

**ARTIKEL REVIEW : STUDY α -AMILASE DARI MIKROBA
SERTA PEMANFAATANYA DALAM PEMBUATAN
MALTODEKSTRIN.**

Laporan Tugas Akhir



Muhammad Alif Aziz Algofar

191FF04047

Universitas Bhakti Kencana

Fakultas Farmasi

Program Strata I Farmasi

Bandung

2021

**LEMBAR PENGESAHAN
SKRIPSI**

**ARTIKEL REVIEW : STUDY α -AMILASE DARI BAKTERI
SERTA PEMANFAATANYA DALAM PEMBUATAN
MALTODEKSTRIN.**

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**Muhammad Alif Aziz Algofar
191FF04047**

Bandung, 21 Juni 2021

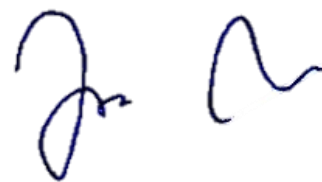
Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Fenti Fatmawati, M. Si.)



(Ira Adiyati Rum, M. Si.)

ABSTRAK

ARTIKEL REVIEW : STUDY α -AMILASE DARI BAKTERI SERTA PEMANFAATANYA DALAM PEMBUATAN MALTODEKSTRIN.

Oleh :

Muhammad Alif Aziz Algofar

191FF04047

Amilase adalah hidrolase penting yang telah digunakan secara luas selama beberapa dekade. Enzim ini secara acak memotong ikatan glikosidik internal dalam molekul pati untuk menghidrolisisnya dan menghasilkan gula. Di antara amilase, α -amilase memiliki permintaan terbesar karena berbagai aplikasinya di bidang industri. Ketika konsumen menjadi lebih sadar akan masalah lingkungan, industri menemukan bahwa enzim dapat menggantikan katalis kimia lainnya. α -amilase dapat diproduksi dari tumbuhan atau sumber mikroba. Dikarenakan keuntungan yang diberikan oleh produksi mikroba, α -amilase dari mikroorganisme telah menjadi fokus perhatian dan lebih disukai daripada sumber produksi lainnya. Sifatnya yang ada di mana-mana, produksi yang mudah, dan berbagai aplikasi menjadikan α -amilase sebagai enzim yang penting bagi industri. Tujuan review ini adalah untuk memberikan informasi mengenai pengaplikasian enzim α -amilase yang berasal dari mikroba yaitu bakteri dan yeast serta pemanfaatannya dalam industri farmasi terutama dalam pembuatan maltodekstrin khususnya pada pembuatan tablet biasa digunakan sebagai zat pengisi, zat pengikat dan zat penghancur.

Kata kunci: Enzim; α -Amilase; Mikroba; Maltodekstrin.

ABSTRACT

ARTIKEL REVIEW : STUDY α -AMILASE DARI BAKTERI SERTA PEMANFAATANYA DALAM PEMBUATAN MALTODEKSTRIN.

By :

Muhammad Alif Aziz Algofar

191FF04047

Amylase is an important hydrolase that has been used extensively for decades. This enzyme randomly cuts the internal glycosidic bonds in the starch molecule to hydrolyze it and produce sugar. Among amylases, α -amylase has the greatest demand due to its various industrial applications. As consumers become more aware of environmental concerns, while industry discovered that enzymes can replace other chemical catalysts. α -amylase can be produced from plant or microbial sources. Due to the advantages provided by microbial production, α -amylase from microorganisms has become the focus of attention and preferred over other production sources. Its ubiquitous nature, ease of production, and wide range of applications make α -amylase as a substansial enzyme for the industry. This review is intended to provide information about the application of the α -amylase enzyme derived from microbes, that is bacteria and yeast and its use in the pharmaceutical industry, particularly in the manufacture of maltodextrin, tablets that is used as a filler, binder and crusher substances.

Keywords: : Enzym; α -Amilase; Bacteria; Maltodextrin.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirahim

Pertama-tama marilah kita panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT dan shalawat serta salam mudah-mudahan terlimpah curah kepada pemimpin seluruh umat Nabi Muhammad SAW beserta keluarganya, sahabatnya, tabi'in tabi'atnya dan umatnya hingga akhir zaman. Berkat karunia dan rahmat-Nya sehingga sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul "**STUDY α -AMILASE DARI BAKTERI SERTA PEMANFAATANYA DALAM PEMBUATAN MALTODEKSTRIN**". Dalam penulisan tugas akhir ini penulis mendapat banyak bantuan, bimbingan, dukungan, serta do'a dari berbagai pihak sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Allah SWT.
2. Bapak H. Mulyana selaku Ketua Yayasan Adhiguna Kencana.
3. Bapak Dr. apt. Entris Sutrisno, S.Farm., MH. Kes selaku Rektor Universitas Bhakti Kencana Bandung.
4. Ibu Fenti Fatmawati, M.Si selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan arahan serta masukan dengan tulus kepada penulis selama proses pengerjaan tugas akhir ini.
5. Ira Adiyati Rum, M. Si. selaku dosen pembimbing serta yang telah memberikan arahan serta masukan dengan tulus kepada penulis selama proses pengerjaan tugas akhir ini.
6. Kepada orang tua, adik, serta keluarga besar yang tercinta atas do'a, harapan, dukungan, semangat, serta kasih sayang bagi penulis.
7. Rekan satu bimbingan yang telah melaksanakan bimbingan bersama, saling memberikan informasi serta bantuan bagi penulis.
8. Teruntuk rekan seperjuangan Matrikulasi 2020 yang mampu berjuang bersamasama melewati tantangan semua ini baik suka maupun duka.
9. Dan semua pihak yang telah membantu dan mendukung yang tidak dapat disebutkan satu-persatu. Besar harapan penulis agar laporan tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Semoga amal baik dari semua pihak mendapatkan balasan yang berlipat ganda dari Allah SWT. Di sadari bahwa penyusunan Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan guna penyempurnaan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Bandung, 21 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	9
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	10
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	22
DAFTAR PUSTAKA	23

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Produksi enzim α -Amilase dari Bakteri.....	13
Tabel 2. Produksi enzim α -Amilase dari yeast.....	15
Tabel 3. Aplikasi Enzim α -Amilase	17
Tabel 4. Aplikasi Enzim α -Amilase Dibidang Farmasi	19
Tabel 5. Penggunaan Maltodekstrin Berdasarkan Nilai DE	20
Tabel 6. Spesifikasi Maltodekstrin.....	21
Tabel 7. Asal Enzim α -amilase yang digunakan	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Contoh Stuktur α -amilase bakteri (Zonouzi <i>et al.</i> , 2013).	16
Gambar 2 Contoh Struktur α -amilase yeast (Technik <i>et al.</i> , 1990).	17

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Pernyataan Bebas Plagiarisme	28
Lampiran 2 Surat Persetujuan Publikasi Media online	29
Lampiran 3 Bukti Persentase Plagiarisme.....	30
Lampiran 4 Pernyataan Publikasi.....	31
Lampiran 5 Kartu Bimbingan	33
Lampiran 6 Bukti Chat Dosen Pembimbing	35

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Indonesia merupakan salah satu negara beriklim tropis yang mempunyai keanekaragaman hayati yang cukup besar diantaranya adalah keanekaragaman mikroorganisme. Salah satu jenis mikroorganisme adalah bakteri termofilik. Dimana mikroorganisme ini dapat ditemukan diberbagai tempat baik di tanah maupun air. Bakteri termofilik merupakan mikroorganisme yang memiliki karakteristik sebagai berikut, hidup pada suhu tinggi dimana suhu optimum tumbuhnya bakteri ini adalah 550°C-600°C sedangkan minimumnya adalah 400°C dan maksimumnya adalah 750°C. 1 bakteri termofilik dapat memproduksi ezim.

Amilase diklasifikasikan sebagai saccharidase (enzim yang memotong polisakarida). Amilase merupakan enzim pencernaan, terutama dilakukan oleh pankreas dan kelenjar ludah. Fungsi utama dari enzim amilase adalah untuk memecah pati dalam makanan sehingga mereka dapat digunakan oleh tubuh. Amilase juga disintesis dalam buah tanaman selama pematangan, menyebabkan buah menjadi lebih manis.

Enzim amilase banyak digunakan dalam industri. Hal ini digunakan dalam industri pembuatan dan fermentasi bir untuk konversi pati menjadi gula terfermentasi. Pada industri tekstil, amilase digunakan untuk merancang tekstil, kemudian pada industri deterjen, amilase tercampur dengan enzim protease dan lipase sebagai pencuci noda pakaian dan dalam industri makanan digunakan untuk pembuatan sirup manis, untuk meningkatkan konten diastase tepung, untuk modifikasi makanan bayi, dan menghilangkan pati dalam produksi jelly.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas serta hasil suatu produk dari enzim α -Amilase khususnya dari bakteri
2. Bagaimana potensi pemanfaatan mikroba bakteri penghasil enzim α -Amilase.

1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Memperoleh informasi mengenai Isolasi dan karakterisasi enzim α -Amilase dari bakteri serta pemanfaatannya baik yang bersifat teoritis maupun aplikatif dalam pembuatan maltodektrin.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Enzim

Enzim merupakan biomolekul yang berfungsi sebagai biokatalisator (mempercepat reaksi tanpa ikut bereaksi)

Berdasarkan jenis reaksinya, enzim diklasifikasikan sebagai berikut:

1. Oksidoreduktase

Enzim ini mengkatalisis reaksi oksidasi-reduksi. Dehidrogenase dan reduktase yang mengkatalisis reaksi redoks adalah contoh oksidoreduktase.

2. Transferase

Merupakan enzim yang mentransfer molekul donor ke molekul akseptor. Gugus ini meliputi gugus amino, karboksil, karbonil, metil, fosforil dan asil.

3. Hidrolase

Enzim yang bekerja atau menguraikan suatu substrat dengan menggunakan molekul air. Berdasarkan substratnya, enzim hidrolase terbagi atas karbohidrase, esterase dan proteinase atau protease. Beberapa enzim hidrolase yang banyak digunakan dalam proses industri adalah enzim selulase, amilase, lipase dan protease.

4. Lyase

Lyase adalah enzim yang bertanggung jawab untuk mengkatalisis reaksi penambahan dan eliminasi. Reaksi dengan katalisator memutuskan ikatan antara atom karbon dan atom lain seperti oksigen, sulfur, atau atom karbon lain. Dekarboksilase, dehidratase, deaminase dan sintetase adalah contoh untuk enzim gugus lyase.

5. Isomerase

Isomerase merupakan enzim yang mengubah molekul dari satu isomer ke isomer lainnya. Isomerase memfasilitasi penyusunan ulang intramolekul di mana ikatan rusak dan terbentuk. banyak jenis reaksi pengaturan ulang intramolekul. epimerase dan rasemase adalah enzim isomerase mengkatalisis inversi atom karbon asimetris, mutase mengkatalisis transfer gugus fungsi intramolekul.

6. Ligase

Kelompok enzim yang mengkatalis reaksi pembentukan ikatan antara dua substrat molekul merupakan ligase. DNA ligase dan karboksilase adalah contoh enzim gugus ligase.

2.2 Amilase

Amilase adalah enzim yang mengkatalisis hidrolisis ikatan internal -1,4 glikosidik dalam pati dalam produk dengan berat molekul rendah, seperti unit glukosa, maltosa dan maltotriosa . Amilase adalah salah satu enzim yang paling penting dan sangat penting untuk bioteknologi, (Indrawati & Fifendi 2011). Sebagaimana LIPI (1999) melaporkan bahwa enzim ini menyumbang 30% dari total enzim dunia. Amilase merupakan enzim yang berperan dalam mendegradasi pati menjadi gula yang lebih sederhana seperti maltosa, dekstrin, dan glukosa. Amilase telah dipakai pada berbagai bidang industri seperti industri makanan (Van der Maarel et al. 2002), industri alkohol, gula, tekstil dan sirup (Pangastuti dkk. 2002; Wirawan dkk. 2008), industri kertas (Mitidieri et al. 2006), industri deterjen (Gupta et al. 2003) dan industri biodisel (Singh et al. 2014). Amilase yang paling umum digunakan dalam industri makanan adalah golongan α -amilase (EC.3.2.1.1) dan β -amilase (EC 3.2.1.2) (Souza, 2010; Singh et al. 2014). Sampai saat ini, Indonesia masih mengimpor enzim ini dari beberapa negara, karena belum adanya industri yang memproduksi enzim ini. Padahal Indonesia memiliki biodiversitas mikroba yang tinggi (Widyastuti 2008; Panjaitan & Madayanti 2017, yang potensial untuk menghasilkan α -amilase. Amilase umumnya dapat diisolasi dari berbagai macam sumber, seperti tanaman, hewan dan mikroorganisme. Namun, enzim amilase untuk keperluan industri sebagian besar diisolasi dari mikroba. Pemilihan mikroba sebagai sumber enzim karena mempunyai beberapa keuntungan bila dibandingkan dengan enzim yang diisolasi dari tumbuhan maupun hewan, seperti mudah ditumbuhkan, pertumbuhan cepat, skala produksi sel mudah ditingkatkan, biaya produksi relatif lebih murah, memiliki spektrum aplikasi industri yang luas karena lebih stabil, dan kondisi produksi tidak tergantung perubahan musim dan waktu (Poernomo & Djoko 2003). Untuk pemanfaatan kekayaan biodiversitas mikroba nasional sebagai salah satu sumber enzim amilase yang potensial, maka dalam penelitian ini dilakukan eksplorasi enzim golongan

2.3 Klasifikasi Amilase

Enzim glikosida hidrolase atau yang biasa disebut enzim amilase diklasifikasikan menjadi yaitu.

1) . Alfa amilase (α -amilase)

Disebut juga dengan 1,4- α -D-glukan glukanolhidrolase atau glukogenase. Enzim ini bekerja memutus ikatan α -1,4 glikosida pada amilum secara acak terutama pada rantai yang panjang, sehingga menghasilkan maltotriosa dan maltosa dari polimer amilosa pada amilum dan menghasilkan glukosa dan sedikit dekstrin dari polimer amilopektin penyusun amilum. Karena sifatnya yang dapat memutus ikatan glikosida secara acak, enzim ini bekerja lebih cepat dibanding amilase lainnya terutama β -amilase. Pada kelompok hewan α -amilase merupakan enzim pencernaan amilum yang utama. Enzim α -amilase merupakan kelompok metaloenzim yang tidak dapat bekerja sama sekali bila ion kalsium tidak ada.

Enzim α -amilase dapat digolongkan menjadi empat bagian yaitu:

- a) Endoamilase merupakan enzim yang memutuskan ikatan α -1,4
- b) Eksoamilase merupakan enzim yang memutuskan ikatan α -1,4 atau α -1,6 rantai panjang polisakarida.
- c) Enzim pemutus cabang menghidrolisis ikatan α -1,6 rantai panjang polisakarida.
- d) Enzim transfer memutuskan ikatan α -1,4 glikosida molekul donor dan mentransfer bagian dari donor kepada akseptor glikosida membentuk ikatan glikosida baru.

Selain klafikasi enzim α -amilase, enzim ini memilii beberapa kegunaan dalam bidang industri. Kegunaan Enzim α -amilase antara lain :

- a). Industri Makanan Dalam industri makanan enzim α -amilase digunakan dalam produksi sirup glukosa, kristalin glukosa, produksi sirup fruktosa jagung, produksi sirup maltosa, pengurangan viskositas sirup gula dan pegurangan pembentukan uap pada jus.
- b). Industri Deterjen Dalam industri deterjen enzim α -amilase digunakan sebagai bahan tambahan untuk menghilangkan kotoran dari pati
- c). Industri Kertas Dalam industri kertas enzim α -amilase digukan untuk mengurangi viskositas pati pada kertas

- d). Industri Tekstil Dalam industri tekstil enzim α -amilase digunakan sebagai pencegah pembesaran pada serat tekstil dan juga sebagai pembersih pakaian.
 - e). Industri Farmasi Dalam bidang farmasi enzim α -amilase digunakan dalam membantu sistem pencernaan.
- 2). Amilase (β -amilase) β -amilase biasa disebut juga 1,4- α -D-glukan maltohidrolase, glikogenase, sakarogen amilase. Enzim β -amilase dapat juga diproduksi oleh bakteri, jamur dan tumbuhan. Enzim β -amilase merupakan enzim yang dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis ikatan kedua dari α -1,4 glikosida, memutuskan dua unit glukosa pada saat yang sama. Dalam proses pematangan buah . β -amilase memecah pati menjadi gula, menghasilkan rasa manis pada buah yang matang. pH optimum β amilase adalah 12.
 - 3). Gamma amilase (γ -amilase) γ -amilase memiliki nama lain 1,4 glukan 1,4- α -D-glukan glukohidrolase, exo-1,4-glukosidase, glukomilase, lisomal α glukosida. Pemutusan ikatan akhir α (1-4) glikosida pada ujung non reduksi dari amilase dan amilopektin, menghasilkan glukosa, γ -amilase juga memutuskan ikatan α (1-6) glikosida. γ -amilase sangat efisien pada lingkungan yang bersifat asam dan bekerja pada pH optimum 3.

2.4 Peran Enzim Amilase Dalam Farmasi

Amilase memiliki potensi aplikasi dalam sejumlah besar proses industri seperti industri makanan, fermentasi, tekstil, kertas, deterjen, dan farmasi. Amilase jamur dan bakteri berpotensi berguna dalam industri farmasi dan kimia halus. Namun, dengan kemajuan dalam bioteknologi, aplikasi amilase telah berkembang di banyak bidang seperti kimia klinis, obat-obatan dan analitik, serta penerapannya secara luas dalam sakarifikasi pati dan dalam industri tekstil, makanan, pembuatan bir dan penyulingan. Sebagian besar laporan tentang jamur yang menghasilkan -amilase telah dibatasi pada beberapa spesies jamur mesofilik, dan upaya telah dilakukan untuk menentukan kondisi kultur dan untuk memilih strain unggul dari jamur untuk diproduksi dalam skala komersial . Sumber jamur terbatas pada isolat terestrial, sebagian besar pada *Aspergillus* dan *Penicillium* . Itu *Aspergillus* spesies menghasilkan berbagai macam enzim ekstraseluler, dan amilase adalah yang paling penting dalam industri . Jamur berfilamen, seperti *Aspergillus oryzae* dan

Aspergillus niger, menghasilkan sejumlah besar enzim yang digunakan secara luas di industri.

A. oryzae telah menerima perhatian yang meningkat sebagai inang yang menguntungkan untuk produksi protein heterolog karena kemampuannya untuk mensekresikan sejumlah besar protein bernilai tinggi dan enzim industri, misalnya -amilase. *Aspergillus oryzae* telah banyak digunakan dalam produksi makanan seperti kecap, asam organik seperti asam sitrat dan asetat dan enzim komersial termasuk -amilase. *Aspergillus niger* memiliki kapasitas hidrolitik yang penting dalam produksi amilase dan, karena toleransinya terhadap keasaman ($\text{pH} < 3$), memungkinkan penghindaran kontaminasi bakteri. Jamur berfilamen adalah mikroorganisme yang cocok untuk fermentasi keadaan padat (SSF), terutama karena morfologinya memungkinkan mereka untuk berkoloni dan menembus substrat padat. Jamur-amilase lebih disukai daripada sumber mikroba lainnya karena status GRAS (Umumnya Diakui Aman) lebih diterima. Jamur termofilik *Thermomyces lanuginosus* adalah penghasil amilase yang sangat baik. Jensen dan Kunamneni memurnikan -amilase, membuktikan termostabilitasnya (de Souza & e Magalhães, 2010)

α -amilase adalah sejenis endoamilase yang dengan cepat menghidrolisis ikatan α -1,4 glikosidik yang ada dalam pati gelatin, amilase dan pullulan untuk menghasilkan dekstrin terlarut, beberapa maltosa, dan glukosa. 13 Ini adalah jenis endoamilase yang ada dalam air liur manusia dan sekresi pankreas dan dapat diisolasi secara eksogen *Bacillus subtilis*, *Aspergillus oryzae*, dan barley malt. β -amilase dan glukoamilase berasal dari tumbuhan atau mikroba. β amilase menghasilkan dekstrin batas β dan maltosa, dan glukoamilase menghasilkan glukosa. Amilase dari berbagai sumber digunakan sebagai bahan pembuatan enzim pencernaan campuran. Fungal Diastase (diastase adalah nama lain dari amylase) berasal dari jamur, *Aspergillus oryzae* dan mengandung enzim α -amilase dengan aktivitas tinggi. Dalam sakarifikasi, α -amilase sumber jamur memiliki efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan dengan enzim bakteri. 18 Diastase jamur mencerna pati granular dalam koordinasi dengan α -glukosidase mukosa. 19 Kapasitas mencerna pati sangat baik pada rentang pH yang luas dengan aktivitas maksimum pada pH 5. Selanjutnya, diastase dapat diaktifkan kembali di usus setelah meninggalkan lingkungan asam lambung. Kecepatan reaksi dekstrinisisasi molekul pati dengan diastase jamur sangat cepat. Ini adalah konstituen umum dari enzim

pencernaan campuran untuk pengobatan gangguan pencernaan (Swami & Shah, 2017b).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

Review jurnal ini akan dilakukan pada bulan , Oktober 2020 - Maret 2021 dengan subyek penelitian “Study A-Amilase Dari Mikroba Serta Pemanfaatannya Dalam Pembuatan Maltodekstrin”. Metode Pengumpulan Data : Review jurnal ini menggunakan pendekatan literatur review yang berfokus pada evaluasi beberapa hasil penelitian sebelumnya dengan menggunakan sumber data primer dan data sekunder. Literatur primer yang digunakan berupa artikel-artikel tentang hasil penelitian isolasi enzim katalase, purifikasi enzim amilase, karakterisasi enzim amilase, dan uji aktivitas enzim amilase dari bakteri serta pada pemanfaatannya dalam pembuatan maltodekstrin. Sedangkan literatur sekunder merupakan bentuk informasi yang merupakan petunjuk, ringkasan, evaluasi maupun kritikan terhadap literatur primer. Biasanya literatur sekunder ini merupakan modifikasi, seleksi, atau penyusunan kembali untuk tujuan dan pemustaka tertentu. Literatur sekunder ini akan memberikan arahan informasi yang telah terseleksi dan merangkum pengertian-pengertian terkait dalam susunan yang sistematis bersumber dari buku teks dan buku elektronik. Riview artikel dilakukan dengan meresume berbagai sumber dari buku, jurnal, dan terbitan- terbitan lain yang berkaitan dengan kajian karakterisasi enzim katalase dari ragi sebagai sumber antioksidan. Dalam penyusunan review artikel ini, dilakukan penelusuran jurnal ilmiah terpublikasi internasional melalui beberapa search engine seperti Scopus, Science Direct, Google Scholar, DOAJ, Elsevier, Portal Garuda dan Pubmed pencarian dilakukan menggunakan kata kunci berupa Enzim α -Amylase, Maltodextrin, Isolasi, Purifikasi dan karakteristik α -Amylase: suhu, lamanya waktu fermentasi, pengaplikasian enzim.

Kriteria artikel ilmiah yang akan direview Pemilihan literatur dilakukan berdasarkan judul literatur, abstrak dan kata kunci yang digunakan. Artikel yang terpilih disaring kembali dengan melihat keseluruhan teks. Pada penelusuran melalui search engine didapatkan 6 artikel sebagai pustaka utama, sedangkan pustaka tambahan atau pelengkap yang digunakan sebanyak 20 artikel. Sehingga total pustaka yang digunakan dalam review artikel ini sebanyak 26 artikel Review artikel mengenai isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas

BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN

Review artikel ini disusun dengan beberapa tahapan mulai dari menentukan tema yang akan dibahas yakni kajian karakterisasi enzim amilase dari bakteri . , kemudian mencari beberapa judul jurnal ilmiah yang berkaitan dengan tema tersebut. Literatur yang digunakan didapatkan dari beberapa jurnal ilmiah yang telah terpublikasi ditaraf internasional maupun nasional melalui search engine berupa Scopus, Science Direct, Google Scholar, DOAJ, Elsvier, Portal Garuda dan Pubmed. Dari hasil penelusuran tersebut didapatkan 75 jurnal yang terpilih untuk selanjutnya dilakukan lagi penyaringan jurnal atau artikel berdasarkan isi, judul, abstrak, dan kata kunci yang sesuai dengan tema yang telah ditentukan sebelumnya. Setelah penyaringan didapatkan 26 jurnal penelitian yang akan diproses kembali dan 49 jurnal penelitian yang tidak akan diproses karena jurnal tersebut kurang sesuai dengan kriteria jurnal yang akan digunakan sebagai review artikel. Kemudian jurnal atau artikel ini disaring kembali dengan melihat isi dari keseluruhan teks dan didapatkan 26 jurnal penelitian yang akan diproses kembali dan jurnal penelitian yang tidak akan diproses karena setelah dianalisis secara keseluruhan isi dari jurnal tersebut kurang sesuai dengan tema yang akan dibahas sebagai review artikel. Maka hasil akhirnya didapatkan 26 artikel dan jurnal yang relevan dengan tema review artikel yang dibahas yaitu mengenai kajian karakterisasi enzim amilase dari bakteri . Data yang digunakan berupa non material seperti data base sumber pustaka, data base dan lain-lain dari sumber data primer, kemudian artikel yang telah menjadi referensi dikaji lagi secara keseluruhan sehingga dapat dipahami isi dan informasi yang ada pada jurnal tersebut. Selanjutnya mencatat poin-poin yang berkaitan dengan tema review jurnal kali ini yaitu mengenai karakterisasi enzim amilase dari bakteri sebagai data ataupun referensi yang disimpulkan nantinya sebagai hasil penelitian

BAB V

HASIL ARTIKEL ILMIAH LITERATUR DAN PEMBAHASAN

5.1 Tes morfologi, biokimia dan fisiologis

Sebuah tes untuk identifikasi morfologi dan fisiologis dari isolasi yang diperoleh dilakukan. Metode pewarnaan Gram, spora, dan uji motilitas digunakan untuk menentukan karakteristik bakteri. Melalui uji biokimia (pati, gelatin dan kasein hidrolisis, katalase, aktivitas urease dan lipase, dll.) Beberapa karakteristik isolat ditentukan dan dilakukan perbandingan (Agüloğlu Fincan *et al.*, 2014).

5.2 Pengaruh waktu, suhu dan pH terhadap pertumbuhan mikroba dan produksi amilase

Pengaruh waktu, suhu dan pH pada produksi enzim diselidiki dengan membudidayakan organisme pada waktu yang berbeda, suhu yang berbeda, dan nilai pH yang berbeda menggunakan buffer yang sesuai pada konsentrasi 0,1 M (3,0–6,0, natrium sitrat; 7,0–8,0, Tris – HCl ; 9,0–11,0, glisin-NaOH). Aktivitas amilolitik diukur setelah 24 jam inkubasi (Agüloğlu Fincan *et al.*, 2014).

5.3 Pengaruh sumber karbon dan nitrogen pada pertumbuhan bakteri dan produksi amilase

Pengaruh sumber karbon yang berbeda (0,5%, 1%) dan nitrogen (1%) dipelajari. Berbagai sumber karbon (glukosa, laktosa, maltosa galaktosa, fruktosa, sukrosa dan pati) dan sumber nitrogen (pepton, tripton, ekstrak daging sapi, ekstrak ragi, amonium klorida, amonium sulfat, kasein dan urea) diuji (Agüloğlu Fincan *et al.*, 2014).

5.4 Uji aktivitas amilase

Aktivitas a-amilase diukur dengan DNS sesuai dengan metode menggunakan 0,5% pati yang dilarutkan dalam buffer 0,1 M Tris – HCl pH 7,0 pada 55 °C. Satu unit aktivitas amilase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang melepaskan 1 mol kelompok akhir pereduksi per menit pada 55 °C. d- Maltosa digunakan sebagai standar gula akhir pereduksi (Bernfeld, 1955).

5.5 Pemurnian enzim

Kultur kasar diendapkan dengan amonium sulfat (pada saturasi 70%) dengan pengadukan kontinyu lambat pada 4 °C. Protein endapan dikumpulkan dengan sentrifugasi (7000 × g selama 15 menit) pukul 4 °C, melarutkan pelet dalam volume minimum 0,1 M dapar kalium fosfat (pH 8,0), dan kemudian didialisis dengan dapar yang sama. Enzim kasar yang didialisis dipekatkan dalam lyophilizer dan diaplikasikan pada kolom DEAE-selulosa (diethylaminoetil selulosa, DE 32) (1,5 cm). × Kolom kaca 20 cm, laju aliran 15mLh - 1) disetimbangkan dengan dapar 0,01Mfosfat (pH8,0). Protein kemudian dielusi dengan gradien linier NaCl (0,1-1M) di buffer yang sama. Fraksi aktif dikumpulkan, didialisis dan diliofilisasi. Enzim yang telah dimurnikan ini digunakan untuk karakterisasi biokimia lebih lanjut. Fraksi aktif dikumpulkan dan didialisis semalaman dalam air suling (Agüloğlu Fincan *et al.*, 2014).

5.6 Penentuan protein

Konsentrasi protein ditentukan dengan metode menggunakan albumin sebagai standar pada langkah terakhir dan selama prosedur pemurnian (Lowry *et al.*, 1951).

5.7 Elektroforesis

Berat molekul amilase yang dimurnikan diperkirakan dengan elektroforesis gel natrium dodesil sulfat-poliakrilamida (SDS-PAGE). Enzim yang dimurnikan (1 g) dimuat ke gel poliakrilamida 10% lebih tebal bersama dengan penanda ukuran molekul. Penanda berat molekul SDS-PAGE (Sigma) adalah -galaktosidase (116kDa), fosforilase (97kDa), albumin serum sapi (66kDa) dan karbonat anhidrase (29kDa). Setelah elektroforesis selesai, protein gel diwarnai dengan Coomassie Brilliant Blue R-250 (LAEMMLI, 1970).

Native-PAGE terputus dilakukan dalam gel akrilamida 10% dengan elektroforesis gel mini Bio-Rad. Semua buffer yang digunakan untuk native-PAGE disiapkan tanpa SDS. Setelah elektroforesis, gel diinkubasi pada suhu 55 °C dalam larutan pati larut (3%) disiapkan dalam buffer 0,1 M natrium asetat (pH 6,0). Selanjutnya gel itu diwarnai dengan reagen yodium (larutan KI-I₂). Pita amilase divisualisasikan sebagai pita transparan dengan latar belakang biru tua (MITSUNAGA *et al.*, 2001).

5.8 Analisis produk reaksi enzimatik

5,0 U amilase yang dimurnikan dengan menginkubasi pati larut 1% (w / v) dalam buffer Tris-HCl 20mM (pH 7,5) pada 40 °C pada interval waktu yang berbeda. Produk hidrolisis dianalisis dengan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) dengan kolom Shodex SH1011 (8 mm). × 300mm; Waters, USA) pada suhu 50 °C menggunakan 0,01N asam sulfat sebagai fase gerak dengan laju aliran 1,0ml / menit dan produk dideteksi menggunakan detektor indeks bias (Waters 2414) yang dipertahankan pada 50 °C. Glukosa kelas kromatografi otentik dan maltosa sebagai standar untuk identifikasi produk hidrolisis dalam campuran reaksi (Xie *et al.*, 2014).

5.9 Pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas dan stabilitas enzim

PH optimal untuk aktivitas enzim ditentukan pada 50 °C dengan berbagai tingkat pH . Buffer fosfat asam sitrat (pH 3,0-5,0), natrium fosfat (pH 6,0-7,0), Tris-HCl (pH 7,5-9,0), dan natrium karbonat (pH 10,0-12,0). Untuk stabilitas pH, aktivitas sisa diukur pada pH 7,5 setelah 1 jam inkubasi pada 40 °C dalam buffer pH yang sedang diuji. Aktivitas enzim diuji pada suhu berkisar dari 30 °C sampai 80 °C dalam 20mM penyangga Tris – HCl (pH 7,5). Enzim yang telah dimurnikan diinkubasi selama 1 jam pada suhu yang diuji, dan aktivitas sisa diukur pada 50 °C dalam 20mM penyangga Tris – HCl (pH 7,5) (Bano *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2014).

Tabel 1. Produksi enzim α -Amilase dari Bakteri

Pustaka	Sumber enzim amilase	Isolasi	Pemurnian	Sifat		
				Suhu optimu m °C	pH optimu m	Bobot molekul KDa
(Liu <i>et al.</i> , 2008; Roy <i>et al.</i> , 2015)	<i>Bakteri Bacillus licheniformis</i>	wild-type; CICC 10181	wild-type, dan recombinant mutants L134R, S320A, L134R/S320A	70-80	5.5-9.5	55
(Demirk)	<i>Bakteri</i>	-	engendapan	45-50	6	56

an and Basil, 2011; Memiliki , 2011)	<i>Bacillus subtilis</i>		aseton dan filtrasi gel.			
(Lee <i>et al.</i> , 2016)	<i>Bifidobacterium longum</i>	Rekombinan Enzim 6-tagnya 88,9 kali lipat dari strain Escherichia coli MC1061	kromatografi afinitas nikel	20	5	48
(Aguilar <i>et al.</i> , 2000)	<i>Lactobacillus manihotivora</i> ns	-	DEAE-cellulose, Sephadex G-200	55	6	135
(Asoodeh, Chamani and Lagzian, 2010)	<i>Bacillus sp.</i> (in: Bacteria)	Isolate dari Ferdows icous	Pengendapan amonium sulfat dan kromatografi kolom Q-Sepharose	70	4.5	50 – 60
(Hmidet <i>et al.</i> , 2010)	<i>Bacillus mojavensis</i>	-	Ultrafiltrasi, filtrasi gel Sephadex G-75 dan kromatografi kolom Sepharose Mono Q	80	6.5	58

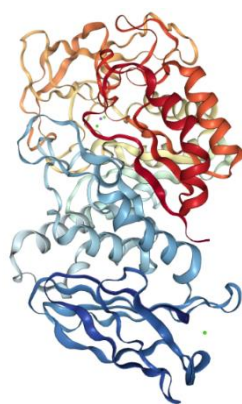
(Sudan <i>et al.</i> , 2018)	<i>Geobacillus sp.</i> K1C	Isolate dari Manikaran hot springs, India	Fraksinasi amonium sulfat, dialisis, kromatografi penukar anion, dan filtrasi gel.	80	6	59
(Mollani <i>et al.</i> , 2010)	<i>Geobacillus sp.</i> LH8		Pengendapan amonium sulfat, kromatografi kolom Q-Sepharose, dan kromatografi kolom Mono Q-Sepharose	80	5-7	52

Tabel 2. Produksi enzim α -Amilase dari yeast

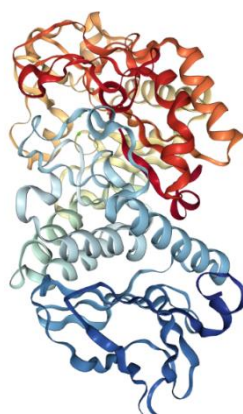
Pustaka	Sumber enzim amilase	Isolasi	Pemurnian	Sifat		
				Suhu optimum °C	pH optimum	Bobot molekul KDa
(Erdal and Taskin, 2010)	<i>A.oryzae</i>	<i>Aspergillus oryzae</i> FNCC 6004 pada substrat amilosa	pemurnian dengan amonium sulfat	27 - 30	7,47-8,32.	50
(Sari, 2013)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Sentrifugasi	Kromatografi Filtrasi Gel	21 -30	4,9.	50- 10
(Khairun Nisa', Wuryanti, 2013)	<i>Aspergillus niger</i> FNCC 6018	<i>Aspergillusniger</i> FNCC 6018,	pemurnian dengan amonium sulfat,	36	5	
(Silva <i>et</i>	<i>Penicillium</i>		native enzyme	30	5	32,s5

<i>al.</i> , 2013)	<i>brevicom pactum</i>		46fold by starch affinity			
(Nurhartadi and Rahayu, 2011)	yeast amilolitik <i>S. fibuligera</i> dan <i>P. Burtonii</i>	isolat yeast amilolitik dari ragi tape	streak plate	37	5,4	
(Ohno <i>et al.</i> , 1992)	<i>Fusidium sp.</i> BX-1		Cm Cellulosa chromatography	30	5.5	53

Pada Tabel 1 dan 2 juga disebutkan beberapa bakteri serta yeast yang dapat memproduksi enzim α -amilase dengan menggunakan proses isolasi dan pemurnian dengan parameter kontrol proses yang optimal bervariasi tergantung pada sumber mikroba, produk akhir yang diinginkan, metode fermentasi yang digunakan dan banyak faktor lainnya. α -amilase hasil isolasi memiliki aktivitas yang relatif masih rendah, sehingga perlu dilakukan proses purifikasi α -amilase hasil isolasi.



Gambar 1 Contoh Stuktur α -amilase bakteri (Zonouzi *et al.*, 2013).



Gambar 2 Contoh Struktur α -amilase yeast (Technik *et al.*, 1990).

Bacillus subtilis, *Basil stearothermophilus*, *Basillicheniformis* dan *Bacillus amyloliquefaciens* dikenal sebagai produsen α -amilase termostabil yang baik. Termostabilitas merupakan karakteristik penting karena pencairan enzimatik dan sakarifikasi pati dilakukandi tinggi suhu (100–110°C). Enzim amilolitik termostabil sedang diselidiki untuk meningkatkan proses industri degradasi pati dan berguna untuk produksi produk berharga seperti glukosa, dekstrosa kristal, sirup dekstrosa, maltosa dan maltodekstrin. Penggunaan enzim yang diproduksi oleh termofil memiliki keuntungan tambahan yaitu mengurangi risiko kontaminasi oleh mesofil. Enzim yang dihasilkan oleh beberapa mikroorganisme halofilik stabil pada salinitas tinggi dan oleh karena itu dapat digunakan dalam banyak proses industri yang keras dimana larutan garam pekat digunakan. Sifat halofilik enzim mencegah penghambatan aktivitasnya dalam kondisi ini yang sebaliknya akan terjadi jika enzim normal digunakan. Selain itu, sebagian besar enzim halobakteri sangat toleran terhadap suhu tinggi dan tetap stabil pada suhu kamar dalam waktu lama. Amilase halofilik dari bakteri halofilik seperti *Chromohalobacter sp.*, *Halobacillus sp.*, *Haloarcula hispanica*, *Halomonas meridiana*, dan *Bacillus dipsosauri* telah dikarakterisasi. Sumber jamur α -amilase terbatas pada isolat terestrial, sebagian besar pada *Aspergillus* spesies dan hanya beberapa spesies *Penicillium*, *P. brunneum* menjadi salah satunya.

Tabel 3. Aplikasi Enzim α -Amilase

Pustaka	Bidang aplikasi	Aplikasi enzim amilase
(Babacan and Rand, 2007)	Pangan	Pati memiliki efek perlindungan stabilitas termal amilase pada madu. Oleh karena itu, penting untuk memproses atau mengontrol amilase dalam madu sebelum dimasukkan ke dalam makanan yang mengandung pati untuk membantu pelestarian fungsi pati.
(Safari <i>et al.</i> , 2017)		Sebagai pengembang roti
(Nagarajan, Rajagopalan and		<i>Maltooligosaccharide</i> pembentuk <i>endo-alpha-amylase</i> berguna dalam pembuatan roti sebagai agen antistaling dan dapat diproduksi secara

Krishnan, 2006; Safari <i>et al.</i> , 2017)		ekonomis dengan menggunakan ampas tebu murah.
(Yang <i>et al.</i> , 2006)		Enzim penting dalam industry pembuatan bir dan produksi alkohol
(Erban <i>et al.</i> , 2009; Unji, Anharullah and Muzuni, 2016)	Pertanian	Mengurangi kebusukan buah untuk aplikasi pertanian, target yang mungkin dalam pengendalian tungau
(Ueda <i>et al.</i> , 2008)	Industri	Dapat berguna dalam industri seperti pembuatan bir dan pemrosesan makanan, karena aktivitas mereka pada suhu rendah dan tinggi
(Syed, Agasar and Pandey, 2009)		Sifat alkafilik enzim dengan kestabilannya merupakan fitur yang menarik untuk aplikasi industri yang memungkinkan
(Tee and Kaletunç, 2009)		Aktivitas kumulatif yang tinggi dan tujuh penggunaan kembali berturut-turut yang diperoleh pada suhu pencairan membuat enzim termostabil yang terikat secara kovalen menjadi matriks kalsium alginat, kandidat yang menjanjikan untuk digunakan dalam proses hidrolisis pati industri
(Damián-Almazo <i>et al.</i> , 2008)		Stabilitas termal dari enzim tipe liar dan mutan memenuhi persyaratan stabilitas untuk proses industri.
(Wang <i>et al.</i> ,		penerapan enzim rekombinan dari

2019)		<i>Thermomyces dupontii</i> yang diekspresikan dalam <i>Pichia pastoris</i> dalam produksi sirup maltosa
(Fuadi, 2008)	Industri kertas	Berfungsi untuk membuat permukaan kertas agar cukup halus dan kuat, untuk meningkatkan kualitas penulisan kertas.
(Silaban and Simamora, 2018)	Industri deterjen	meningkatkan kemampuan deterjen untuk menyingkirkan noda sulit dan membuat deterjen lebih ramah lingkungan
(Khemakhem <i>et al.</i> , 2009)		AmyUS100DELTAIG dirancang untuk meningkatkan termostabilitas dari maltoheksaosa pembentuk termoaktif dan termostabil α -amilase yang diproduksi di <i>Geobacillus stearothermophilus</i> sp. US100, AmyUS100

Tabel 4. Aplikasi Enzim α -Amilase Dibidang Farmasi

Pustaka	Bidang aplikasi	Aplikasi enzim amilase
(Funke and Melzig, 2005)	Farmasi	enzim tersebut merupakan target yang memungkinkan untuk pengobatan diabetes tipe 2
(Tundis, Loizzo and Menichini, 2010)		Penghambatan α -amilase dapat secara signifikan mengurangi peningkatan glukosa darah pasca prandial dan oleh karena itu dapat menjadi strategi penting dalam pengelolaan kadar glukosa darah pada pasien diabetes tipe 2 dan pasien ambang batas.
(Wahyuntari, 2011)		untuk pengobatan gangguan pencernaan