021). Screening of Amylolitic Potential Thermophilic Bacteria From Way Belerang Hot Spring Kalianda Lampung Selatan. *Journal of Aquatropica Asia*, 6(1), 1–7. Retrieved from www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/.

- Megawati & Astrilia. D. (2020). *Kinetika Hidrolisis Mikroalga dengan Enzim*. Sleman : Deepublish
- Muwarni, S. (2015). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Veteriner*. Malang: UB Press.
- Nangin, D., & Sutrisno, A. (2015). Enzim Amiase Pemecah Pati Mentah dari Mikroba : Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(3), 1032–1039.
- Ngatirah. (2017). *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Instiper Yogyakarta.
- Nimisha, P., Moksha, S., & Gangwane, A. K. (2019). Amylase activity of starch degrading bacteria isolated from soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(04),
- Ningsih, H. Ramdan, E. P., Septariani, D. N., Sari, M. F., Fajarfika, R., W., Junaedi, A. S., Putri, R., & Joeniarti, E. · (2021). *Pengantar Bioteknologi*. Yayasan Kita Menulis.
- Novitasari, Y. E., & Herdyastuti, N. (2014). Screening Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase Dari Sumber Air Panas Singgahan Tuban, Jawa Timur. *UNESA Journal of Chemistry*, 3(3), 189-193.
- Novita, W., Arief, K., Nisa, F. C., & Murdiyatmo, U. (2006). Karakterisasi parsial ekstrak kasar enzim protease dari *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-14369. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 7(2), 96-105.
- Noviyanto, F. (2020). *Penetapan Kadar Ketoprofen dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. Bandung : Media Sains Indonesia
- Nurhadianty, V., Cahyani, C., Nirwana, W.O.C., & Dewi, L. K. (2018). *Pengantar Teknologi Fermentasi Skala Industri*. Malang : UB Press
- Permatasari, A. R., Khasanah, L. U. & Widowati, E. (2014). Karakterisasi Karbon Aktif Kulit Singkong (*Manihot Utilissima*) dengan Variasi Jenis Aktivator. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 7(2), pp. 0–6. doi: 10.20961/jthp.v0i0.13004.
- Pitri, R. E., Agustien, A., & Febria, A. (2015). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Amilotermofilik dari Sumber Air Panas Sungai Medang. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 4(2), 119–122.
- Pommerville, J. C. (2010). *Alcamo's Laboratory Fundamentals of Microbiology*. Amerika Serikat: Jones & Bartlett Learning, LLC.
- Purba, D.H., Ismail, M., & Muhammad, D . (2021). *Biokimia*. Yayasan Kita Menulis.

- Purnawan, A., Capriyanti, Y., Kurniatin, P., & Rahmani, N. (2015). Optimasi Produksi Enzim Amilase dari Bakteri Laut Jakarta (*Arthrobacter Arilaitensis*). *Indonesian Journal of Biology*, 11(2).
- Rahmasari, D., Pujiyanto, S., & Rahmani, N. (2016). Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Amilase dari Bakteri Laut *Arthrobacter arilaitensis* LBF - 003 (Partial Purification and Characterization Amylase from Marine Bacterium *Arthrobacter arilaitensis* LBF - 003). *Jurnal Biologi Indonesia*, 12(1), 129–136.
- Ramadhan, B., & Wikandari, P. R. (2021). Aktivitas Enzim Amilase dari Bakteri Asam Laktat (Karakteristik dan Aplikasi). *UNESA Journal of Chemistry*, 10(2), 109–120.
- Wirajana, I. N., Sirait, R.R., & Suarya,P. (2021). Pemurnian Amilase Mikroba Amilolitikdengan Fraksinasi Amonium Sulfat Dan Amobilisasi Pada Agar-Agar Komersial. *Jurnal Kimia (Journal Of Chemistry)*, 15 (1), 41–49.
- Riza, M. (2016). Pemanfaatan Limbah Kulit Ubi Kayu (*Manihot utilissima Pohl.*) dan Kulit Nanas (*Ananas comosus L.*) Pada Produksi Bioetanol Menggunakan *Aspergillus niger*. *The 3rd University Research Colloquium* 604-614.
- Roberts, P. E., & Mather, J. P. (1998). *Introduction to Cell and Tissue Culture: Theory and Technique*. Ukraina: Springer US.
- Rosenberg, I. M. (2005) *Protein Analysis and Purification - Benchtop Techniques Second Edition*. Boston : Birkhäuser
- Sabilla, I. A., & Susanti, E. (2019). Pemurnian Parsial Ekstrak Kasar Selulase *Bacillus Circulans* Dengan Metoda Pengendapan Aseton. *Jurnal Kimia Riset*, 4(1), 40. <https://doi.org/10.20473/jkr.v4i1.13177>
- Sagala, N. (2015). Skrining dan Optimasi Pertumbuhan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase dari Isolat Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat. *Skripsi*. Indralaya : Universitas Sriwijaya
- Samanta, S., Das, A., Halder, S. K., Jana, A., Kar, S., Mohapatra, P. K. Das, Pati, B. R., & Mondal, K. C. (2014). Thermodynamic and kinetic characteristics of an α -amylase from *Bacillus licheniformis* SKB4. *Acta Biologica Szegediensis*, 58(2), 147–156.
- Saranraj, P., & Stella, D. (2013). Fungal Amylase-A Review. *International Journal of Microbiological Research*, 4(2), 203–211. <https://doi.org/10.5829/idosi.ijmr.2013.4.2.75170>

- Scopes RK. (1994). *Protein Purification Principles and Practice Third Edition*. New York: Springer Verlag
- Septiani, S. (2019). Karakterisasi Lipase Termostabil (Isolat Al96) Berdasarkan Parameter Temperatur dan pH pada Industri Makanan. *Lantanida Journal*, 7(1), p. 49. doi: 10.22373/lj.v7i1.4696.
- Shah, I. J., Gami, P. N., Shukla, R. M., & Acharya, D. K. (2014). Optimization for α -Amylase Production By *Aspergillus Oryzae* Using Submerged Fermentation Technology. *Basic Research Journal of Microbiology*, 1(4), 1–10.
- Shukla, R. J., & Singh, S. P. (2015). Production optimization, purification and characterization of α -amylase from thermophilic *Bacillus licheniformis* TSI-14. *Starch-Stärke*, 67(7-8), 629-639.
- Sihotang,S., Prasetyo, D., Noer, Z., Setiyabudi, L., Sari, D. N., Munaeni, W., Putri, D. F. A., Fatma, Y. S., Mujtahidah, T., Sulthoniyah, S. T. M., & Rohmah, M. K. (2022). *Pengantar Biotehnologi*. Gowa: Tohar Media.
- Sismindari. Rumiyati, Riris, I. J., & Edy, M. (2021). *Biokimia Farmasi*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Soeka, Y. S. and Ilyas, M. (2021). Mycelial Amylase and Cellulase Characterization As Well As Basidioma Physicochemical Analysis of Lingzhi Mushroom. *Jurnal Biotehnologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 8(1), pp. 77–88. doi: 10.29122/jbbi.v8i1.4296.
- Suhanda, H. (2022). *Troubleshooting dalam Analisis Spektrofotometer UV-VIS*. Tasikmalaya : Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia.
- Sumbodono, A. (2019). *Biomolekul*. Sleman: Deepublish.
- Suoth, E.J. (2022). *Spektrofotometri dan Kromatografi*. Lakeisha
- Susanti, R & Fidia Fibriana. (2017). *Teknologi Enzim*. Yogyakarta : CV Andi Offset.
- Susilowati, P. E., Raharjo, S., Kurniawati, D., Rahim, R., Sumarlin, S., & Ardiansyah, A. (2012). Produksi Xilanase dari Isolat Sumber Air Panas Sonai, Sulawesi Tenggara, menggunakan Limbah Pertanian. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(3), 199. <https://doi.org/10.31258/jnat.14.3.199-204>
- Sutrisno, A. (2017). *Teknologi Enzim*. Malang: UB Press.

- Tiwari, S. P., R. Srivastava, C. S. Singh, P. Singh, R. Singh, N. L. Singh & R. Sharma. (2015). Amylases: An Overview With Special Reference To Alpha Amylase. *Journal of Global Biosciences* 4(1):1886-1901.
- Wahyuningtyas, M. (2015). Pembuatan dan Karakterisasi Film Pati Kulit Ari Singkong/Kitosan dengan *Plasticizer* Asam Oleat". *Skripsi*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh November.
- Walida, H. (2021). *Proses Isolasi Bakteri Keratinolitik*. Malang: Literasi Nusantara.
- 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*. doi: 10.1155/2021/5592885.
- 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), pp. 143–148. doi: 10.1016/j.hjb.2015.10.006.