

**OPTIMASI AKTIVITAS ENZIM  $\alpha$ -AMILASE DARI JAMUR *Penicillium  
sublateritium* PADA VARIASI SUHU**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**CHOIROTUN NISAK**  
**NIM. 15630109**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

**OPTIMASI AKTIVITAS ENZIM  $\alpha$ -AMILASE DARI JAMUR *Penicillium  
sublateritium* PADA VARIASI SUHU**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**CHOIROTUN NISAK**  
**NIM. 15630109**

**Diajukan Kepada:**  
**Fakultas Sains dan Teknologi**  
**Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang**  
**Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam**  
**Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM**  
**MALANG**  
**2020**

**OPTIMASI AKTIVITAS ENZIM  $\alpha$ -AMILASE DARI JAMUR *Penicillium  
sublateritium* PADA VARIASI SUHU**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**CHOIROTUN NISAK**  
NIM. 15630109

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 23 November 2020

**Pembimbing I**

  
**Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P.**  
NIP. 19750410 200501 2 009

**Pembimbing II**

  
**Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.**  
NIP. 19731212 199803 1 008

**Mengetahui,  
Ketua Jurusan**



**Elok Kamilah Hayati, M.Si.**  
NIP. 19790620 200604 2 002

**OPTIMASI AKTIVITAS ENZIM  $\alpha$ -AMILASE DARI JAMUR *Penicillium  
sublateritium* PADA VARIASI SUHU**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**CHOIROTUN NISAK**  
NIM. 15630109

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 23 November 2020

Penguji Utama : Dr. Anton Prasetyo, M.Si  
NIP. 19770925 200604 1 003

(.....  
.....)

Ketua Penguji : Dewi Yuliani, M.Si  
NIDT. 19880711 20160801 2 067

(.....  
.....)

Sekretaris Penguji : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P  
NIP. 19750410 200501 2 009

(.....  
.....)

Anggota Penguji : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A  
NIP. 19731212 199803 1 008

(.....  
.....)

Mengetahui,  
Ketua Jurusan

(.....  
.....)

Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Choirotun Nisak

NIM : 15630109

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Optimasi Aktivitas Enzim  $\alpha$ -Amilase dari Jamur

*Penicillium sublateritium* pada Variasi Suhu

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.



## HALAMAN PERSEMBAHAN

### *Alhamdulillahirobbil'aalamiin*

Dengan memanjatkan puja dan puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat serta hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya sederhana ini. Sholawat serta salam tak lupa tercurahkan kepada baginda kita Nabi Muhammad SAW

**Karya sederhana hasil studi selama ± 4 tahun ini saya persembahkan kepada banyak pihak sebagai tanda bakti, hormat dan rasa terimakasih.**

**Kepada kedua orang tua saya (Bapak Moch Cholim dan Ibu Musdalifah)** yang telah memberikan dukungan penuh baik materiil maupun non materiil.

Terimakasih atas do'a yang tidak pernah putus, motivasi, nasehat dan kasih sayang. Terimakasih untuk segala pengorbanan yang telah dilakukan selama ini, karya sederhana ini mungkin hanya sebagian kecil yang bisa saya persembahkan untuk bapak dan ibu. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan kasih sayang-Nya kepada Bapak dan Ibu.. Aamiin..

**Kepada keluarga besar bapak dan ibu (Nenek, Paman, Bibi, Saudara Sepupu)** yang memberikan dukungan, motivasi dan do'a untuk bisa menyelesaikan kuliah dan skripsi ini. Semoga Allah SWT membalas kebaikan dan memberikan kemudahan dalam setiap urusan.. Aamiin..

**Kepada bapak ibu dosen, staf laboran, dan admin jurusan kimia** yang senantiasa memberikan bimbingan, nasehat, dan ilmu yang berlimpah dan bermanfaat sehingga saya dapat menyelesaikan perkuliahan dan penelitian ini dengan baik. Terutama kepada Bu Akyunul Jannah selaku pembimbing, Bu Dewi Yuliani selaku konsultan dan Bu Nur Aini selaku dosen wali. Semoga kebaikan Bapak dan Ibu mendapatkan pahala yang berlimpah dari Allah SWT atas kesabaran dan kebaikan dalam membantu saya menyelesaikan studi S-1 di jurusan kimia ini.. Aamiin..

**Kepada asatidz/ah PPDU Al-Fadholi dan teman-teman santri** yang memberikan do'a dan semangat kepada saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah SWT sennatiasa memberikan kemudahan dalam setiap urusan.. Aamiin..

Kepada teman seperjuangan dan sahabat terbaikku dan teman-teman Kimia Angkatan'15 terimakasih banyak karena telah menemani, menyemangati, berbagi suka dan duka selama perkuliahan, semoga kita semua diberikan kesuksesan dunia dan akhirat.. Aamiin..

## MOTTO

**“Kesuksesan tidak akan bertahan jika dicapai dengan jalan pintas”**

...

**“Pengalaman dan kegagalan akan membuat orang menjadi lebih bijak”**

...

**“Where there is a will, there is a way”**

...

**“Kill them with your success,  
then bury them with a smile”**

...

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Optimasi Aktivitas Enzim  $\alpha$ -Amilase dari Jamur *Penicillium sublateritium* pada Variasi Suhu”** ini dengan baik. Seiring dengan terselesaikannya skripsi ini, patutlah kiranya penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam terselesaikannya skripsi ini, yaitu kepada:

1. Kedua orang tua dan keluarga besar yang senantiasa memberikan dukungan secara materil maupun non materil
2. Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag selaku rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Sri Harini, M.Si selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P., Bapak Dr. H. Ahmad Barizi, M.A, Ibu Dewi Yuliani, M. Si. Dan Dr. Anton Prasetyo, M. Si. selaku dosen pembimbing, konsultan dan penguji. Terimakasih atas bimbingan dan ilmu yang diberikan sampai terselesaikannya skripsi ini.
6. Seluruh dosen dan laboran yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal.
7. Teman-teman Jurusan Kimia yang telah memberi semangat, motivasi dan bantuan dalam penyelesaian skripsi ini.

8. Para Asatidz/ah dan santriwati PPDU Al-Fadholi beserta semua pihak yang terlibat dalam membantu terselesainya skripsi ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, yang membantu penulis dalam segala hal sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

Semoga amal perbuatan Bapak/Ibu serta semua pihak yang membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini diridloi Allah SWT. Aamiin Ya Rabbal Alamin. Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat penulis harapkan untuk memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca pada umumnya.

Malang, 13 Oktober 2020

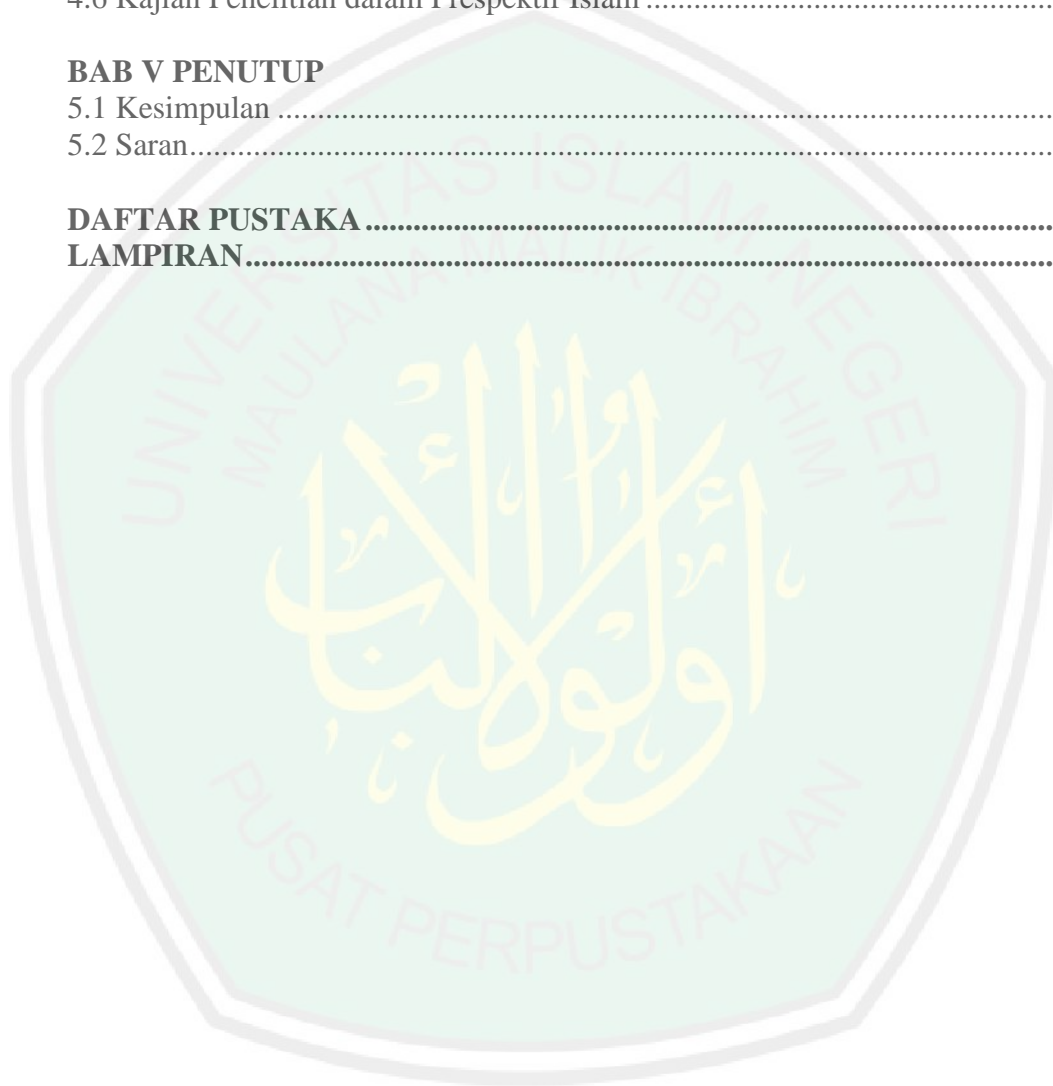
Penulis



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>v</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>xiv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xv</b>
مستخلص البحث .....	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Batasan Masalah .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Jamur Amilolitik .....	7
2.2 Substrat Pati .....	9
2.3 Enzim $\alpha$ -Amilase .....	10
2.4 Kurva Pertumbuhan Jamur <i>Penicillium</i> .....	13
2.5 Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim .....	15
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	17
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	17
3.2.1 Alat .....	17
3.2.2 Bahan .....	17
3.3 Tahapan Penelitian .....	18
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	18
3.4.1 Peremajaan Jamur <i>Penicillium sublateritium</i> .....	18
3.4.2 Uji Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase secara Kualitatif .....	18
3.4.3 Persiapan Inokulum .....	19
3.4.4 Penentuan Kurva Pertumbuhan Jamur <i>Penicillium sublateritium</i> .....	19
3.4.5 Produksi dan Ekstraksi Enzim $\alpha$ -Amilase .....	20
3.4.6 Pengukuran Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase dengan Metode DNS .....	20
3.4.6.1 Pembuatan Kurva Standar .....	20
3.4.6.2 Aktivitas Enzim .....	20
3.4.7 Penentuan Suhu Optimum Enzim $\alpha$ -Amilase .....	21

	x
3.4.8 Analisis Data .....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Peremajaan Jamur <i>Penicillium sublateritium</i> .....	23
4.2 Uji Kualitatif Enzim $\alpha$ -Amilase secara Kualitatif.....	24
4.3 Penentuan Kurva Pertumbuhan Jamur <i>Penicillium sublateritium</i> .....	25
4.4 Uji Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase dengan Variasi Suhu menggunakan Metode <i>Dinitrosalicylic Acid</i> (DNS) .....	27
4.5 Analisis Statistik .....	30
4.6 Kajian Penelitian dalam Prespektif Islam .....	31
<b>BAB V PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan .....	33
5.2 Saran.....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>39</b>



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian .....	39
Lampiran 2 Diagram Alir .....	40
Lampiran 3 Perhitungan dan Pembuatan Larutan .....	44
Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian .....	55



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Molekul Amilosa dan Amilopektin .....	9
Gambar 2.2	Struktur 3D dari Enzim $\alpha$ -Amilase .....	10
Gambar 2.3	Reaksi Hidrolisis Pati .....	12
Gambar 2.4	Reaksi DNS dengan Glukosa .....	13
Gambar 2.5	Kurva Pertumbuhan Jamur <i>Penicillium chrysogenum</i> .....	14
Gambar 2.6	Hubungan Aktivitas Enzim dan Suhu .....	15
Gambar 4.1	Peremajaan Jamur <i>Penicillium sublateritium</i> .....	24
Gambar 4.2	Uji Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase Jamur <i>Penciillium sublateritium</i> secara Kualitatif .....	25
Gambar 4.3	Kurva Pertumbuhan <i>Penicillium sublateritium</i> .....	26
Gambar 4.4	Kurva Standar Glukosa .....	28
Gambar 4.5	Hubungan Suhu dan Aktivitas Enzim .....	28
Gambar L3.1	Kurva Pertumbuhan <i>Penicillium sublateritium</i> .....	47
Gambar L3.2	Kurva Standar Glukosa .....	48
Gambar L3.3	Hubungan Suhu dan Aktivitas Enzim .....	52

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Uji <i>Tukey</i> Pada Analisis Statistik.....	30
Tabel L3.1 Berat Kering Sel <i>Penicillium sublateritium</i> .....	46
Tabel L3.2 Data Absorbansi Glukosa .....	48
Tabel L3.3 Data Absorbansi Sampel sebelum Optimasi .....	48
Tabel L3.4 Uji Aktivitas Enzim sebelum Optimasi.....	50
Tabel L3.5 Data Absorbansi Uji Aktivitas Enzim Optimasi Suhu .....	50
Tabel L3.6 Data Aktivitas Enzim Optimasi Suhu.....	50
Tabel L3.7 Perhitungan Uji Aktivitas Enzim Ulangan 1 .....	51
Tabel L3.8 Perhitungan Uji Aktivitas Enzim Ulangan 2.....	51
Tabel L3.9 Perhitungan Uji Aktivitas Enzim Ulangan 3 .....	52



## ABSTRAK

Nisak, C. 2020. **Optimasi Aktivitas Enzim  $\alpha$ -Amilase dari Jamur *Penicillium sublateritium* pada Variasi Suhu.** Laporan Hasil Penelitian. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.; Pembimbing II: Dr. Ahmad Barizi, M.A., Konsultan; Dewi Yuliani, M.Si.

---

**Kata Kunci :** *Penicillium sublateritium*, Enzim  $\alpha$ -Amilase, DNS.

Jamur *Penicillium sublateritium* yang telah berhasil diisolasi dari batu bara diketahui memiliki aktivitas amilolitik dan merupakan salah satu sumber enzim  $\alpha$ -amilase yang potensial. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas optimum enzim  $\alpha$ -amilase yang diproduksi oleh jamur *P. sublateritium* pada berbagai variasi suhu. Isolat jamur *P. sublateritium* tersebut diremajakan menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) pada suhu ruang selama 7 hari. Uji kualitatif enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan dengan menggunakan iodin 1%. Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase ditentukan dengan metode dinitrosalisilat (DNS) dan optimasi aktivitas enzim dengan variasi suhu 25, 30, 35, 40 dan 45°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jamur *P. sublateritium* memiliki aktivitas amilolitik dengan indeks sebesar 1,58. Ekstrak kasar enzim  $\alpha$ -amilase yang diproduksi oleh jamur *Penicillium sublateritium* memiliki waktu produksi terbaik pada hari ke-7. Optimasi aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase pada beberapa variasi suhu menunjukkan aktivitas optimum sebesar 2,239 U/mL pada suhu 35°C.

## ABSTRACT

Nisak, C. 2020. **Optimization of  $\alpha$ -Amylase Enzyme Activity from *Penicillium sublateritium* at Temperature Variations**. Research Report. Chemistry Major, Faculty of Science and Technology, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.; Advisor II: Dr. Ahmad Barizi, M.A., Consultant; Dewi Yuliani, M.Si.

---

**Keywords:** *Penicillium sublateritium*,  $\alpha$ -Amylase Enzyme, DNS.

*Penicillium sublateritium* fungus that has been successfully isolated from coal is known to have amyolytic activity and one of a potential source to produce  $\alpha$ -amylase enzyme. This research was aimed to determine the optimum activity of  $\alpha$ -amylase enzyme produce by *P. sublateritium* at temperature variations. Fungus isolate was rejuvenated using a PDA (Potato Dextrose Agar) medium at room temperature for seven days. The qualitative test of  $\alpha$ -amylase enzyme were determined using 1% iodine. Enzyme activities was analyzed by dinitrosalicylate (DNS) method and optimized using temperature variations at 25, 30, 35, 40 and 45°C. The result showed that *P. sublateritium* fungus has an amyolytic index of 1.58. The best production times for the  $\alpha$ -amylase enzyme is on the 7<sup>th</sup> day. Optimization of  $\alpha$ -amylase enzyme activity in several temperature variations showed the optimum activity of 2.239 U/mL at 35°C.

## مستخلص البحث

نساء، C. ٢٠٢٠. تحسين نشاط إنزيم أ-أميليز من فطر *Penicillium sublateritium* في تباين درجة الحرارة. تقرير نتائج البحث. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: الدكتور أكيونو الجنة، الماجستير؛ المشرف الثاني: الدكتور أحمد بريزي، الماجستير؛ المستشار: ديوي يولياني، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: *Penicillium sublateritium*، إنزيم أ-أميليز، DNS.

ومن المعروف أن فطر *P. sublateritium* التي تم عزلها من الفحم لديها نشاط الاميلية وهي واحدة من مصادر الإنزيمات المحتملة أ-أميليز. يهدف هذا البحث إلى تحديد النشاط الأمثل للإنزيم ألفا-أميليز التي تنتجها الفطريات *P. sublateritium* في مختلف الاختلافات درجة الحرارة. يتم تنقية فطر *P. Sublateritium* الفرعية من فطريات البنييسية باستخدام وسائط PDA (*Potato Dextrose Agar*) في درجة حرارة الغرفة لمدة ٧ أيام. يتم إجراء الاختبار النوعي للإنزيمات أ-أميليز باستخدام اليود ١٪. يتم تحديد نشاط إنزيم أ-أميليز من خلال طريقة دينوتروساليسيلات (DNS) وتحسين نشاط الإنزيم مع الاختلافات في درجة الحرارة ٢٥، ٣٠، ٣٥، ٤٠، ٤٥ درجة مئوية. وأظهرت النتائج أن الفطريات *P. sublateritium* كان النشاط الاميلية مع مؤشر ١,٥٨ استخراج الخام من إنزيم أ-أميليز التي تنتجها الفطريات تحت *P. sublateritium* لديه أفضل وقت الإنتاج في اليوم ٧. تحسين نشاط أ-أميليز الإنزيمات في بعض التغيرات درجة الحرارة يظهر النشاط الأمثل من ٢,٢٣٩ U / مل في ٣٥ درجة مئوية.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Allah SWT berfirman dalam QS. Al-Hijr ayat 19-20 yang menyebutkan tentang ciptaan Allah menurut ukuran dan menjadikan ciptaan-Nya tersebut dengan berbagai manfaat yang dapat digunakan oleh manusia untuk mempermudah dan mencukupi kebutuhan hidup manusia.

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رُوسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾ وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشَةً وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرِزْقِينَ ﴿٢٠﴾

Artinya: “Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran. Dan kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup dan (kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rizki padanya (QS. Al-Hijr (15): 19-20).

Berdasarkan ayat di atas lafadz وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ yang berarti “dan kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran”, secara ilmiah dapat diartikan sebagai sesuatu yang diciptakan Allah dengan berbagai ukuran tidak terkecuali ukuran yang sangat kecil, yang hanya dapat dilihat menggunakan mikroskop seperti halnya jamur. Adanya manfaat yang terkandung dalam mikroorganisme juga dijelaskan dalam ayat tersebut. Ibnu abbas mengatakan tentang “segala sesuatu dengan ukurannya”. Artinya, Allah memberikan manfaat kepada semua ciptanNya tanpa terkecuali dari ukuran yang kecil hingga yang berukuran besar. Pada ayat 20 dikatakan bahwa Allah bermaksud memberi anugerah kepada manusia dengan apa yang dapat memudahkan berbagai macam

mata pencaharian dan beraneka ragam sarana kehidupan. Dalam hal ini mikroorganisme berupa jamur dapat menghasilkan enzim  $\alpha$ -amilase yang memiliki banyak manfaat untuk diaplikasikan dalam berbagai bidang kehidupan.

Enzim adalah biomolekul berupa protein yang memiliki kemampuan untuk mempercepat reaksi baik secara internal maupun eksternal terhadap suatu sel organisme (Gurung, dkk., 2013). Salah satu enzim yang dibutuhkan dalam bidang industri adalah enzim  $\alpha$ -amilase. Enzim ini menyumbang sekitar 30% dari produksi enzim di dunia (Sivaramkrishnan, dkk., 2006). Enzim  $\alpha$ -amilase (EC 3.2.1.1,  $\alpha$ -1,4-glukan-glukanohidrolase) merupakan enzim yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis amilosa dan menghasilkan gula sederhana seperti maltosa dan dekstrin. Enzim tersebut memecah pati secara acak pada ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosida, tetapi tidak memberikan pengaruh terhadap ikatan  $\alpha$ -1,6-glikosida yang terdapat pada struktur amilopektin (Nascimento, dkk., 2011).

Penggunaan enzim dalam dunia industri semakin meluas (Regulapati, dkk., 2007). Pasar global industri enzim bernilai 3,1 milyar USD pada tahun 2009 dan mencapai 3,6 milyar USD pada 2010. Nilai ini diperkirakan terus meningkat dan akan mencapai 6 milyar USD pada 2016 (British Broadcasting Corporation, 2013). Permintaan enzim yang cukup besar merupakan salah satu faktor yang mendorong pentingnya eksplorasi sumber  $\alpha$ -amilase yang lebih efisien (Ahmadi, dkk., 2010).

$\alpha$ -Amilase dapat diaplikasikan pada berbagai sektor industri yang memanfaatkan hidrolisis pati. Pengaplikasian enzim  $\alpha$ -amilase pada bidang yang berbeda memerlukan sumber enzim dengan karakteristik yang berbeda. Enzim  $\alpha$ -

amilase yang sering digunakan dalam bidang industri salah satunya berasal dari jamur (Manonmani dan Kunhi, 1999).

Jamur merupakan kelompok organisme eukariotik yang memiliki kemampuan memanfaatkan nutrisi berupa karbohidrat dari lingkungan (Gandjar, dkk., 2006). Jamur banyak digunakan sebagai penghasil  $\alpha$ -amilase karena mempunyai kelebihan diantaranya  $\alpha$ -amilase yang dihasilkan dari jamur lebih stabil jika dibandingkan dengan yang dihasilkan oleh bakteri, sehingga lebih menguntungkan jika digunakan untuk kepentingan industri (Suganthi, 2011).

Pemanfaatan enzim  $\alpha$ -amilase di industri pangan meliputi makanan, minuman ataupun gula cair. Pada industri pangan, enzim  $\alpha$ -amilase digunakan untuk produksi sirup glukosa. Industri yang memanfaatkan enzim  $\alpha$ -amilase di bidang non pangan adalah industri tekstil, kertas, dan detergen (Pangastuti, dkk., 2002), salah satunya enzim  $\alpha$ -amilase digunakan sebagai bahan tambahan untuk menghilangkan kotoran dari pati pada industri detergen (Souza dan Magalhaes, 2010).

Produksi enzim  $\alpha$ -amilase yang efisien dapat dihasilkan dari beberapa spesies yang termasuk dalam genus *Penicillium* (Gopinath dkk., 2017). Kondisi media pertumbuhan jamur yang digunakan sangat mempengaruhi hasil produksi (Hamdani, 2008). Beberapa penelitian menggunakan media pertumbuhan pH 7 pada *Penicillium sp.* (Arora, dkk., 2017). Kondisi media pertumbuhan yang digunakan pada *Penicillium citrinum* adalah pH 6,5 (Sahoo, dkk., 2014). Penelitian lainnya menggunakan media pertumbuhan pH 6,5 pada *Penicillium digitatum* (Onofre, dkk., 2016). Berdasarkan rentang pH tersebut penelitian ini menggunakan pH 7 untuk media pertumbuhan jamur.

Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya yang telah berhasil mengisolasi jamur *Penicillium sublateritium* dari batubara yang diketahui memiliki aktivitas enzim amilase, namun hasil dari penelitian tersebut belum dilakukan optimasi lebih lanjut (Khoir, 2018). Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase bergantung pada keadaan reaksi seperti suhu (Wibraham dan Michael, 1992). Hal ini dikarenakan setiap enzim memiliki suhu optimum. Oleh karena itu optimasi aktivitas  $\alpha$ -amilase perlu dilakukan untuk mengetahui aktivitas tertinggi yang dihasilkan jamur dalam memproduksi  $\alpha$ -amilase berdasarkan suhu optimum (Sadikin, 2002).

Penelitian tentang optimasi enzim  $\alpha$ -amilase dari isolat jamur telah dilakukan oleh Onofre, dkk. (2016) yaitu  $\alpha$ -amilase yang diproduksi dari *Penicillium digitatum*. Aktivitas yang dihasilkan jamur tersebut adalah sebesar 1,625 U/mL selama 3 hari pada suhu optimum 37°C. Optimasi  $\alpha$ -amilase dari *Penicillium camemberti* juga telah berhasil dilakukan dan menghasilkan aktivitas sebesar 154,2 U/mL selama 7 hari dengan suhu optimum 30°C (Nouadri, dkk., 2010). Penelitian lainnya yaitu optimasi  $\alpha$ -amilase dari *Penicillium puspurescence* yang menghasilkan aktivitas sebesar 4,0 U/mL selama 7 hari. Enzim  $\alpha$ -amilase tersebut optimum pada suhu 45°C (Olama dan Sabri, 2008).

Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dapat diukur berdasarkan jumlah gula pereduksi yang terbentuk (Judoamidjojo, dkk., 1992). Gula pereduksi merupakan suatu senyawa monosakarida seperti glukosa, fruktosa, galaktosa dan disakarida seperti laktosa dan maltosa (Purba, 2010). Analisis gula reduksi secara kuantitatif dapat dilakukan beberapa metode seperti metode Luff Schroorl (Kowalski, dkk., 2013),

Nelson-Somogyi (Woiciechowski, dkk., 2002) dan dinitrosalisilat (DNS) (Lone, dkk., 2012).

Penelitian yang dilakukan oleh Sadasivam dan Manickam (2008) dalam menganalisis gula reduksi adalah menggunakan reagen DNS. Berdasarkan beberapa metode analisis kuantitatif analisis gula reduksi di atas, analisis gula pereduksi dengan menggunakan reagen DNS terlihat lebih spesifik. Metode tersebut juga merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk menentukan kadar gula reduksi (Yusrin, 2010). Oleh karena itu penelitian ini menggunakan metode DNS untuk mengetahui aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase berdasarkan jumlah gula pereduksi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana aktivitas optimum enzim  $\alpha$ -amilase yang diproduksi oleh jamur *Penicillium sublateritium* pada variasi suhu 25, 30, 35, 40 dan 45°C ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas optimum enzim  $\alpha$ -amilase yang diproduksi oleh jamur *Penicillium sublateritium* pada variasi suhu 25, 30, 35, 40 dan 45°C.

## 1.4 Batasan Masalah

- a). Sampel yang digunakan adalah jamur *Penicillium sublateritium* yang telah diisolasi dari batu bara PLTU Paiton Probolinggo.
- b). Optimasi aktivitas enzim pada variasi suhu.
- c). Variasi suhu yang digunakan adalah 25, 30, 35, 40 dan 45°C.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang aktivitas optimum enzim  $\alpha$ -amilase jamur *Penicillium sublateritium* pada beberapa variasi suhu. Informasi tersebut dapat digunakan untuk mengembangkan potensi yang ada pada jamur *Penicillium sublateritium* dan memanfaatkannya pada berbagai sektor industri.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jamur Amilolitik

Allah SWT menciptakan berbagai jenis tumbuhan di bumi dengan berbagai manfaat yang terkandung didalamnya, seperti firman Allah SWT dalam QS. Thaha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ  
أَنْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya : Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam (QS. Thaha (20): 53)

Lafadz *أَنْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى* yang artinya “berjenis-jenis tumbuhan yang bermacam-macam” pada ayat di atas dapat diartikan bahwa Allah SWT menciptakan sesuatu dengan beraneka ragam dan dengan manfaat masing-masing. Seperti halnya jamur yang memiliki banyak jenis dengan ciri khas dan manfaatnya masing-masing. Dalam penelitian ini jamur yang digunakan adalah jenis *Penicillium sublateritium* yang dapat menghasilkan enzim  $\alpha$ -amilase.

Jamur adalah mikroorganisme yang memiliki struktur somatis berupa *thalus* dan tidak mempunyai klorofil. Nutrisi yang dibutuhkan oleh jamur dapat berasal dari senyawa organik (Pelczar dan Chan, 2005), salah satunya adalah karbohidrat (Gandjar, dkk., 2006). Mayoritas jamur dapat memanfaatkan karbohidrat, tetapi hanya sedikit yang menggunakannya dalam bentuk disakarida, oligosakarida dan polisakarida, karena tidak semua jamur dapat memproduksi

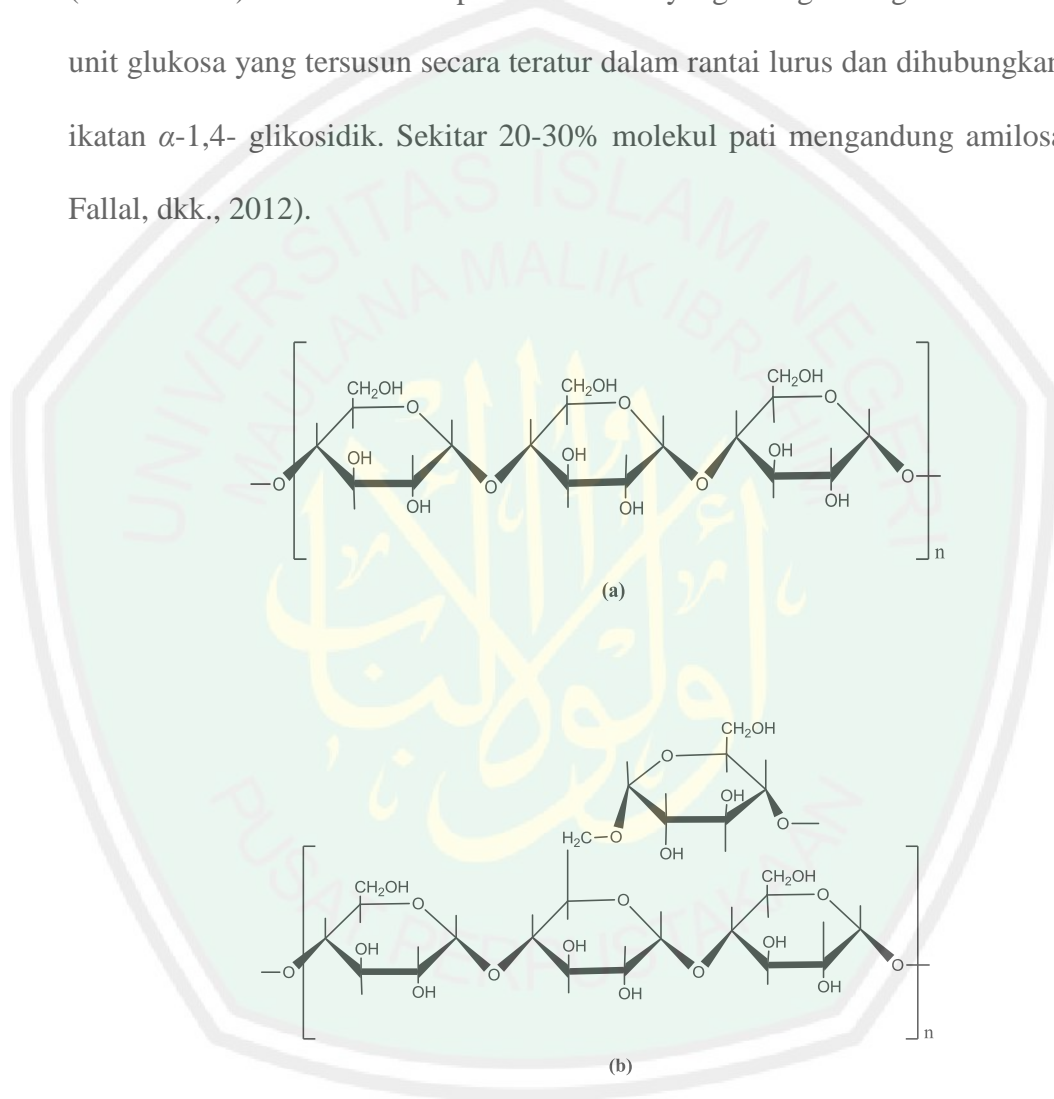
enzim (Gandjar, dkk., 2006). Media yang paling sering digunakan untuk menumbuhkan jamur adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA), karena komposisinya yang sederhana dan kemampuannya untuk mendukung pertumbuhan spora dan produksi pigmen pada berbagai macam jamur (Pradeep, dkk., 2013).

Mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim amilase salah satunya adalah jamur. Jamur diketahui dapat menggunakan amilum dengan memanfaatkan kerja enzim amilase (Anbu, dkk., 2017). Enzim amilase termasuk dalam enzim ekstraseluler yang diproduksi di dalam sel, kemudian dikeluarkan menuju substrat yang berada di sekelilingnya (Irdawati, dkk., 2011). Enzim ekstraseluler memiliki sifat terinduksi dan produksinya dapat meningkat jika terdapat substrat yang sesuai. Substrat yang digunakan oleh enzim amilase adalah pati (Irdawati, dkk., 2011).

Produksi enzim amilase yang efisien dapat dihasilkan dari beberapa spesies yang termasuk dalam genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Streptomyces rimosus* (Anbu, dkk., 2017). Kemampuan jamur dalam menguraikan amilum sangat menarik untuk dipelajari, sehingga dapat diketahui berbagai jenis jamur amilolitik dan aktivitasnya (Safitri dan Samingan, 2013). Produksi  $\alpha$ -amilase dari jamur telah banyak dilakukan di antaranya produksi yang dilakukan oleh Nouadri, dkk. (2010) yang berhasil memproduksi  $\alpha$ -amilase dari *Penicillium camemberti*. Amilase juga berhasil diproduksi dari *Penicillium sp.* (Arora, dkk., 2017). Selain itu, produksi juga berhasil dilakukan pada *Penicillium expansum* (Erdal dan Taskin, 2010). Adapun jamur yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *Penicillium sublateritium*.

## 2.2 Substrat Pati

Pati adalah polisakarida yang tersusun atas molekul glukosa yang merupakan gabungan dari ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosidik dan  $\alpha$ -1,6-glikosidik. Dua polisakarida yang menyusun struktur dari pati adalah amilosa dan amilopektin (Gambar 2.1). Amilosa merupakan molekul yang mengandung lebih dari 6000 unit glukosa yang tersusun secara teratur dalam rantai lurus dan dihubungkan oleh ikatan  $\alpha$ -1,4- glikosidik. Sekitar 20-30% molekul pati mengandung amilosa (El-Fallal, dkk., 2012).



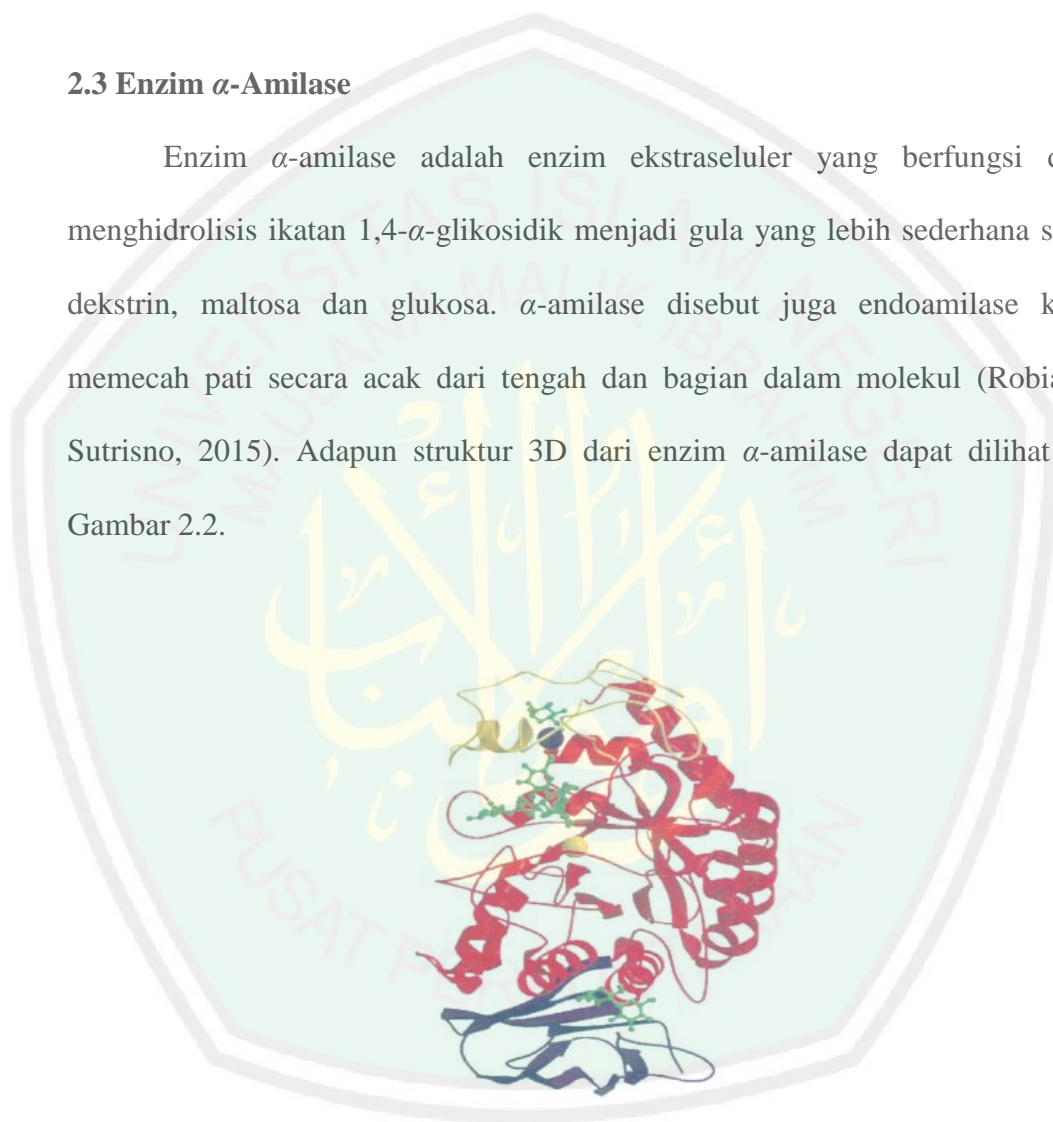
Gambar 2.1 (a) Molekul amilosa, (b) Molekul amilopektin (Coradini, dkk., 2005).

Amilopektin merupakan molekul yang sangat mirip dengan glikogen (Myers, dkk., 2000), yaitu molekul yang memiliki cabang. Struktur dari amilopektin adalah rantai lurus yang terdiri dari ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosidik yang sama

dengan amilosa, tetapi terdapat cabang pada ikatan  $\alpha$ -1,6-glikosidik. Amilopektin disebut sebagai molekul terbesar di alam, karena terdiri dari 2.000.000 unit glukosa dan merupakan komponen terbesar yang terdapat dalam pati, yaitu sekitar 70-80% (El-Fallal, dkk., 2012).

### 2.3 Enzim $\alpha$ -Amilase

Enzim  $\alpha$ -amilase adalah enzim ekstraseluler yang berfungsi dalam menghidrolisis ikatan 1,4- $\alpha$ -glikosidik menjadi gula yang lebih sederhana seperti dekstrin, maltosa dan glukosa.  $\alpha$ -amilase disebut juga endoamilase karena memecah pati secara acak dari tengah dan bagian dalam molekul (Robia dan Sutrisno, 2015). Adapun struktur 3D dari enzim  $\alpha$ -amilase dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur 3D dari enzim  $\alpha$ -amilase (Held, 2012).

Mekanisme kerja dari enzim  $\alpha$ -amilase pada amilosa terdiri dari dua tahap. Tahap pertama, terjadi degradasi  $\alpha$ -amilase pada amilosa menjadi maltosa dan

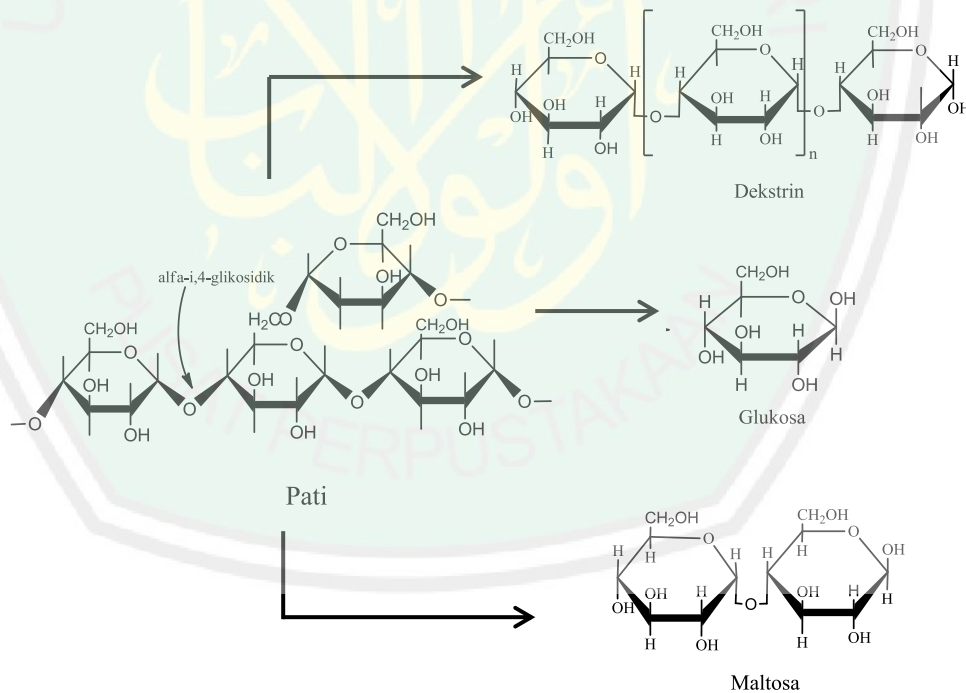
maltotriosa secara acak. Degradasi ini terjadi sangat cepat dan diikuti dengan penurunan viskositas yang sangat cepat. Tahap kedua terjadi pembentukan glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir dan tidak acak. Pada molekul amilopektin kerja enzim  $\alpha$ -amilase akan menghasilkan, maltosa dan satu seri  $\alpha$ -limit dekstrin, serta oligosakarida yang terdiri dari empat atau lebih glukosa yang mengandung ikatan  $\alpha$ -1,6-glikosidik (Winarno, 2010). Reaksi hidrolisis pati oleh  $\alpha$ -amilase dapat dilihat pada Gambar 2.3.

Uji kualitatif dan kuantitatif enzim  $\alpha$ -amilase dapat dilakukan dengan menggunakan uji iodine dan metode DNS. Uji iodine merupakan penentuan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase berdasarkan kemampuannya dalam mereduksi warna biru tua. Kompleks pati-iodine akan larut dalam air dan memberikan warna biru tua, sedangkan polisakarida dan monosakarida yang lainnya tidak dapat membentuk kompleks dengan iodine selama mereka tidak memiliki struktur  $\alpha$ -helix yang sama (Filho, dkk., 1986; Ruohonen, dkk., 1987; Kondo, dkk., 2002). Uji iodine hanya dapat dilakukan pada larutan pati dan reagen warna yang umumnya tersusun atas larutan iodine ( $I_2$ ) dan kalium iodida (KI). Pada umumnya, kompleks pati-iodine sensitif terhadap suhu dan pH tinggi. Normalnya, pengujian dilakukan pada suhu ruang dan di bawah pH 8 (Manonmani, dkk., 1999).

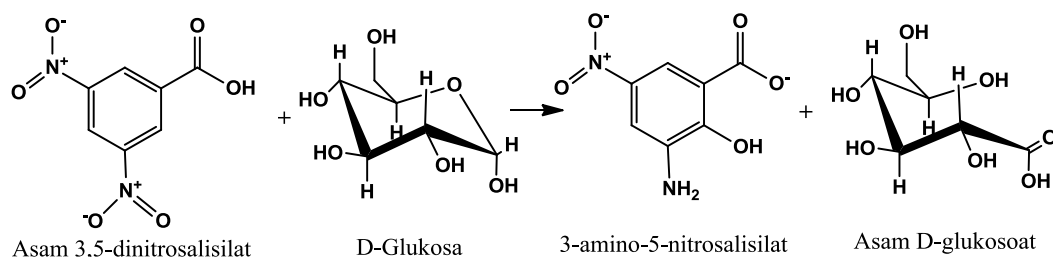
Uji kuantitatif enzim  $\alpha$ -amilase menggunakan metode DNS merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase berdasarkan jumlah gula pereduksi yang terbentuk (Judoamidjojo, dkk., 1992). DNS merupakan senyawa aromatis yang dapat bereaksi dengan gula pereduksi membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat, yaitu suatu senyawa yang mampu menyerap radiasi gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang 540 nm.

Asam *3-amino-5-nitrosalisilat* yang mulai terbentuk ditandai dengan peningkatan kadar gula reduksi yang terdapat pada sampel, sehingga absorbansi sampel akan semakin tinggi (Ruzki, 2013). Adapun reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 2.4.

Reaksi yang terjadi antara gula reduksi dengan DNS merupakan reaksi reduksi oksidasi, dimana gugus aldehid yang terdapat pada gula akan teroksidasi menjadi gugus karboksil. DNS yang bertindak sebagai oksidator akan tereduksi membentuk asam *3-amino-5-nitrosalisilat*. Gula pereduksi pada sampel ditandai dengan perubahan larutan DNS yang awalnya berwarna kuning akan bereaksi dengan gula reduksi menjadi warna jingga kemerahan (Kusmiati dan Agustini, 2010).



Gambar 2.3 Reaksi hidrolisis pati (Held, 2012).



Gambar 2.4 Reaksi DNS dengan glukosa (Ruzki, 2013).

## 2.4 Kurva Pertumbuhan Jamur *Penicillium*

Kurva pertumbuhan merupakan kurva yang menyatakan hubungan antara jumlah sel dengan waktu pertumbuhan. Pembuatan kurva pertumbuhan jamur bertujuan untuk menentukan massa pertumbuhan jamur agar diperoleh kondisi sel yang optimum (Fardiaz, 1992). Pertumbuhan mikroorganisme seperti jamur memiliki beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhannya yaitu adanya nutrisi, waktu, suhu, air, pH dan oksigen. Waktu pertumbuhan jamur dibagi menjadi empat fase (Poedjiadi, 1994) yaitu:

### a). Fase Adaptasi (*Lag Phase*)

Fase adaptasi merupakan fase dimana jamur melakukan adaptasi atau penyesuaian pada lingkungan baru. Salah satu ciri dari fase ini adalah tidak adanya peningkatan jumlah sel, namun ukuran sel mengalami peningkatan. Lama fase *lag* tergantung pada kondisi dan jumlah awal mikroorganisme dan media pertumbuhan.

### b). Fase Logaritmik (eksponensial)

Fase logaritmik merupakan fase pertumbuhan jamur pada kecepatan maksimum. Hal ini tergantung pada sifat media dan kondisi pertumbuhan seperti pH, kandungan nutrisi, dan kondisi lingkungan seperti suhu dan

kelembaban udara. Sel yang baru terbentuk memiliki laju konstan dan massa yang bertambah secara eksponensial.

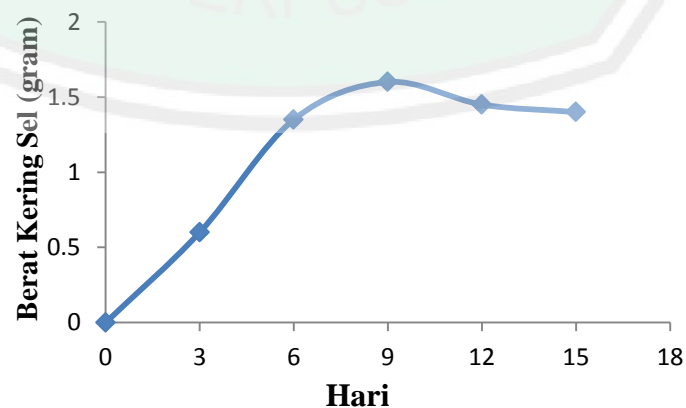
c). Fase Tetap (*Stationery Phase*)

Fase tetap merupakan fase yang terjadi ketika pertumbuhan jamur berhenti dan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang tumbuh dan jumlah sel yang mati. Biasanya pada fase ini terjadi perubahan pada kandungan nutrisi media pertumbuhan sehingga menyebabkan daya tahan jamur mulai menurun.

d). Fase Kematian (*Decline* atau *Death Phase*)

Fase kematian merupakan fase dimana sel yang mati mengalami peningkatan karena tidak tersedianya nutrisi dan produk buangan yang toksik.

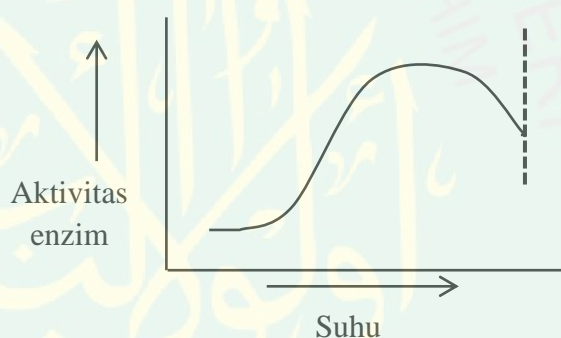
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Jakovljevic, dkk. (2014) kurva pertumbuhan *Penicillium chrysogenum* memiliki fase eksponensial pada hari ke-6 (Gambar 2.5). Kenaikan massa sel tersebut menunjukkan bahwa pada fase tersebut terjadi pembelahan sel secara cepat. Terjadinya pembelahan sel secara cepat membutuhkan energi berupa gula sederhana. Oleh karena itu pada fase ini mikroorganisme berupa jamur menyekresikan enzim  $\alpha$ -amilase dalam jumlah yang besar untuk membantu pemecahan amilosa menjadi gula sederhana.



Gambar 2.5 Kurva pertumbuhan *P. chrysogenum* (Jakovljevic, dkk., 2014)

## 2.5 Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dapat didefinisikan sebagai kemampuan enzim dalam menghidrolisis substrat berupa pati menjadi gula sederhana. 1 unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai 1  $\mu$ mol glukosa yang dihasilkan oleh 1 mL ekstrak kasar enzim (Kombong, 2004). Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim antara lain konsentrasi enzim, suhu, pH, substrat, inhibitor dan aktivator (Lehninger, 1982). Suhu merupakan faktor yang sangat mempengaruhi aktivitas enzim (Wibraham dan Michael, 1992). Hal ini dikarenakan setiap enzim memiliki suhu optimum (Lehninger, 1982).



Gambar 2.6 Hubungan aktivitas enzim dan suhu (Rodwell, 1987).

Kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim akan meningkat seiring dengan naiknya suhu. Reaksi akan terjadi secara cepat pada suhu optimum (Rodwell, 1987). Menurut Poedjiadi (1994), suhu yang terlalu tinggi menyebabkan enzim mengalami denaturasi. Pada suhu  $0^{\circ}\text{C}$  enzim menjadi inaktif dan dapat diaktivasi kembali pada suhu normal (Lay dan Sugyo, 1992). Hubungan antara aktivitas enzim dan suhu dapat dilihat pada Gambar 2.6.

Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Onofre, dkk. (2016) yaitu karakterisasi  $\alpha$ -amilase yang diproduksi dari *Penicillium digitatum* menghasilkan aktivitas dengan persentase 80% (1,625 U/mL) pada suhu 37°C (suhu optimum), sedangkan dibawah suhu optimum yaitu 20°C aktivitasnya lebih rendah yaitu sekitar 55%.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai Mei 2020 di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu seperangkat alat gelas, timbangan analitik, spatula, bunsen, botol semprot, *hot plate*, penangas air, inkubator, kawat ose, *vortex*, tip, mikropipet, sentrifuge, *shaker*, oven dan termometer. Pengukuran aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis.

##### **3.2.2 Bahan**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *Penicillium sublateritium* koleksi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang (Khoir, 2018). Bahan lain yang digunakan yaitu PDA (MERCK) dan *Potatoes Dextrose Broth* (PDB) (MERCK) sebagai media pertumbuhan jamur. Proses uji aktivitas dan optimasi enzim  $\alpha$ -amilase menggunakan pati 0,05% (HIMEDIA), iodin 1% (MERCK), buffer fosfat pH 7 dan reagen DNS (Sigma Aldrich).

### 3.3 Tahapan Penelitian

- a). Peremajaan jamur *Penicillium sublateritium*
- b). Uji Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase secara kualitatif
- c). Persiapan inokulum
- d). Penentuan kurva pertumbuhan jamur *Penicillium sublateritium*
- e). Produksi dan ekstraksi enzim  $\alpha$ -amilase
- f). Pengukuran aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dengan metode DNS (*Dinitrosalicylic Acid*)
- g). Optimasi suhu enzim  $\alpha$ -amilase
- h). Analisis data

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Peremajaan Jamur *Penicillium sublateritium*

Jamur *Penicillium sublateritium* diambil sebanyak satu kawat ose secara aseptis. Kemudian diinokulasikan pada media PDA-pati 1% dengan metode *streak*. Media PDA-pati 1% yang telah diinokulasikan dengan jamur *Penicillium sublateritium* diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari (Atmaja, dkk., 2013).

#### 3.4.2 Uji Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase secara Kualitatif

Uji aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase pada jamur *Penicillium sublateritium* secara kualitatif dilakukan dengan menginokulasikan isolat tersebut pada media PDA-pati 1%. Cawan petri diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruang. Media ditetesi dengan larutan iodin 1% untuk diamati zona bening.

### 3.4.3 Persiapan Inokulum

Persiapan inokulum dilakukan dengan cara menginokulasikan 1 ose jamur *Penicillium sublateritium* ke dalam media PDB-Pati 1% sebanyak 50 mL. Kemudian di-*shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 2 hari pada suhu ruang. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm dan inokulum siap digunakan (Aryani, 2012).

### 3.4.4 Penentuan Kurva Pertumbuhan Jamur *Penicillium sublateritium*

Jamur *Penicillium sublateritium* ditumbuhkan dalam media PDB-pati 1%. Sebanyak 10 buah tabung masing-masing diisi dengan media dan inokulum yang telah dibuat sebelumnya. Setiap 3 buah tabung tersebut masing-masing ditambahkan inokulum dan media dengan perbandingan 1:9, 5:45, dan 10:90 mL dan satu buah yang lain dijadikan sebagai kontrol (blanko). Kemudian 10 tabung tersebut diinkubasi pada suhu ruang dan di-*shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 9 hari. Selanjutnya sampel diambil tiap 24 jam sekali dimulai dari hari ke 1 sampai hari ke 9 untuk diukur berat keringnya (Aryani, 2012).

Pengukuran berat kering dilakukan dengan cara menyaring berat sel. Kemudian sel tersebut dicuci dengan aquades dan dikeringkan dengan oven pada suhu 80°C selama 24 jam atau hingga diperoleh berat konstan. Berat kering sel dihitung dengan persamaan 3.1.

$$\text{BK sel} = \text{BK total} - \text{BK kertas saring} \dots\dots\dots(3.1)$$

Dengan BK adalah berat kering sel dan BK total merupakan berat kering kertas saring ditambah berat kering sel.

### 3.4.5 Produksi dan Ekstraksi Enzim $\alpha$ -Amilase

Sebanyak 10 mL inokulum *Penicillium sublateritium* dipindahkan secara aseptik ke dalam media PDB-pati 1% dengan volume 90 mL. Media produksi ini diinkubasi pada suhu ruang dengan waktu optimum sesuai dengan kurva pertumbuhan yaitu pada fase eksponensial. Setelah itu, media produksi tersebut disaring dengan kertas saring dan disentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan filtrat dan endapan. Filtrat yang diperoleh akan digunakan sebagai ekstrak kasar enzim  $\alpha$ -amilase (Atmaja, dkk., 2013).

### 3.4.6 Pengukuran Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase dengan Metode DNS

#### 3.4.6.1 Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Larutan standar glukosa dibuat dengan variasi konsentrasi 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/mL. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan cara diambil 1 mL masing-masing larutan standar glukosa kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan 1 mL pereaksi DNS. Larutan tersebut ditempatkan dalam air mendidih selama 10 menit dan dibiarkan sampai dingin pada suhu ruang. Kemudian ditambahkan aquades hingga volume 5 mL dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm (Pitarini, 2014).

#### 3.4.6.2 Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase

Sebanyak 0,5 mL larutan pati 0,05% dan 0,5 mL ekstrak kasar enzim diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit. Hasil inkubasi ditambahkan dengan 1 mL DNS. Selanjutnya campuran tersebut dipanaskan di dalam air mendidih selama 10 menit dan dibiarkan sampai dingin pada suhu ruang. Kemudian

ditambahkan aquades hingga volume 10 mL dan di-*vortex*. Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm (Onofre, dkk., 2016).

Pembuatan kontrol dilakukan dengan cara 0,5 mL larutan pati 0,05% diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Hasil inkubasi ditambahkan dengan 0,5 mL ekstrak kasar enzim. Selanjutnya campuran tersebut dipanaskan di dalam air mendidih selama 10 menit dan dibiarkan sampai dingin pada suhu ruang. Kemudian ditambahkan aquades hingga volume 10 mL dan di-*vortex*. Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Aktivitas enzim dapat ditentukan berdasarkan persamaan 3.2 (Kombong, 2004).

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{\text{konsentrasi glukosa}}{\text{BM glukosa} \times \text{waktu inkubasi}} \times \frac{\text{volume total}}{\text{volume enzim}} \dots (3.2)$$

#### 3.4.7 Penentuan Suhu Optimum Enzim $\alpha$ -Amilase

Penentuan suhu optimum dilakukan dengan mereaksikan 0,5 mL larutan pati 0,05% dan 0,5 mL ekstrak kasar enzim. Kemudian diinkubasi dengan variasi suhu 25, 30, 35, 40 dan 45°C selama 15 menit. Hasil inkubasi ditambahkan dengan 1 mL DNS, Selanjutnya campuran tersebut dipanaskan di dalam air mendidih selama 10 menit dan dibiarkan sampai dingin pada suhu ruang. Kemudian ditambahkan aquades hingga volume 10 mL dan di-*vortex*. Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm.

### 3.4.8 Analisis Data

Data yang telah diperoleh dalam penelitian ini meliputi data kualitatif dan kuantitatif. Data penelitian kualitatif yang diperoleh disajikan secara deskriptif. Selanjutnya data kuantitatif yang diperoleh dari kurva pertumbuhan jamur *Penicillium sublateritium* diplotkan terhadap waktu inkubasi untuk membuat kurva pertumbuhan. Data hasil optimasi aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase disajikan dalam bentuk grafik, kemudian diinterpretasikan sesuai data yang didapatkan. Selain itu, data hasil optimasi aktivitas enzim tersebut juga dianalisis menggunakan *one ways* ANOVA untuk mengetahui adanya pengaruh variasi suhu. Apabila hasil tersebut menunjukkan perbedaan signifikan, maka analisis dilanjutkan dengan uji *Tukey* untuk mengetahui perlakuan yang memberikan pengaruh berbeda nyata pada beberapa variasi suhu.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

*Penicillium sublateritium* hasil isolasi dari batubara pada penelitian ini dilakukan beberapa tahapan yang meliputi peremajaan, uji kualitatif menggunakan iodine, pembuatan kurva pertumbuhan dan produksi enzim  $\alpha$ -amilase sehingga jamur tersebut siap untuk dilakukan uji aktivitas enzim secara kuantitatif. *Penicillium sublateritium* yang digunakan merupakan hasil isolasi dari penelitian sebelumnya (Khoir, 2018) yang diketahui memiliki aktivitas amilolitik dengan indeks sebesar 1,33. Jamur hasil isolasi tersebut belum dilakukan karakterisasi lebih lanjut sehingga pada penelitian ini dilakukan optimasi aktivitas enzim pada variasi suhu 25, 30, 35, 40 dan 45°C.

#### 4.1. Peremajaan Jamur *Penicillium sublateritium*

*Penicillium sublateritium* yang digunakan pada penelitian ini berasal dari penelitian sebelumnya dan disimpan di lemari pendingin, sehingga perlu dilakukan peremajaan terlebih dahulu. Peremajaan bertujuan untuk mengaktifkan biakan jamur dan mendapatkan biakan yang baru dan muda. Peremajaan jamur dilakukan dengan menggunakan metode *streak* dan media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Waktu inkubasi yang digunakan dalam peremajaan jamur adalah 7 hari, karena pada waktu tersebut telah terjadi proses sporulasi dan pigmentasi. Hasil peremajaan tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil peremajaan jamur *Penicillium sublateritium*

*Penicillium sublateritium* berwarna putih pada bagian atas koloni jamur dan bagian bawah berwarna keabu-abuan. Adapun pada pengamatan secara mikroskopik menunjukkan bentuk hifa dengan ujung bercabang dan bersekat-sekat dengan ujung hifa lebih besar dari bagian hifa (Khoir,2018).

#### 4.2 Uji Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase secara Kualitatif

Uji aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dari *penicillium sublateritium* secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui kemampuan jamur dalam memproduksi enzim  $\alpha$ -amilase yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Zona bening yang terbentuk menunjukkan bahwa enzim tersebut dapat menghidrolisis pati menjadi glukosa. Zona bening tidak memberikan warna karena pada zona tersebut pati telah terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana. Jamur tersebut diuji aktivitas enzim amilolitiknya pada media PDA-Pati 1% (Gambar 4.2).



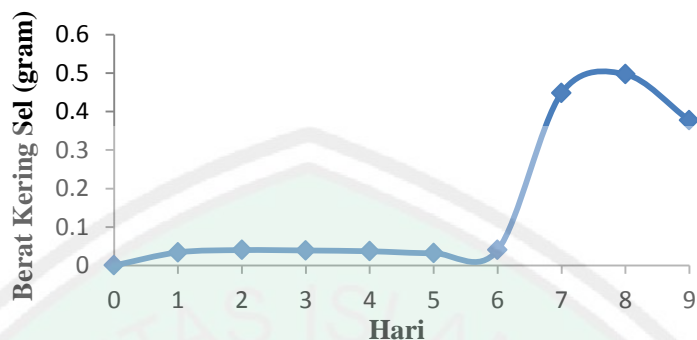
Gambar 4.2 Uji Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase jamur *Penicillium sublateritium*

Berdasarkan gambar diatas diperoleh nilai indeks amilolitik sebesar 1,58. Indeks amilolitik ditentukan berdasarkan persamaan pada Lampiran 3.2. Zona bening yang dihasilkan oleh jamur tersebut termasuk kategori rendah karena memiliki diameter sebesar 1,36 cm. Menurut Dar, dkk. (2015) zona bening dengan kisaran diameter 0,5-1,9 cm termasuk dalam kategori rendah. Pada penelitian sebelumnya oleh Khoir (2018) aktivitas enzim amilase yang diperoleh sebesar 1,33.

#### 4.3 Penentuan Kurva Pertumbuhan Jamur *Penicillium sublateritium*

Pembuatan kurva tersebut bertujuan untuk mengetahui waktu panen terbaik selama proses pertumbuhannya. Pembuatan kurva pertumbuhan jamur didasarkan pada berat kering sel selama 9 hari. Inokulum jamur yang digunakan pada tahap ini memiliki *Optical Density* (OD) sebesar 2,118 dan siap digunakan untuk pembuatan kurva pertumbuhan. Nilai OD pada jamur yang dapat digunakan untuk menentukan berat kering spora minimal memiliki OD 0,5, nilai tersebut menunjukkan bahwa inokulum telah mencapai  $8 \times 10^6$  sel/mL dan siap untuk

dilakukan analisis (Nicholls dan Morris, 1978). Kurva pertumbuhan *Penicillium sublateritium* ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Kurva pertumbuhan *Penicillium sublateritium*

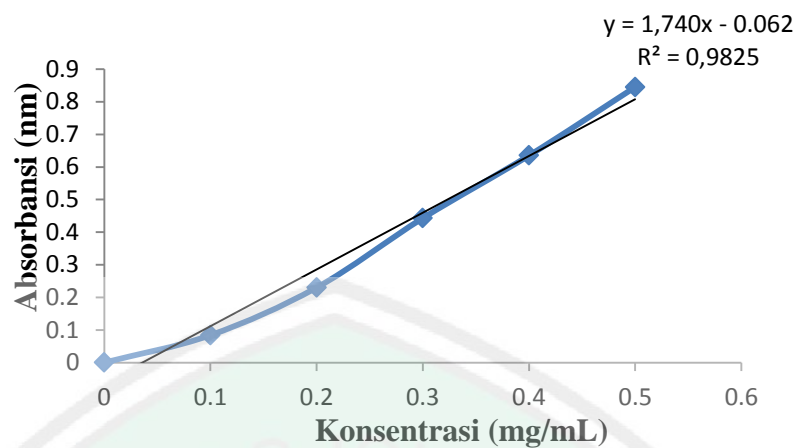
Berdasarkan kurva pertumbuhan pada Gambar 4.3, hari ke-1 sampai hari ke-6 merupakan fase adaptasi yang ditandai dengan tidak adanya peningkatan jumlah sel. Faktor yang menyebabkan lamanya fase adaptasi adalah media pertumbuhan. Pada fase tersebut kemungkinan terjadi adaptasi kembali oleh sel pada lingkungan pertumbuhan yang baru. Proses tersebut dapat mencakup perbaikan kerusakan makromolekul dan sintesis komponen seluler yang diperlukan untuk pertumbuhan (Rolfe, dkk., 2011). Hari ke-7 merupakan fase eksponensial yang ditandai dengan kenaikan massa sel secara signifikan. Kenaikan massa sel menunjukkan bahwa pada fase tersebut sel menjadi aktif dan terjadi metabolisme dan sintesis produk asam seperti asam piruvat, asam nukleat dan senyawa makromolekul lainnya (Rachman, dkk., 2016). Hari ke-7 sampai hari ke-8 merupakan fase stasioner, fase ini terjadi ketika pertumbuhan jamur berhenti dan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang tumbuh dan sel yang mati. Fase kematian diduga terjadi pada hari ke-8 sampai hari ke-9 yang ditunjukkan dengan

berat kering sel yang mengalami penurunan. Kematian sel terjadi karena tidak tersedianya nutrisi dan cadangan energi sehingga sel tidak dapat tumbuh dengan baik. Selain itu kematian sel juga bergantung pada jenis mikroba.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Jakovljevic, dkk. (2014). yang menunjukkan kurva pertumbuhan *Penicillium chrysogenum* memiliki fase eksponensial pada hari ke-6 (Gambar 2.5). Fase tersebut ditandai dengan kenaikan berat sel yang cukup signifikan yaitu pada hari ke-3 sebesar 0,6 gram dan mengalami kenaikan pada hari ke-6 yaitu sebesar 1,3 gram. Penelitian lainnya dilakukan oleh Benlucankar, dkk. (2016) pada *Penicillium sp.* yang menunjukkan fase eksponensial pada hari ke-6. Pada fase tersebut terjadi kenaikan massa sel yang sangat signifikan yaitu pada hari ke-4 sebesar 0,15 gram dan mengalami kenaikan pada hari ke-6 sebesar 0,75 gram.

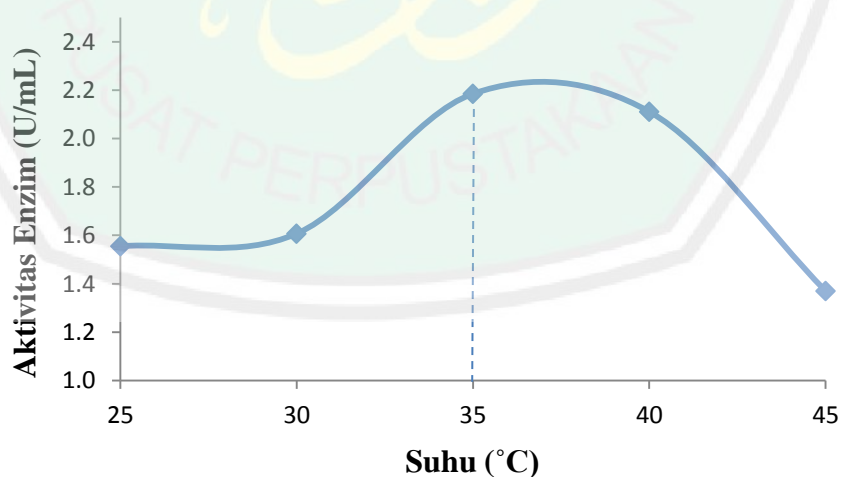
#### **4.4 Uji Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase dengan Variasi Suhu menggunakan Metode Dinitrosalicylic Acid (DNS)**

Uji aktivitas enzim pada penelitian ini merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan jamur dalam menghasilkan enzim  $\alpha$ -amilase. Uji aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase menggunakan metode DNS bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase berdasarkan jumlah gula pereduksi yang terbentuk. Kurva standar glukosa menunjukkan hubungan antara konsentrasi glukosa dengan absorbansinya. Pada penelitian ini panjang gelombang yang digunakan untuk menentukan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase adalah 540 nm. Persamaan linier yang diperoleh adalah  $y = 1,740x - 0,062$  dengan nilai korelasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9825 yang menunjukkan linearitas yang tinggi (Gambar 4.4).



Gambar 4.4 Kurva standar glukosa

Aktivitas enzim pada umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah suhu. Pada penelitian ini uji aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan pada berbagai kondisi suhu yaitu 25, 30, 35, 40 dan 45°C. Aktivitas enzim yang diperoleh sebelum dilakukan optimasi suhu adalah sebesar  $2,111 \pm 0,288$  U/mL pada suhu ruang. Hasil optimasi suhu tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Hubungan suhu dan aktivitas enzim

Berdasarkan Gambar 4.5 dapat diketahui bahwa aktivitas  $\alpha$ -amilase mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya suhu. Pada suhu 25°C diperoleh aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase sebesar  $1,580 \pm 0,092$  U/mL, kemudian aktivitas tersebut mengalami peningkatan mencapai  $2,239 \pm 0,1$  U/mL pada suhu 35°C dan telah mencapai aktivitas maksimum. Pada suhu 45°C aktivitas enzim mengalami penurunan dengan aktivitas sebesar  $1,528 \pm 0.037$  U/mL. Contoh perhitungan aktivitas enzim dapat dilihat pada Lampiran 3.6.2. Besar dan kecilnya aktivitas enzim terjadi karena reaksi yang menggunakan katalis enzim dapat dipengaruhi oleh suhu. Pada suhu rendah reaksi yang terjadi berlangsung lambat, sedangkan pada suhu tinggi reaksi berlangsung lebih cepat. Selain itu, enzim merupakan suatu protein sehingga kenaikan suhu dapat menyebabkan denaturasi. Ketika terjadi proses denaturasi maka sisi aktif enzim akan terganggu dan terjadi penurunan konsentrasi enzim dan kecepatan reaksinya akan mengalami penurunan. Kenaikan suhu sebelum terjadi denaturasi dapat menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi kenaikan suhu pada saat mulai terjadi proses denaturasi dapat mengurangi kecepatan reaksi. Kedua pengaruh tersebut merupakan penyebab terjadinya titik optimum.

Hasil penelitian ini menunjukkan aktivitas  $\alpha$ -amilase yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Onofre, dkk. (2016). Pada penelitian tersebut dilakukan karakterisasi  $\alpha$ -amilase pada *Penicillium digitatum* dengan perolehan aktivitas sebesar 1,625 U/mL pada suhu optimum 37°C. Hal ini disebabkan karena perbedaan jamur yang digunakan untuk memproduksi  $\alpha$ -amilase.

Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Manivannan dan Kathiresan (2005) yaitu optimasi  $\alpha$ -amilase pada *Penicillium fellutanum* dan diperoleh aktivitas sebesar 98 U/mL pada suhu 30°C. Berdasarkan penelitian ini dan beberapa penelitian terkait menunjukkan bahwa  $\alpha$ -amilase pada berbagai jenis jamur memiliki perbedaan suhu optimum. Menurut Pathak, dkk. (2014) dari berbagai studi yang telah dilakukan,  $\alpha$ -amilase pada beberapa jenis jamur umumnya memiliki suhu optimum pada rentang 25-37°C.

#### 4.5 Analisis Statistik

Hasil analisis statistik menggunakan ANOVA terhadap penentuan suhu optimum aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase pada Lampiran 3.6.1 menunjukkan nilai signifikansi sama dengan 0. Nilai tersebut berarti bahwa variasi suhu memberikan pengaruh terhadap aktivitas enzim, sehingga diperlukan uji lanjut menggunakan uji *Tukey* untuk mengetahui adanya perbedaan dari variasi suhu.

Tabel 4.1 Hasil Uji *Tukey* Pada Analisis Statistik

	Suhu	N	Subset for alpha = 0,05	
			1	2
<b>Tukey HSD</b>	45	3	1,52833 <sup>a</sup>	
	25	3	1,57967 <sup>a</sup>	
	30	3	1,60467 <sup>a</sup>	
	40	3		2,12333 <sup>b</sup>
	35	3		2,23867 <sup>b</sup>

Berdasarkan uji *Tukey* pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa pada suhu 25, 30, dan 45°C tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata disimbolkan dengan notasi A, sedangkan pada suhu 35 dan 40°C memberikan hasil yang berbeda nyata disimbolkan dengan notasi B. Suhu optimum berdasarkan hasil analisis statistik

ditunjukkan pada suhu 35 dan 40°C, namun aktivitas tertinggi terdapat pada suhu 35°C. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pada suhu tersebut merupakan suhu optimum enzim  $\alpha$ -amilase dengan aktivitas sebesar  $2,239 \pm 0,1$  U/mL.

#### 4.6 Kajian Penelitian dalam Prespektif Islam

Allah SWT menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini dengan segala manfaat yang terkandung di dalamnya tidak lain adalah untuk mencukupi kebutuhan makhluk-Nya. Manfaat tersebut diciptakan agar sesama makhluk dapat saling menguntungkan, sehingga akan tercipta keseimbangan hidup. Allah SWT berfirman dalam QS. Az-Zumar ayat 21:

أَمْ تَرَى أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنَابِيعٌ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ  
ثُمَّ يَهْبِجُ فَتَرَاهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطْمًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِ الْأَلْبَابِ ﴿١٢﴾

Artinya: “Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit, maka diatur-Nya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanaman-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal” (QS. Az-Zumar: 21).

Berdasarkan ayat diatas, lafadz *ثم يجعله حطما* diartikan “kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai” diambil dari kalimat *tahathtamaal* ‘uud yang artinya kayu yang remuk karena kering (al-Qurtubi, 2009). Fenomena kayu yang remuk karena kering sama halnya dengan tumbuh-tumbuhan yang awalnya berwarna hijau namun karena berbagai faktor dapat menyebabkan tumbuhan menjadi kering. Sisa-sisa tumbuhan ini merupakan salah satu bahan pembentukan batubara

yang termasuk sumber utama diisolasinya jamur *Penicillium sublateritium*, sehingga dapat diketahui bahwa didalam jamur tersebut terdapat aktivitas berupa enzim  $\alpha$ -amilase yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang kehidupan.

Enzim  $\alpha$ -amilase yang diproduksi dari *Penicillium sublateritium* memerlukan media berupa PDA-Pati. Enzim tersebut akan disekresikan pada media yang mengandung pati. Hal ini dapat dikaitkan dengan firman Allah SWT dalam QS. al-Imran ayat 27:

تُولِجُ اللَّيْلَ فِي النَّهَارِ وَتُولِجُ النَّهَارَ فِي اللَّيْلِ وَتُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَتُخْرِجُ الْمَيِّتَ مِنَ الْحَيِّ وَتَرْزُقُ مَنْ تَشَاءُ بِعَيْرِ حِسَابٍ ﴿٢٧﴾

Artinya: “Engkau masukkan malam ke dalam siang dan engkau masukkan siang ke dalam malam. Engkau keluarkan yang hidup dari yang mati dan Engkau keluarkan yang mati dari yang hidup. dan Engkau beri rizki siapa yang Engkau kehendaki tanpa hisab (batas)” (QS. Al-Imran: 27).

Lafadz *وتخرج الحي من الميت وتخرج الميت من الحي* pada ayat diatas memiliki arti “Engkau keluarkan yang hidup dari yang mati, dan Engkau keluarkan yang mati dari yang hidup”. Menurut Syaikh (2007) Allah SWT mengeluarkan tanaman dari biji-bijian dan biji-bijian dari tanaman, pohon kurma dari bijinya dan lain-lain. Sama halnya pada penelitian ini enzim  $\alpha$ -amilase sebagai sesuatu yang mati dikeluarkan dari sesuatu yang hidup yakni jamur *Penicillium sublateritium*. Allah menciptakan segala sesuatu dengan kadarnya masing-masing. Demikian pula dengan enzim  $\alpha$ -amilase yang berasal dari jamur tersebut juga memiliki karakteristik yang berbeda dibandingkan pada jamur jenis lain. Pada penelitian ini diketahui bahwa karakteristik enzim tersebut optimum pada suhu 35°C dengan aktivitas tertinggi sebesar 2,239 U/mL.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa *Penicillium sublateritium* memiliki waktu pertumbuhan optimum pada hari ke-7 dengan aktivitas sebesar 2,111 U/mL. Waktu pertumbuhan tersebut merupakan waktu terbaik yang digunakan untuk produksi enzim. Adapun enzim  $\alpha$ -amilase hasil optimasi suhu memiliki aktivitas optimum pada suhu 35°C sebesar 2,239 U/mL.

#### 5.2 Saran

Sampel yang digunakan pada penelitian ini merupakan ekstrak kasar enzim  $\alpha$ -amilase, sehingga perlu dilakukan pemurnian untuk memperoleh aktivitas spesifik dari enzim tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadi, A., Ghobadi, S., Khajeh, K., Nomanpour, B., dan Dalfard, A. B. 2010. Purification of  $\alpha$ -Amilase from *Bacillus* sp. GHA1 and Its Partial Characterization. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 7: 432-440.
- Anbu, P., Gopinath, S. C. B., Chaulagain, B. P., dan Lakshmipriya, T. 2017. Microbial Enzyme and Their Applications in Industries and Medicine. *Biomed Research International*. 2017: 1-3
- Arora, N., Kaur, S., dan Kaur, S. 2017. Use of Agro Industrial Residues for the Production of Amylase by *Penicillium* sp. For Applications in Food Industry. *Journal of Biotechnology and Biomaterials*, 7: 1-4.
- Atmaja, D. S., Wuryanti, dan Ahma, K. 2013. Isolasi, Purifikasi, dan Karakterisasi  $\alpha$ -Amilase dari *Trichoderma viride* FNCC 6013. *Jurnal Chem Info*. 1: 85-93.
- Benluvankar, V., Priya, S. E., dan Gnanadoss, J. J. 2016. Medium Formulation and its Optimization for Increased Protease Production by *Penicillium* sp. LCJ228 and its Potential in Blood Stain Removal. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. 4: 20-16.
- British Broadcasting Corporation (BBC). 2013. Global Markets For Enzymes in Industrial Application. *Research Market Forecasting*.
- Corradini, M. G., dan Peleg, M. 2005. Estimating non-Isothermal Bacterial Growth in Foods from Isothermal Experimental Data. *Journal of Applied Microbiology*, 99: 187-200.
- Dar, M. A., Pawar, K. D., Jandhav, J. P., dan Pandit, R. S. 2015. Isolation of Cellulolytic Bacteria from the Gastrointestinal Tract of *Achtina Fulica* (Gastropoda: Pulmonata) and their Evaluation for Cellulose Biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 98: 73-80.
- El-Fallal, A., Dohara, M. A., El-Sayed. A., dan Omar, N. 2012. Starch dan Microbial  $\alpha$ -Amylase: From Concepts to Biotechnological Applications. *Carbohydrates Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology*.
- Erdal, S dan Taskin, M. 2010. Production of  $\alpha$ -Amylase by *Penicillium expansum* MT-1 in Solid-State Fermentation Using Waste Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindley) Kernels as Substrate. *Romanian Biotechnological Letters*, 15: 5342-5349.
- Fardiaz, S. 1992. *Strategi Riset Mikrobiologi Pangan*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.

- Filho, S. A., Galembeck, E. V., Faria, J. B dan Frascino, A. C. S. 1986. Stable Yeast Transformants that Secrete Functional  $\alpha$ -Amylase Encoded by Cloned Mouse Pancreatic cDNA. *National Biotech*, 4: 311-315.
- Gandjar, I, dkk. 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Jakarta: Yayasan Obor. Indonesia
- Gandjar, I., W. Sjamsurijal dan A. Oetari. 2006. *Mikrobiologi Dasar dan Terapan* Jakarta: Erlangga.
- Gomori, G. 2004. Preparation of Buffers for Use in Enzyme Studies.
- Gopinath, S. C. B., Anbu, P., Arshad, M. K., Lakshmipriya, T., Voon, C. H., Hashim, U dan Chinni, S. V. 2017. Biotechnology Process in Microbial Amylase Production. *BioMed Research International*, 2017: 1-9.
- Gurung, N., Sumanta, R., Sutapa, B dan Vivek, R. 2013. A Broader View: Microbial Enzymes and Their Relevance in Industries, Medicine and Beyond. *BioMed Research International*, 2013: 1-18.
- Hamdani. 2008. Deteksi dan Produksi Amilase. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2: 1022-1029.
- Held, P. 2012. *Enzymatic Digestion of Polysaccharides*. www.biotek.com.
- Irdawati, F. M., dan Biomed, M. 2011. Isolasi Bakteri Termofilik Penghasil Amilase dari Sumber Air Panas Rimbo Panti Pasaman. *Skripsi*. Padang: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.
- Jakovljevic, V., Milicevic, J., dan Stojanovic, J. 2014. Detergent-like Stressor and Nutrient in Metabolism of *Penicillium chrysogenum*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 28: 43-51.
- Judoamidjojo, S. G., dan Liesbetini, H. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.
- Kathiresan, K., dan Manivannan, S. 2006.  $\alpha$ -Amylase Production by *Penicillium fellutanum* Isolated from Mangrove rizhosphere Soil. *African Journal Biothechnology*. 5: 829-832.
- Khoir, M. S. 2018. Identifikasi Molekuler Jamur Isolat Batu Bara berdasarkan Sekuen Daerah Internal Transcribe Spacer (ITS). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Kombong, H. 2004. Evaluasi Daya Hidrolitik Enzim Glukoamilase dari Filtrat Kultur *Aspergillus niger*. *Jurnal Ilmu Dasar*. 5: 16-20.

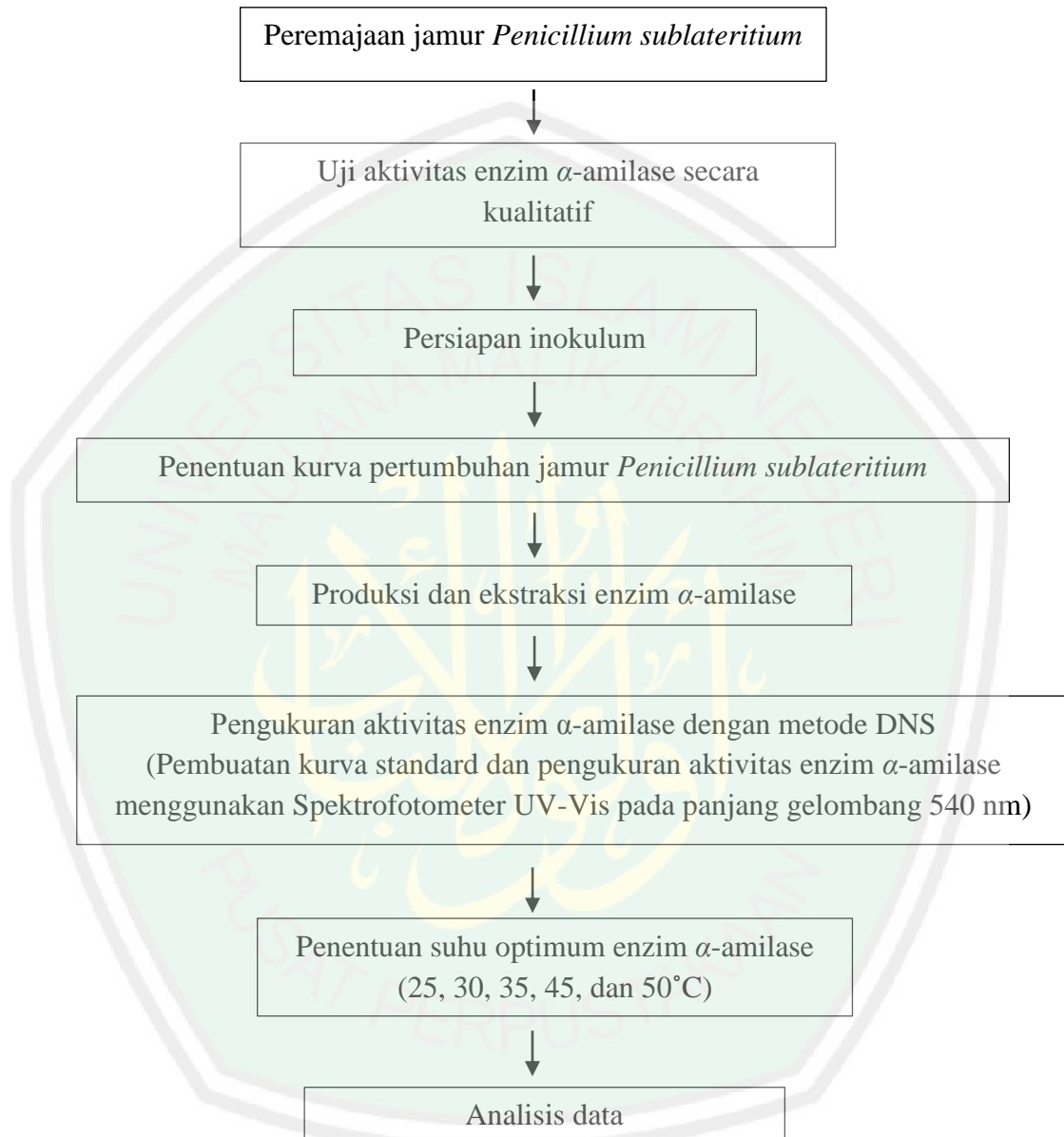
- Kowalski, S., Lukaszewicz, M., dan Berski, W. 2013. Applicability of Physico-Chemical Parameters of Honey for Identification of The Botanical Origin. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 12: 51-59.
- Kusmiati dan Agustini, N. W. S. 2010. Pemanfaatan Limbah Onggok untuk Produksi Asam Sitrat dengan Penambahan Mineral Fe dan Mg pada Substrat menggunakan Kapang *Trichoderma sp.* dan *Aspergillus niger*. *Seminar Nasional Biologi*: 856-866.
- Lay, B. W. dan Sugyo, H. 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Lehninger, A. L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia*. Jilid 1. Jakarta: Erlangga.
- Lone, M. A., Wani, M. R., Bhat, N. A., Sheikh, S. A. and Reshi, M. A. 2012. Evaluation of Cellulase Enzyme Secreted by Some Common and Stirring Rhizosphere Fungi of *Junglans Regia L.* by DNS Method. *Journal of Enzyme Research*, 3: 18-22.
- Manonmani, H. K., dan Kunhi, A. A. M. 1999. Secretion to the Growth Medium of an  $\alpha$ -Amilase by *Escherichia coli* Clones Carrying a *Bacillus laterosporus* gene. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15: 475-480.
- Myers. 2000. *Interrelationship Between Carbohydrate and Lipid Metabolism*. California: California State University.
- Nascimento, V., Castro, H., dan Abreu, P. 2011. In Silico Structural Characteristics and  $\alpha$ -Amilase Inhibitory Properties of Ric c 3, Allergenic 25 Albumins from *Ricinus communis* Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 15: 481-482.
- Nicholls, P. J., dan Morris, S. C. 1978. An Evaluation of Optical Density to Estimate Fungal Spore Concentrations in Water Suspensions. *The American Phytopathological Society*, 68: 1240-1242.
- Nouadri, T., Meraihi, Z., Shahrazed, D. D., dan Leila, B. 2010. Purification and Characterization of the  $\alpha$ -Amylase Isolated from *Penicillium camemberti* PL21. *African Journal of Biochemistry Research*. 4: 155-162.
- Noviyanti, T., Ardiningsih, P., dan Rahmalia, W. 2012. Pengaruh Temperatur Terhadap Aktivitas Enzim Protease dari Daun Sansakng (*Pycnarrhena cauliflora Diels*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 1: 31-34.
- Olama, Z. A., dan Sabry, S. A. 2008. Extracellular Amylase Synthesis by *Aspergillus Flavus* and *Penicillium purpurescence*. *Journal of Islamic Academy of Sciences*, 4: 272-276.

- Onofre, S. B., Abatti, D., Refos, D., Tessaro, A. A., Onofre, J. A. B., dan Tessaro, A. B. 2016. Characterization of  $\alpha$ -Amylase Produced by the Endhopytic Strain of *Penicillium digtatum* in Solid State Fermentation (SSF) and Submerged Fermentation (SMF). *Academic Journals*, 15: 1511-1519.
- Pangastuti, A., Wahjuningrum, D. dan Suwanto, A. 2002. Isolasi, Karakterisasi, dan Kloning Gen Penyandi  $\alpha$ -Amilase Bakteri Halofilik Moderat Asal Bledug Kuwu. *Jurnal Hayati*, 9: 10-14.
- Pathak, S. S., Kumar, S., Rajak, R. C., dan Sandhu, S. S. 2014. Study of Effect of Temperature on Amylase Production by Soil Mycotic Flora of Jabalpur Region. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3: 1448-1458.
- Pelczar, M. J dan Chan, E. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pitarini, D. 2014. Isolasi Jamur Selulolitik dalam Batubara serta Uji Aktivitas Selulolitiknya pada Berbagai pH. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Pradeep, Stainly, F., Begam, M. S., Palaniswami, M., dan Pradeep, B. V. 2013. Influence of Culture Media on Growth and Pigment Production by *Fusarium moniliforme* KUMBF1201 Isolated from Paddy Field Soil. *World Applied Sciences Journal*. 22: 70-77.
- Purba, E. 2009. Hidrolisis Pati Ubi Kayu (*Manihot Esculenta*) dan Pati Ubi Jalar (*Impomonea batatas*) menjadi Glukosa secara Cold Process dengan Acid Fungal Amilase dan Glukoamilase. *Jurnal Universitas Lampung*. Lampung.
- Rafsen, H. 2018. Optimasi Produksi dan Karakterisasi Enzim  $\alpha$ -Amilase dari Isolat Bakteri Termofil *Bacillus sp* RSSII<sub>4B</sub> Sumber Air Panas Lejja Soppeng Sulawesi Selatan. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Makassar.
- Regulapati, R., Malav, Pn., dan Gummandi, SN. 2007. Production of Thermostable Alpha Amylase by Solid State Fermentation. *A Review*, 1: 39-50.
- Robia dan Sutrisno, A. 2015. Karakteristik Sirup Glukosa dari Tepung Ubi Ungu (Kajian Suhu Likuifikasi dan Konsentrasi  $\alpha$ -Amylase). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3: 1531-1537.
- Rodwell, V. W. 1987. *Harper's Review of Biochemistry*. Jakarta: EGC Kedokteran.

- Rolfe, M. D., Rice, C. J., Lucchini, S., Pin, C., Thompson, A., Cameron, A. D. S., Alston, M., Stringer, M. F., Betts, R. P., Naranyi, J., Michaels, W., dan Hinton, J. C. D. Lag Phase Is A Distinct Growth Phase That Prepares Bacteria for Exponential Growth and Involves Transient Metal Accumulations. *Journal Bacteriol.* 3: 686-701.
- Ruzki, A. 2013. Bio-Degradasi Selulosa Hasil Bio-Pretreatment Jerami Padi Secara Fermentasi Padat Menggunakan Isolat *Actinomycetes* AcP-1 dan AcP-7. *Skripsi*. Lampung: Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Lampung.
- Sadasivam and Manickam. 2008. Biochemical Methods, Third Edition, Published by New Age International (P) Ltd: New Delhi.
- Sadikin, M. 2002. *Biokimia Enzim*. Jakarta: Widya Medika.
- Safitri, D., dan Samingan. 2013. Isolasi dan Identifikasi Fungi Amilolitik pada Bonggol Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.). *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi* . 5: 29-35.
- Sahoo, K., Dhal, N. K., dan Das, R. 2014. Production of Amylase Enzyme from Mangrove Fungal Isolates. *African Journal of Biotech*, 46: 4338-4346.
- Sivaramkrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K. M., Soccol, C. R dan Pandey, A. 2006.  $\alpha$ -Amylase From Microbial Source- An Overview on Recent Developments. *Food Technology Biotechnology*, 44: 173-184.
- Souza, P.M ., dan Magalhaes, P. 2010. Application of Microbial  $\alpha$ -Amylase in Industry. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41: 850-861.
- Suganthi, R., Benazir, J.F., Santhi R., Kumar R.V., Hari A., Meenakshi N., Nidhiya K.A., Kavhita G., dan Lakshmi R., 2011. Amylase Production by *Aspergillus niger* under Solid State Fermentation Using Agroindustrial Wastes. *International Journal Of Engineering Science and Technology (IJEST)*, 3: 1756-1763.
- Wilbraham, C., dan Michael, B, Matta. 1992. *Pengantar Kimia Organik dan Hayati*. Bandung: Penerbit ITB.
- Winarno, F. G. 2010. *Enzim Pangan*. Bogor: M-Brio Press.
- Woiciechowski, A. L., Nitsche, S., Pandey, A., dan Soccol, C. R. 2002. Acid and Enzymatic Hydrolysis to Recover Reducing Sugars from Cassava bagasse. *Braz Arch Bio Technology*. 45: 393-400.
- Yusrin dan Mukaromah, A. H. 2010. Proses Hidrolisis Onggok dengan Variasi Asam pada Pembuatan Etanol. *Jurnal UNMUS*. 9: 20-25.

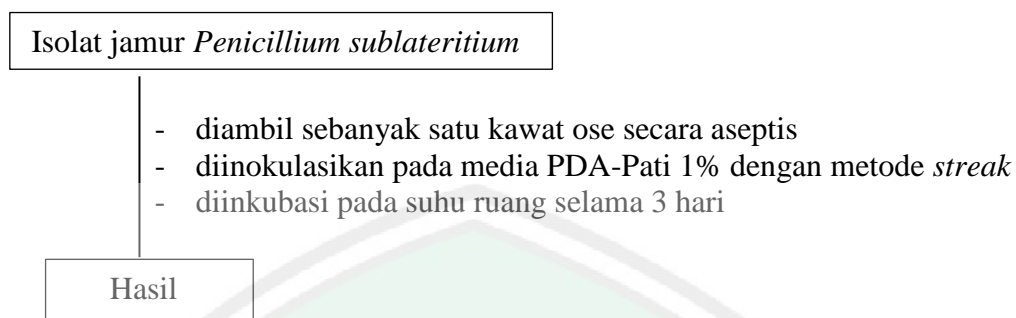
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Rancangan Penelitian

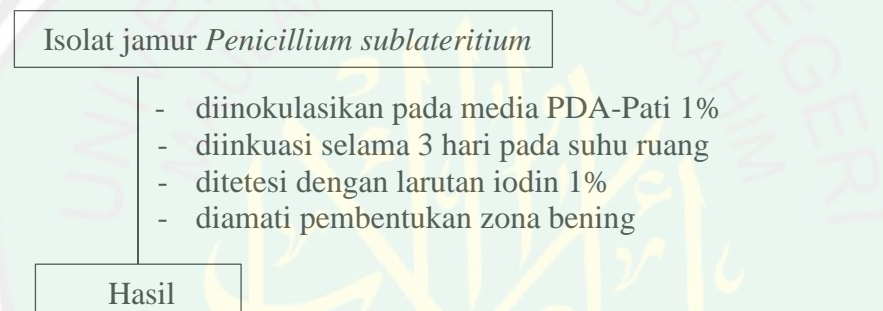


## Lampiran 2. Diagram Alir

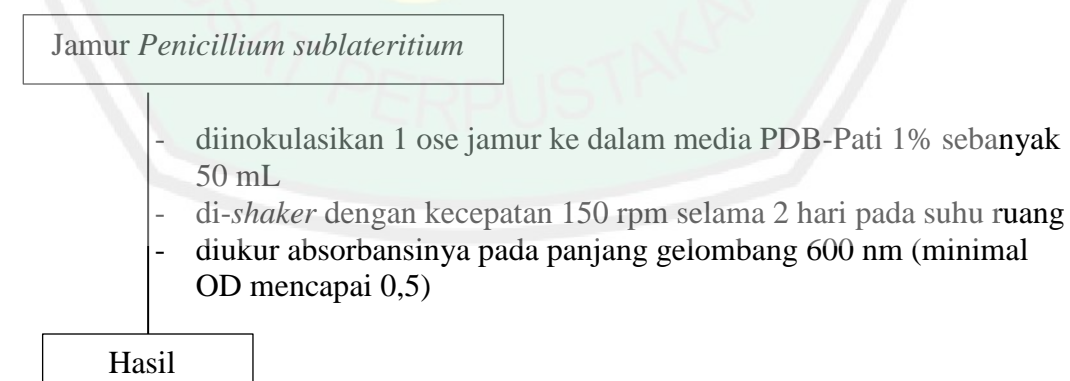
### L.2.1 Peremajaan Jamur *Penicillium sublateritium*



### L.2.2 Uji Kualitatif Enzim $\alpha$ -Amilase



### L.2.3 Persiapan Inokulum



#### L.2.4 Penentuan Kurva Pertumbuhan Jamur *Penicillium sublateritium*

##### Jamur *Penicillium sublateritium*

- ditumbuhkan dalam media PDB-Pati 1%
- diisi 10 buah tabung dengan media dan inokulum yang telah dibuat sebelumnya
- ditambahkan inokulum dan media pada tiap 3 buah tabung dengan perbandingan 1:9, 5:45, 10:90 mL dan satu buah lainnya dijadikan control (blanko)
- diinkubasi pada suhu ruang
- di-*shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 9 hari
- diambil tiap 24 jam sekali (dimulai dari hari ke 1 sampai hari ke 9) untuk diukur berat keringnya

##### Berat kering jamur *Penicillium sublateritium*

- disaring massa sel dalam 50 mL kultur
- dicuci dengan aquades
- dikeringkan dengan oven pada suhu 80°C selama 24 jam atau hingga diperoleh berat konstan

Hasil

#### L.2.5 Produksi dan Ekstraksi Enzim $\alpha$ -Amilase

##### Inokulum *Penicillium sublateritium*

- dipindahkan sebanyak 10 mL inokulum secara aseptik ke dalam media PDB-pati 1% dengan volume 90 mL
- diinkubasi pada suhu ruang dengan waktu optimum sesuai dengan kurva pertumbuhan
- disaring dan disentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm selama 10 menit

Filtrat

Endapan

- diambil dan digunakan sebagai ekstrak kasar enzim  $\alpha$ -amilase

Hasil

## L.2.6 Pengukuran Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase dengan Metode DNS

### L.2.6.1 Pembuatan Kurva Standar

Larutan standar glukosa 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 mg/mL

- diambil sebanyak 1 mL
- dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan 1 mL pereaksi DNS
- ditempatkan dalam air mendidih selama 10 menit
- dibiarkan sampai dingin pada suhu ruang
- ditambahkan aquades hingga volume 5 mL
- diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm

Hasil

### L.2.6.2 Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase

Kontrol

- diinkubasi 0,5 mL larutan pati 0,05% selama 15 menit pada suhu ruang
- ditambah 0,1 mL ekstrak kasar enzim dan 0,4 mL buffer pH 7
- ditambahkan 1 mL DNS
- dipanaskan campuran tersebut dalam air mendidih selama 10 menit
- dibiarkan sampai dingin pada suhu ruang
- ditambahkan aquades hingga volume 10 mL dan di-*vortex*
- diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm

Hasil

0,1 mL ekstrak kasar enzim

- ditambah 0,4 mL buffer pH 7
- ditambah 0,5 mL larutan pati 0,05%
- diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang
- ditambahkan 1 mL DNS
- dipanaskan campuran tersebut dalam air mendidih selama 10 menit
- dibiarkan sampai dingin pada suhu ruang
- ditambahkan aquades hingga volume 10 mL dan di-*vortex*
- diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm

Hasil

### L.2.7 Penentuan Suhu Optimum Enzim $\alpha$ -Amilase

0,1 mL ekstrak kasar enzim

- ditambah 0,4 mL buffer pH 7
- ditambah 0,5 mL larutan pati 0,05%
- diinkubasi dengan variasi suhu 25, 30, 35, 40 dan 45°C selama 15 menit
- ditambahkan 1 mL DNS
- dipanaskan campuran tersebut dalam air mendidih selama 10 menit
- dibiarkan sampai dingin pada suhu ruang
- ditambahkan aquades hingga volume 5 mL dan di-*vortex*
- diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm

Hasil

### Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Larutan

#### L.3.1 Pembuatan Media dan Reagen

##### L.3.1.1 Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) – Pati 1%

Sebanyak 39 gram serbuk PDA dan 10 gram pati dilarutkan dalam 1 liter akuades, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* sampai mendidih sambil diaduk hingga terlarut sempurna. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 lbs selama 15 menit (Juwita, dkk., 2012).

##### L.3.1.2 Media *Potato Dextrose Broth* (PDB) – Pati 1%

Sebanyak 24 gram serbuk PDA dan 10 gram pati dilarutkan dalam 1 liter akuades, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* sampai mendidih sambil diaduk hingga terlarut sempurna. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 lbs selama 15 menit (Juwita, dkk., 2012).

##### L.3.1.3 Larutan iodin 1% (v/v)

Larutan yang diketahui dimisalkan iodin 10% dalam 100 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$0,1 \times V_1 = 0,01 \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1/0,1 = 10 \text{ mL}$$

Jadi dibutuhkan 10 mL larutan iodin dalam larutan iodin 10% untuk membuat larutan iodin 1%.

##### L.3.1.4 Larutan Buffer Fosfat 0,05 M pH 7

Larutan buffer fosfat 0,05 M pH 7 dibuat dengan mencampurkan 2,663 gram  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  sebanyak 4,312 gram dan dilarutkan dalam aquades sampai 1 L.

Perhitungan:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \left[ \frac{\text{Na}_2\text{HPO}_4}{\text{NaH}_2\text{PO}_4} \right]$$

$$7 = 7,21 + \log \left[ \frac{\text{Na}_2\text{HPO}_4}{\text{NaH}_2\text{PO}_4} \right]$$

$$\log \left[ \frac{\text{Na}_2\text{HPO}_4}{\text{NaH}_2\text{PO}_4} \right] = -0,21$$

$$\left[ \frac{\text{Na}_2\text{HPO}_4}{\text{NaH}_2\text{PO}_4} \right] = \frac{0,6}{1,0}$$

$$\% \text{Na}_2\text{HPO}_4 = \frac{0,6}{0,6+1,0} \times 100\%$$

$$= \frac{0,6}{1,6} \times 100\%$$

$$= 37,5 \%$$

$$\% \text{NaH}_2\text{PO}_4 = \frac{1,0}{0,6+1,0} \times 100\%$$

$$= \frac{1,0}{1,6} \times 100\%$$

$$= 62,5\%$$

$$\text{gr Na}_2\text{HPO}_4 = \% \times \text{M} \times \text{BM}$$

$$= 0,375 \times 0,05 \times 142$$

$$= 2,663 \text{ gr/L}$$

$$\text{gr NaH}_2\text{PO}_4 = \% \times \text{M} \times \text{BM}$$

$$= 0,625 \times 0,05 \times 138$$

$$= 4,312 \text{ gr/L}$$

### L.3.1.8 Pembuatan Reagen DNS

Sebanyak 1 gram DNS, 1 gram NaOH, 0,05 gram Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> dan 0,2 gram fenol dilarutkan dengan akuades dalam labutakar 100 mL dan dihomogenkan. Larutan disimpan dalam botol gelap pada suhu dingin. Sebanyak 1 mL KNa-Tatrat 40%

ditambahkan segera setelah terbentuknya kompleks warna antara DNS dan gula pereduksi hasil hidrolisis (Miller, 1959).

### L.3.2 Perhitungan Indeks Amilolitik Enzim $\alpha$ -Amilase

$$\text{Indeks amilolitik} = \frac{\text{diameter zona bening}}{\text{diameter koloni}}$$

$$\begin{aligned} \text{Indeks amilolitik} &= \frac{1,36 \text{ cm}}{0,86 \text{ cm}} \\ &= 1,58 \text{ cm} \end{aligned}$$

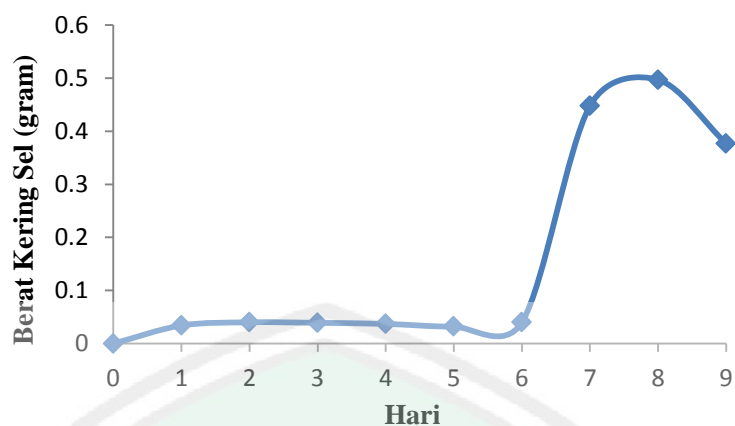
### L.3.3 Kurva Pertumbuhan *Penicillium sublateritium*

#### L.3.3.1 Perhitungan Berat Kering Sel

$$\text{Berat kering sel} = \text{berat total} - \text{berat kertas saring}$$

Tabel L3.1 Berat kering sel *Penicillium sublateritium*

Hari	Berat Total (gram)	Berat Kertas Saring (gram)	Berat Kering Sel (gram)
Ke-0	0	0	0
Ke-1	0,648	0,614	0,034
Ke-2	0,595	0,555	0,040
Ke-3	0,603	0,564	0,039
Ke-4	0,644	0,607	0,037
Ke-5	0,642	0,610	0,032
Ke-6	0,607	0,567	0,040
Ke-7	1,039	0,591	0,448
Ke-8	1,101	0,604	0,497
Ke-9	0,948	0,571	0,377



Gambar L3.1 Kurva pertumbuhan *Penicillium sublateritium*

#### L.3.4 Pembuatan Larutan Standar Glukosa 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 mg/mL dalam 100 mL

Pembuatan stok glukosa baku dengan konsentrasi 5 mg/mL dapat dilakukan sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{larutan stok glukosa} &= \frac{0,5 \text{ gr glukosa}}{100 \text{ mL akuades}} \\ &= 5 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

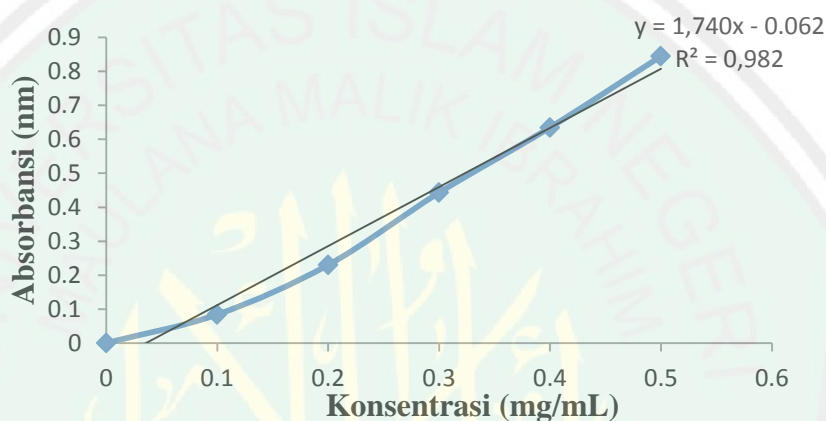
Untuk membuat larutan glukosa 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 mg/mL dapat dilakukan dengan pengenceran larutan stok glukosa baku. Pembuatan larutan glukosa tersebut dapat dilakukan sebagai berikut (Pitarini, 2014):

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$	0,1 mg/mL	0,2 mg/mL	0,3 mg/mL	0,4 mg/mL	0,5 mg/mL
Larutan stok glukosa 5 mg/mL dalam 100 mL	2 mL	4 mL	6 mL	8 mL	10 mL

### L.3.5 Kurva Standar Glukosa

**Tabel L3.2 Data absorbansi glukosa**

Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi
0	0
0,1	0,084
0,2	0,230
0,3	0,443
0,4	0,635
0,5	0,845



Gambar L3.2. Kurva standar glukosa

### L.3.6 Uji Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase menggunakan Metode DNS

#### L.3.6.1 Uji Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase pada Sampel sebelum Optimasi

Data absorbansi sampel ekstrak kasar enzim sebelum dilakukan optimasi dapat dilihat pada Tabel L3.3:

**Tabel L3.3 Data absorbansi sampel sebelum optimasi**

Nama	Kontrol	Absorbansi			Rata-rata
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Sampel	0,843	0,872	0,870	0,899	0,880

Nilai absorbansi yang diperoleh diplotkan ke dalam persamaan linier kurva standar glukosa yaitu  $y = 1,7403x - 0,0622$  dengan ( $y =$  absorbansi) dan  $x$  merupakan konsentrasi gula reduksi (glukosa)

Absorbansi sampel = absorbansi akhir – absorbansi kontrol

$$= 0,880 - 0,843$$

$$= 0,037$$

$$y = 1,740x - 0,062$$

$$0,037 = 1,740x - 0,062$$

$$x = \frac{0,037 + 0,062}{1,740}$$

$$x = 0,056 \times 5$$

$$x = 0,280$$

Perhitungan Uji Aktivitas Enzim:

$$AE = \frac{\text{konsentrasi glukosa (C)}}{\text{BM glukosa} \times \text{waktu inkubasi (t)}} \times \frac{\text{volume total (Vt)}}{\text{volume enzim (Ve)}}$$

$$AE = \frac{0,260 \text{ mg/mL}}{180 \text{ g/mol} \times 15 \text{ menit}} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}}$$

$$= \frac{0,260 \text{ mg/mL}}{180 \times \frac{10^3 \text{ mg}}{10^6 \mu\text{mol}}} \times 20$$

$$= \frac{0,260 \times 10^3 \mu\text{mol}}{180 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}} \times 20$$

$$= \frac{260}{2700} \times 20 = 1,926 \text{ U/mL}$$

Tabel L3.4 Uji aktivitas enzim sebelum optimasi

Suhu Ruang	Aktivitas Enzim (U/mL)			Rata-rata	STDEV
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
	1,926	1,889	2.518	2.111	0,288

### L.3.6.2 Hasil Perhitungan Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase dengan Optimasi Suhu

a. Absorbansi Enzim  $\alpha$ -Amilase sebelum Perhitungan

Tabel L3.5 Data absorbansi uji aktivitas enzim optimasi suhu

Suhu (°C)	Kontrol	Absorbansi (nm)		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
25	0,301	0,313	0,319	0,309
30	0,425	0,430	0,444	0,443
35	0,655	0,693	0,698	0,705
40	0,742	0,788	0,780	0,722
45	0,743	0,755	0,732	0,751

b. Aktivitas Enzim  $\alpha$ -Amilase setelah Perhitungan

Tabel L3.6 Data aktivitas enzim optimasi suhu

Suhu (°C)	Aktivitas Enzim (U/mL)			Rata-rata	STDEV
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
25	1,555	1,703	1,481	1,580	0,092
30	1,407	1,704	1,703	1,605	0,140
35	2,126	2,220	2,370	2,239	0,100
40	2,296	2,111	1,963	2,123	0,136
45	1,578	1,518	1,489	1,528	0,037

## c. Perhitungan Uji Aktivitas Enzim

## 1. Suhu 35°C

$$\begin{aligned}
 \text{AE} &= \frac{C}{\text{BM} \times t} \times \frac{V_t}{V_e} \\
 &= \frac{0,287 \text{ mg/mL}}{180 \text{ g/mol} \times 15 \text{ menit}} \times \frac{10 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \\
 &= \frac{0,287 \text{ mg/mL}}{180 \times \frac{10^3 \text{ mg}}{10^6 \mu\text{mol}}} \times 20 \\
 &= \frac{0,287 \times 10^3 \mu\text{mol}}{180 \text{ mL} \times 15 \text{ menit}} \times 20 \\
 &= \frac{287}{2700} \times 20 = 2,126 \text{ U/mL}
 \end{aligned}$$

Tabel L3.7 Perhitungan uji aktivitas enzim ulangan 1

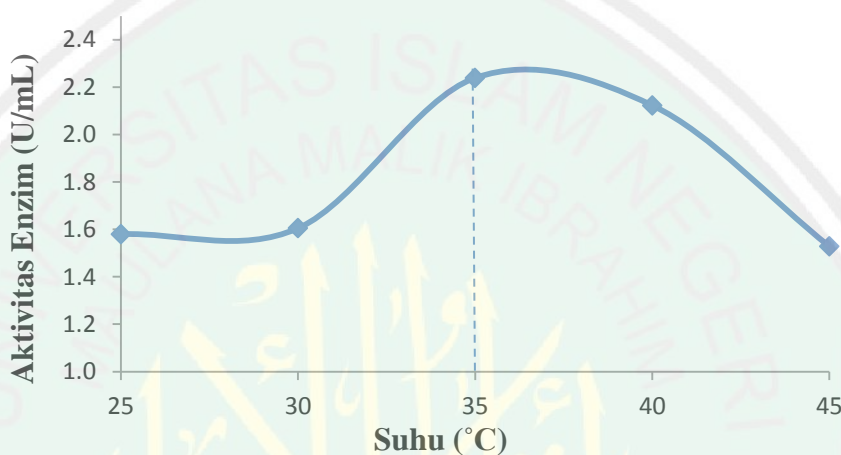
Suhu (°C)	Konsentrasi Glukosa (mg/mL)	BM Glukosa (gr/mol)	Waktu Inkubasi (menit)	Volume Total (mL)	Volume Enzim (mL)	Aktivitas Enzim (U/mL)
25	0,420	180	15	5	0,5	1,555
30	0,190	180	15	10	0,5	1,407
35	0,320	180	15	10	0,5	2,216
40	0,310	180	15	10	0,5	2,296
45	0,213	180	15	10	0,5	1,578

Tabel L3.8 Perhitungan aktivitas enzim ulangan 2

Suhu (°C)	Konsentrasi Glukosa (mg/mL)	BM Glukosa (gr/mol)	Waktu Inkubasi (menit)	Volume Total (mL)	Volume Enzim (mL)	Aktivitas Enzim (U/mL)
25	0,460	180	15	5	0,5	1,703
30	0,230	180	15	10	0,5	1,704
35	0,300	180	15	10	0,5	2,220
40	0,285	180	15	10	0,5	2,111
45	0,205	180	15	10	0,5	1,518

Tabel L3.9 Perhitungan aktivitas enzim ulangan 3

Suhu (°C)	Konsentrasi Glukosa (mg/mL)	BM Glukosa (gr/mol)	Waktu Inkubasi (menit)	Volume Total (mL)	Volume Enzim (mL)	Aktivitas Enzim (U/mL)
25	0,400	180	15	5	0,5	1,481
30	0,230	180	15	10	0,5	1,704
35	0,320	180	15	10	0,5	2,370
40	0,265	180	15	10	0,5	1,963
45	0,201	180	15	10	0,5	1,489



Gambar L3.3 Hubungan suhu dan aktivitas enzim

### L.3.7 Perhitungan Statistik

#### L.3.7.1 Data dan Uji Statistik Aktivitas Enzim $\alpha$ -Amilase Optimasi Suhu

Nama	Aktivitas Enzim (U/mL)			Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
25°C	1,555	1,703	1,481	1,580
30°C	1,407	1,704	1,703	1,605
35°C	2,126	2,220	2,370	2,239
40°C	2,296	2,111	1,963	2,123
45°C	1,578	1,518	1,489	1,528

ONEWAY Aktivitas BY Suhu  
 /STATISTICS DESCRIPTIVES  
 /MISSING ANALYSIS  
 /POSTHOC=LSD ALPHA(0.05)

## Oneway

[DataSet3]

### Descriptives

Aktivitas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
25	3	1.57967	.113037	.065262	1.29887	1.86047	1.481	1.703
30	3	1.60467	.171185	.098834	1.17942	2.02991	1.407	1.704
35	3	2.23867	.123066	.071052	1.93295	2.54438	2.126	2.370
40	3	2.12333	.166842	.096326	1.70887	2.53779	1.963	2.296
45	3	1.52833	.045391	.026206	1.41558	1.64109	1.489	1.578
Total	15	1.81493	.332021	.085728	1.63107	1.99880	1.407	2.370

### ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.369	4	.342	19.643	.000
Within Groups	.174	10	.017		
Total	1.543	14			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Aktivitas

LSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
25	30	-.025000	.107780	.821	-.26515	.21515
	35	-.659000*	.107780	.000	-.89915	-.41885

	40	-.543667*	.107780	.001	-.78382	-.30352
	45	.051333	.107780	.644	-.18882	.29148
30	25	.025000	.107780	.821	-.21515	.26515
	35	-.634000*	.107780	.000	-.87415	-.39385
	40	-.518667*	.107780	.001	-.75882	-.27852
	45	.076333	.107780	.495	-.16382	.31648
35	25	.659000*	.107780	.000	.41885	.89915
	30	.634000*	.107780	.000	.39385	.87415
	40	.115333	.107780	.310	-.12482	.35548
	45	.710333*	.107780	.000	.47018	.95048
40	25	.543667*	.107780	.001	.30352	.78382
	30	.518667*	.107780	.001	.27852	.75882
	35	-.115333	.107780	.310	-.35548	.12482
	45	.595000*	.107780	.000	.35485	.83515
45	25	-.051333	.107780	.644	-.29148	.18882
	30	-.076333	.107780	.495	-.31648	.16382
	35	-.710333*	.107780	.000	-.95048	-.47018
	40	-.595000*	.107780	.000	-.83515	-.35485

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Homogeneous Subsets

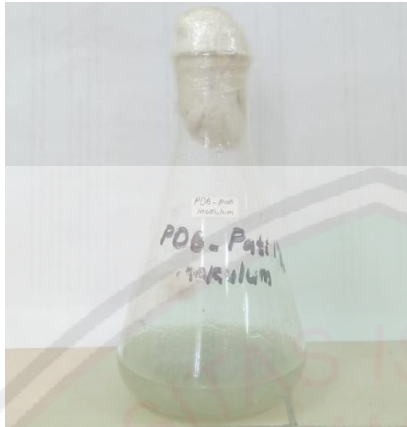
		Aktivitas		
		N	Subset for alpha = 0.05	
Suhu			1	2
Tukey HSD <sup>a</sup>	45	3	1.52833	
	25	3	1.57967	
	30	3	1.60467	
	40	3		2.12333
	35	3		2.23867
	Sig.			.950

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian

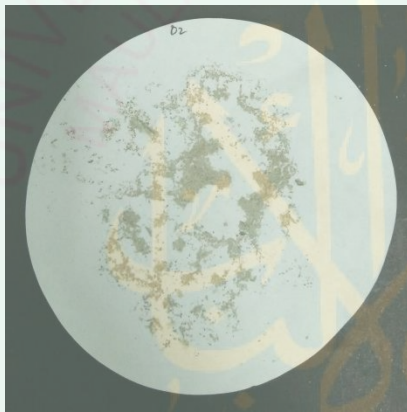
### 1. Persiapan Inokulum



### 2. Pembuatan Kurva Pertumbuhan



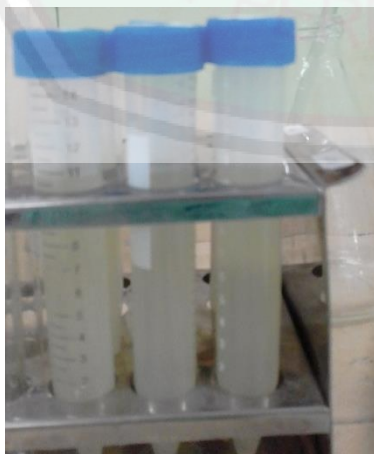
### 3. Berat Kering Sel



### 4. Ekstraksi dan Produksi Enzim



### 5. Ekstrak Kasar Enzim



### 6. Larutan Standar Glukosa



7. Uji Aktivitas Enzim Metode DNS



8. Uji Aktivitas Optimasi Suhu

