

**PENGARUH VARIASI pH TERHADAP AKTIVITAS ENZIM AMILASE
DARI BAKTERI *Bacillus sp.***

SKRIPSI

**Oleh:
VILANDA MAULIYA
NIM. 16630072**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**PENGARUH VARIASI pH TERHADAP AKTIVITAS ENZIM AMILASE
DARI BAKTERI *Bacillus sp.***

SKRIPSI

**Oleh:
VILANDA MAULIYA
NIM. 16630072**

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

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**PENGARUH VARIASI pH TERHADAP AKTIVITAS ENZIM AMILASE
DARI BAKTERI *Bacillus sp.***

SKRIPSI

**Oleh:
VILANDA MAULIYA
NIM. 16630072**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diseminarkan
Tanggal: 26 Juni 2023**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



**Susi Nurul Khalifah, M.Si
NIP. 19851020 201903 2 012**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Nugsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010**

**PENGARUH VARIASI pH TERHADAP AKTIVITAS ENZIM AMILASE
DARI BAKTERI *Bacillus sp.***

SKRIPSI

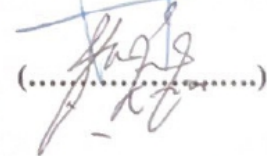
Oleh:
VILANDA MAULIYA
NIM. 16630072

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 26 Juni 2023

Penguji Utama : Dr. Anton Prasetyo, M.Si
NIP. 19770925200604 1 003

(.....)

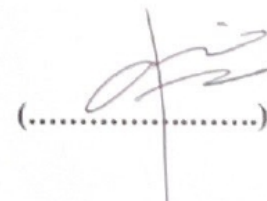

Anggota Penguji I : Dr. Anik Maunatin, M.P
NIDT. 1976010520180201 2 248

(.....)


Anggota Penguji II : Dr. Akyunul Jannah, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

(.....)


Anggota Penguji III : Susi Nurul Khalifah, M.Si
NIP. 19851020 201903 2 012

(.....)


Mengesahkan,
Ketua Program Studi



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Vilanda Mauliya

NIM : 16630072

Program studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul penelitian : **Pengaruh Variasi pH Terhadap Aktivitas Enzim**

Amilase Dari Bakteri *Bacillus Sp.*

Menyatakan dengan kejujuran bahwa skripsi yang saya tulis adalah sepenuhnya karya saya. Saya tidak menggunakan data, tulisan atau pemikiran orang lain tanpa memberikan pengakuan yang jelas sebagai sumbernya, kecuali telah saya cantumkan dalam daftar pustaka. Saya menyadari bahwa apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, saya akan menerima konsekuensi atas tindakan tersebut.

Malang, 20 Juni 2023

Yang membuat pernyataan,



Vilanda Mauliya
NIM. 16630072

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil'alamiin...

Segala puji dan syukur atas segala nikmat yang telah Allah SWT. limpahkan kepada penulis. Sholawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW. beserta keluarga dan para sahabat.

Kami ucapkan terimakasih kepada segenap individu yang telah memberi dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan babak akhir dari perkuliahan ini (skripsi). Saya persembahkan skripsi ini kepada diri sendiri, for staying strong and continuously growing on this educational journey, 'Keep learning and becoming the best version of yourself'. Terimakasih banyak kepada Aba H. Shofiyulloh dan Umi Lailatus Sa'adah, for your unconditionally love and support throughout my journey. Terimakasih kepada Ibu Dr. Akyunul Jannah, M.P dan Ibu Susi Nurul Khalifa, M.Si atas segala kesabaran dan motivasi dalam membimbing penulis selama masa penyelesaian skripsi. Terimakasih kepada Ibu Dr. Anik Ma'unatin, M.P dan Bapak Dr. Anton Prasetyo, M.Si selaku dosen penguji yang dengan sabar memberi arahan dan ilmu baru. Serta terimakasih kepada seluruh jajaran Bapak Ibu dosen, laboran dan staf Prodi Kimia atas ilmu yang telah disampaikan. Penulis juga berterimakasih kepada keluarga penulis atas pengertian dan dukungannya. Terimakasih kepada teman sejawat, teman-teman kos al-hamidi :D teman di lab biokimia ^^ dan seluruh teman yang tidak bisa penulis sebutkan namanya. And the last, terimakasih kepada Mas Gilang, my lifelong partner, the first person of all first in my life, thank you for the trust and strength you have provided.

MOTTO

“Sebaik-baiknya manusia adalah yang bermanfaat bagi orang manusia lainnya”

*“Jalan keluar dari segala masalah hanyalah bertahan, so Keep Going On and
Life Goes On :D”*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis curahkan atas segala hidayah dan rahmat sang Khaliq, Allah swt. Shalawat serta salam tercurahkan bagi Nabi Muhammad saw., tauladan seluruh umat. Rasa syukur yang teramat bagi penulis, karena telah dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **“Pengaruh Variasi pH Terhadap Aktivitas Enzim Amilase Dari Bakteri *Bacillus Sp.*”**. Penulis menghaturkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tua dan saudara yang setiap waktu melantunkan do'a, nasihat dan dukungan kepada penulis. Serta pengertian, cinta dan rasa paham atas segala kondisi penulis.
2. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P dan Ibu Susi Nurul Khalifah, M. Si selaku dosen pembimbing penelitian yang telah mengarahkan, memberikan masukan dan motivasi dalam penulisan naskah skripsi. Juga ketersediaannya dalam meluangkan waktu serta rasa sabar dalam membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi.
3. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA selaku rektor Univesitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Sri Harini, M. Si selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Ibu Dr. Anik Maunatin, M.P dan Bapak Dr. Anton Prasetyo, M.Si selaku dosen penguji penelitian.

7. Seluruh dosen Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan wawasan, pengetahuan dan pengalaman sebagai bekal dalam penulisan skripsi.
8. Seluruh pihak baik yang secara langsung atau tidak langsung membantu dan memberi motivasi kepada penulis dalam mengerjakan skripsi.

Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat meski dalam penulisan naskah skripsi tidak menutup kemungkinan adanya beberapa kesalahan, baik dari penyusunan kata hingga tata bahasa. Sehubungan dengan hal itu, maka besar harapan penulis atas saran dari semua pihak yang berkenan. Akhir kata, penulis sangat berterimakasih atas segala dukungan dan bantuan dalam penyusunan skripsi ini. Semoga dilancarkan segala proses kedepannya.

Malang, 20 Juni 2023

Penulis,

Vilanda Mauliya

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
MOTTO	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR PERSAMAAN.....	xv
ABSTRAK.....	xvi
ABSTRACT	xvii
مستخلص البحث.....	xviii

BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat Penelitian	5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Bakteri <i>Bacillus sp.</i>	6
2.2 Enzim Amilase.....	9
2.3 Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim.....	12
2.4 Penentuan Aktivitas Enzim Amilase Dengan Metode DNS	14

BAB III METODOLOGI PENELITIAN	17
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	17
3.2.1 Alat Penelitian	17
3.2.2Bahan Penelitian	18
3.3 Rancangan Penelitian	18
3.4 Tahapan Penelitian.....	19
3.5 Cara Kerja Penelitian	19
3.5.1Peremajaan Isolat Bakteri <i>Bacillus sp.</i>	19
3.5.2Uji Kualitatif Aktivitas Amilolitik Oleh Bakteri <i>Bacillus sp.</i>	20
3.5.3Pembuatan Inokulum Bakteri <i>Bacillus sp.</i>	20
3.5.4Produksi dan Ekstraksi Enzim Amilase	20
3.5.5Pembuatan Kurva Standart Glukosa	21

3.5.6 Aktivitas Enzim Amilase	21
3.6 Analisis Data.....	22
BAB IV PEMBAHASAN.....	23
4.1 Peremajaan Isolat <i>Bacillus sp.</i>	23
4.2 Uji Kualitatif Aktivitas Amilolitik oleh <i>Bacillus sp.</i>	25
4.3 Produksi Enzim Amilase.....	27
4.4 Kurva Standar Glukosa	29
4.5 Uji Aktivitas Enzim Amilase oleh <i>Bacillus sp.</i>	31
4.6 Enzim Amilase dari Bakteri dalam Kajian Keislaman	35
BAB V PENUTUP	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian.....	45
Lampiran 2. Diagram Alir.....	46
Lampiran 3. Pembuatan Larutan	50
Lampiran 4. Indeks Amilolitik.....	57
Lampiran 5. Pembuatan Kurva Standar Glukosa	58
Lampiran 6. Pengukuran Absorbansi Sampel dan Aktivitas Enzim Amilase.....	59
Lampiran 7. Perhitungan Konsentrasi Glukosa Pada Sampel.....	60
Lampiran 8. Perhitungan Aktivitas Enzim Amilase	61
Lampiran 9. Hasil Statistik <i>One Way</i> ANOVA.....	62
Lampiran 10. Dokumentasi.....	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Enzim Amilase	9
Gambar 2.2. Mekanisme kerja enzim amilase	10
Gambar 2.3 Reaksi Glukosa dan DNS.....	14
Gambar 4.1 Hasil Peremajaan Bakteri <i>Bacillus sp.</i>	23
Gambar 4.2 Hasil Zona Benning Aktivitas Amilolitik <i>Bacillus sp.</i>	25
Gambar 4.3 Reaksi antar Pati dengan Reagen Iodine.....	25
Gambar 4.4 Kurva Standar Glukosa.....	29
Gambar 4.5 Reaksi antara Glukosa dengan Reagen DNS	29
Gambar 4.6 Aktivitas Enzim Amilase <i>Bacillus sp.</i>	31

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Perlakuan penngaruh variasi pH	18
--	----

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 2.1 Perhitungan aktivitas enzim amilase	15
Persamaan 3.1 Perhitungan aktivitas amilase	21

ABSTRAK

Mauliya, V. 2023. **Pengaruh Variasi pH Terhadap Aktivitas Enzim Amilase Dari Bakteri *Bacillus Sp.*** Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P. Pembimbing II: Susi Nurul Khalifah, M.Si.

Kata kunci: *Bacillus sp.*, enzim amilase, pH

Enzim amilase berfungsi untuk menghidrolisis senyawa karbohidrat menjadi gula sederhana. Bakteri *Bacillus sp.* merupakan bakteri Gram-positif yang berpotensi memproduksi amilase dengan sangat efisien. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pH terhadap aktivitas enzim amilase dari bakteri *Bacillus sp.* agar lebih efisien dalam mengaplikasikannya di bidang industri. Aktivitas enzim amilase diketahui melalui uji gula reduksi menggunakan reagen *dinitrosalicylic-acid* (DNS). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini hanya satu variasi yaitu pada pH 5, 6, 7, 8 dan 9 dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Hasil uji penelitian ini menunjukkan bahwa enzim amilase bakteri *Bacillus sp.* optimum pada pH 6 dengan aktivitas enzimnya sebesar 0,299 U/mL. Berdasarkan hasil tersebut dinyatakan bahwa variasi derajat keasaman memberikan pengaruh signifikan terhadap aktivitas enzim amilase dari *Bacillus sp.* Analisis data dilanjutkan dengan uji lanjutan Beda Nyata Jujur (*Turkey's HSD*) dimana berdasarkan hasil uji *Turkey's* menyatakan pH 6 memiliki notasi yang berbeda dari pH lainnya sehingga dapat disimpulkan bahwa pH 6 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dan berpengaruh secara signifikan terhadap aktivitas enzim amilase.

ABSTRACT

Mauliya, V. 2023. **The Effect of pH Variation on the Activity of Amylase Enzyme from *Bacillus sp.* Bacteria.** Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Supervisor I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P. Supervisor II: Susi Nurul Khalifah, M.Si.

Keyword: *Bacillus sp.*, amylase enzyme, potential hydrogen (pH)

The function of the amylase enzyme is to hydrolyze carbohydrate compounds into simple sugars. *Bacillus sp.* bacteria are Gram-positive bacteria that have the potential to produce amylase efficiently. The purpose of this study is to determine the optimum pH of the amylase enzyme from *Bacillus sp.* bacteria in order to enhance its efficiency for industrial applications. The activity of the amylase enzyme is determined through a reducing sugar test using dinitrosalicylic acid (DNS) reagent. The research was conducted using a Completely Randomized Design (CRD). The variable utilized in this research is only one variation, which is the hydrogen potential (pH) of 5, 6, 7, 8, and 9 with three replications. The results of this study indicate that the optimal pH for the amylase enzyme from *Bacillus sp.* bacteria is pH 6, with an enzyme activity of 0.299 U/mL. Based on these results, it can be concluded that the pH variation had a significant effect on the activity of the amylase enzyme from *Bacillus sp.* The data analysis is further conducted using Tukey's post hoc test, which indicates that pH 6 has a significantly different notation compared to the other pH levels, thus implying that pH 6 exhibits statistically significant and substantial effects on the amylase enzyme activity.

مستخلص البحث

مؤلياً، ف. ٢٠٢٣. تأثير تعبيرات إمكانات أهدروجيني على نشاط إنزيم الأميليز من بكتيريا *Bacillus sp.* البحث الجامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرف الأول: الدكتور أعين الجنة، الماجستير. المشرف الثاني: سوسي نور الخليفة، الماجستير.

الكلمات المفتاحية: *Bacillus sp.*، إنزيم الأميليز، إمكانات أهدروجيني.

.....يُعمل إنزيم الأميليز على تحليل مركبات الكربوهيدرات إلى سكريات بسيطة. البكتيريا *Bacillus sp.* هي بكتيريا موجبة الجرام لديها القدرة على إنتاج الأميليز بكفاءة عالية. الهدف من هذا البحث هو تحديد تأثير إمكانات أهدروجيني على نشاط إنزيم الأميليز من البكتيريا *Bacillus sp.* ليكون أكثر كفاءة في تطبيقه في القطاع الصناعي. كان نشاط إنزيم الأميليز معروفاً من خلال اختبار السكر المحتزل باستخدام كاشف حمض الدينيتروساليسيليك (DNS). الطريقة المستخدمة في هذا البحث هي التصميم العشوائي الكامل (CRD). كان المتغير المستخدم في هذا البحث متغيراً واحداً فحسب، وهو إمكانات أهدروجيني ٥، ٦، ٧، ٨، ٩ بثلاث تكرارات. أشارت نتائج اختبار هذا البحث إلى أن إنزيم الأميليز البكتيريا *Bacillus sp.* مثالي عند إمكانات أهدروجيني ٦ مع نشاط إنزيم ٠،٢٢٩ وحدة/مل. وبناءً على هذه النتائج تبين أن الاختلافات في إمكانات أهدروجيني كان لها تأثير معنوي على نشاط إنزيم الأميليز من *Bacillus sp.* استمر تحليل البيانات مع اختبار متابعة الاختلاف الكبير الصادق (تركياً) حيث بناءً على نتائج اختبار تركياً تبين أن إمكانات أهدروجيني ٦ لها تدوين مختلف عن إمكانات أهدروجيني الآخر بحيث يمكن استنتاج أن إمكانات أهدروجيني ٦ أظهر بشكل ملحوظ نتائج مختلفة وكان لها تأثير معنوي على نشاط إنزيم الأميليز.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan ilmu pengetahuan bidang mikrobiologi, khususnya penentuan enzim dari suatu mikroorganisme menunjukkan kemajuan yang pesat. Hal ini tidak hanya diterapkan dalam lingkup pendidikan namun juga diterapkan hingga lingkup perindustrian. Banyak sektor industri yang mulai memanfaatkan sumber daya yang berasal dari mikroorganisme seperti bakteri. Hal tersebut sesuai dengan prediksi pasar industri pemanfaatan enzim yang berasal dari mikroorganisme salah satunya adalah bakteri. Sebagian besar penelitian di negara berkembang menargetkan bakteri *Bacillus* untuk ekstraksi enzim amilase dengan alasan kebutuhan nutrisi dan sifatnya yang sederhana. Penggunaan mikroorganisme lebih disukai dalam produksi enzim sebab metode tersebut mudah untuk dimodifikasi guna mendapatkan karakteristik enzim yang diinginkan. Enzim amilase telah mencakup 25% dari pasar enzim (Sachdev, dkk., 2016). Secara komersial mayoritas enzim yang digunakan dalam dunia industri adalah enzim amilase, protease, lipase, selulase, xilanase, katalase dan lain-lainnya, di antara enzim-enzim tersebut amilase banyak digunakan pada sektor industri karena jumlahnya yang melimpah (Beniwal dan Sharma, 2014). Melimpahnya enzim amilase membutuhkan eksplorasi lebih seperti suatu proses optimasi agar lebih efisien dan efektif dalam mengaplikasikannya.

Hal tersebut sesuai dengan firman Allah, bahwasanya Allah menciptakan makhluk mulai dari yang berukuran kecil hingga besar dengan berbagai fungsinya. Firman tersebut ada di dalam surah al-Hijr ayat 19 sebagai berikut,

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوْسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ.

Artinya: “Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran” (QS. al-Hijr (15): 19)

Berdasarkan ayat tersebut, pada arti ayat ‘segala sesuatu menurut ukurannya’ dimaknai bahwa Allah menciptakan segala sesuatu sesuai ukuran pastinya. Segala yang diciptakanNya telah memiliki porsi masing-masing. Semua hal tersebut telah sesuai dengan bentuk yang dilengkapi fungsinya (Hamka, 2011). Sesuai penjelasan firman Allah pada surah al-Hijr, contoh dari ayat tersebut adalah bakteri yang merupakan salah satu makhluk yang berukuran kecil dan dapat menghasilkan enzim amilase sehingga mampu membantu proses di bidang industri seperti pembuatan bahan pangan, gula jagung, tekstil, bahan baku untuk obat pencernaan dan sebagainya (Supriyatna, dkk., 2015).

Bakteri memiliki peranan penting dalam suatu ekosistem karena bakteri dapat memecah bahan organik seperti selulosa, lignin, protein dan senyawa pati dengan bantuan dari suatu enzim (Fitriani, dkk, 2018). Bakteri banyak digunakan untuk memproduksi enzim amilase karena enzim yang dihasilkan oleh bakteri lebih mudah diisolasi dan ditumbuhkan dalam suatu media. Salah satu genus bakteri yang dapat memproduksi enzim amilase adalah bakteri *Bacillus* (Hatmanti, 2000).

Enzim amilase merupakan enzim yang dapat memecah pati dan glikogen menjadi maltosa, isomaltosa, maltotriosa dan glukosa. Amilase dibagi menjadi 3

kelompok yaitu α -amilase, β -amilase dan glukoamilase (Iswendi, 2010). α -Amilase tergolong sebagai endo-amilase yang dapat mengurai pati pada ikatan 1,4-D glikosida (Arunsasi, dkk., 2010). Enzim ini banyak digunakan dalam beberapa bidang industri seperti makanan, unit produksi detergen hingga sektor tekstil dan dapat ditemukan pada tumbuhan, hewan hingga mikroba. Enzim amilase yang berasal dari bakteri sudah mulai banyak digunakan karena biayanya yang lebih terjangkau, mudah untuk diproduksi dan mudah untuk dilakukan optimasi (Sivaramakrishnan, dkk., 2006).

Aktivitas enzim amilase dapat dipengaruhi oleh banyak faktor. Beberapa faktor tersebut adalah pH, ion logam, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, waktu inkubasi dan sebagainya (Sena, dkk., 2018). Apabila enzim bekerja pada lingkungan yang tidak sesuai dengan karakterisasi enzim maka aktivitas enzim akan menurun. Turunnya aktivitas enzim dapat memperlambat terjadinya metabolisme di dalam suatu organisme. Berdasarkan faktor-faktor tersebut penelitian ini berfokus pada pengujian aktivitas enzim amilase dengan variasi pH.

pH merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Enzim memerlukan pH yang optimum agar dapat berfungsi secara optimal, oleh sebab itu pH optimum setiap enzim berbeda-beda. pH enzim amilase umumnya berkisar dari pH 5 hingga 8 (Jayanti, 2011). pH mampu mengubah konsentrasi ion hidrogen suatu larutan sehingga mampu mempengaruhi aktivitas enzim berdasarkan perubahan ikatan pada enzim (membentuk ikatan baru atau menguraikan ikatan enzim) (Aryani, 2012). Penelitian mengenai optimasi pH pada genus *Bacillus* telah banyak dilakukan. Salah satunya pada bakteri *Bacillus amyloliquefacien*, pH optimum yang dicapai oleh bakteri tersebut adalah 6-7

dengan aktivitas enzimnya berkisar antara 1,3535 U/mL sampai 1,4986 U/mL (Ningsih, dkk., 2012). Pada isolat bakteri *Bacillus sp.* pH optimum yang dicapai berkisar antara pH 6,5-8 (Ahmadi, dkk., 2010). Kemudian, untuk bakteri *Bacillus licheniformis* diperoleh pH optimum sebesar 6,5 dengan aktivitas enzimnya sebesar 3,8 U/mL (Samanta, dkk., 2014). Berdasarkan beberapa penelitian yang telah diuji tersebut, rentang pH optimum yang diperoleh adalah pH 5 sampai 7. Untuk variasi pH yang digunakan pada penelitian ini yaitu rentang pH 5; 6; 7; 8 dan 9.

Penentuan aktivitas enzim dapat dilihat dari banyaknya gula pereduksi yang dihasilkan. Metode penentuan gula pereduksi yang umum digunakan ialah dengan menambahkan reagen asam dinitrosalisilat (DNS) (Khairina dan Yuanita, 2015). Metode tersebut banyak digunakan karena mampu mengukur gula pereduksi pada konsentrasi kecil dan teliti (Pratiwi, dkk., 2018). Berdasarkan hasil uji metode DNS yang spesifik dalam menentukan aktivitas enzim α -amilase pada penelitian kali ini dilakukan dengan menggunakan metode DNS. Serangkaian metode yang dilakukan pada penelitian kali ini bertujuan untuk menentukan aktivitas optimum dari enzim amilase dengan variasi pH. Diharapkan penelitian ini dapat menjadi acuan bagi penelitian selanjutnya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim amilase dari bakteri *Bacillus sp.*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim amilase pada bakteri *Bacillus sp.*

1.4 Batasan Masalah

Penelitian ini dilakukan secara signifikan dengan menetapkan beberapa batasan, yaitu:

- a. Sampel yang digunakan adalah bakteri *Bacillus sp.*
- b. Optimasi aktivitas enzim yang dilakukan hanya pH.
- c. Variasi pH yang digunakan adalah 5, 6, 7, 8 dan 9.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan agar dapat memberi manfaat masyarakat dan peneliti. Manfaat dari penelitian ini ialah:

- a. Memberikan informasi tentang aktivitas enzim amilase pada bakteri *Bacillus sp.* dengan beberapa variasi pH.
- b. Mengetahui pH optimum dalam aktivitas enzim amilase pada bakteri *Bacillus sp.* yang bisa dikembangkan dalam bidang industri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Bacillus* sp.

Islam tidak hanya mengkaji hal yang dapat dilihat oleh mata namun juga mengkaji hal-hal yang tidak dapat ditangkap oleh mata. Sebagai contoh hal-hal yang bersifat mikroskopis adalah bakteri. Bakteri telah lama dikenal oleh manusia bahkan sejak zaman kerajaan Yunani (Gandjar dan Sjamsuridzal, 2006). Allah berfirman dalam al-Qur'an surah Thahaa ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ ثَبَاتٍ شَتَّىٰ ه

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

Allah SWT telah menciptakan berbagai jenis tumbuhan berdasarkan ayat tersebut. Hal tersebut dapat diartikan bahwa setiap tumbuhan diciptakan dengan rupa dan bentuk yang berbeda disertai dengan manfaatnya (Hamka, 2011). Keanekaragaman tersebut merupakan kekuasaan Allah SWT sebagaimana bakteri yang diciptakan dengan berbagai jenis dan manfaat. Salah satu bakteri yang sangat berguna dalam kehidupan manusia adalah bakteri dengan genus *Bacillus*. Spesies *Bacillus* banyak digunakan dalam bidang kesehatan, farmasi, agrikultur hingga industri yang mengambil banyak keuntungan secara luas baik secara karakteristik fisiknya ataupun kemampuannya dalam menghasilkan enzim, antibiotik dan metabolit lainnya.

Berikut klasifikasi bakteri *Bacillus sp.* yaitu (Turnbull, 1996):

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Firmichutes*
Kelas : *Bacilli*
Orda : *Bacillales*
Famili : *Bacillaceae*
Genus : *Bacillus*

Bakteri *Bacillus* memiliki bentuk batang dan tergolong dalam bakteri Gram-positif. Beberapa spesies isolat bakteri dapat berubah menjadi Gram-negatif seiring bertambahnya usia bakteri. Bakteri tersebut mampu membentuk endospora sehingga mampu bertahan hidup di lingkungan yang bersifat aerobik atau fakultatif anaerobik. Genus bakteri *Bacillus* memiliki banyak spesies yang memiliki kemampuan fisiologis yang luas sehingga bakteri mampu hidup di berbagai lingkungan alami. Bakteri *Bacillus* biasanya dapat ditemukan di tanah, air, udara, mahluk hidup seperti tumbuhan dan hewan hingga tumbuhan yang telah terdekomposisi (debu) (Sholihati, dkk., 2015).

Genus *Bacillus* merupakan mikroorganisme yang membentuk spora. Bakteri *Bacillus* memiliki siklus hidup yang terdiri dari tiga proses fisiologi yang berbeda. Proses tersebut adalah proses vegetatif, pembentukan spora dan germinasi. Proses perkembangan bakteri dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi dan *Bacillus* dapat merasakan ketersediaan nutrisi tersebut. *Bacillus* mampu mentransmisikan nutrisi dan mengambil sampel lingkungan mereka sehingga dapat menyesuaikan siklus sel agar selalu dalam kondisi optimal (Sella, dkk., 2014). *Bacillus* memiliki ciri khas yang membedakannya dari bakteri lainnya yaitu adanya endospora. Kehadiran endospora ini membuat *Bacillus* mampu beradaptasi dalam kondisi yang ekstrem seperti panas yang ekstrem, kekurangan air dan radiasi. Berdasarkan pernyataan tersebut menyatakan bahwa *Bacillus* mampu

bertahan hidup di kondisi yang tidak mampu mendukung kelangsungan hidup organisme lain (Mukamoto, dkk., 2015).

Marga *Bacillus* memiliki bentuk batang yang dapat banyak ditemukan pada tumbuhan, hewan, tanah hingga laut. Jenis bakteri *Bacillus* yang beragam menunjukkan variasi koloni yang beragam pula pada media *Nutrient Agar* (NA). Pada umumnya, warna koloni adalah putih hingga putih suram sampai kekuningan. Tepi koloni *Bacillus* cenderung tidak rata dan beragam, memiliki permukaan yang kasar dan tidak berlendir. Beberapa jenis *Bacillus* dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat memecah protein dan polisakarida yang kompleks. Menurut Hatmanti (2000) diketahui bahwa *Bacillus* telah menghasilkan beberapa enzim dalam skala industri seperti enzim α -amilase, β -amilase, isoamilase, glucoamilase, alanin dan beberapa enzim lainnya.

Enzim amilase pada *Bacillus sp.* dihasilkan melalui proses ekstraseluler. Bakteri melepaskan enzim amilase ke dalam lingkungan sekitarnya dan mencernanya menjadi glukosa yang lebih sederhana dari molekul karbohidrat yang ada di sekitarnya. *Bacillus sp.* kemudian menyerap kembali molekul glukosa ke dalam sel yang digunakan untuk pertumbuhan dan proses reproduksi. Mekanisme regulasi genetik pada *Bacillus* memungkinkan mereka menghasilkan enzim amilase secara terus menerus, terutama jika sumber karbohidrat di sekitar bakteri melimpah (Benjamin, dkk, 2013).

2.2 Enzim Amilase

Enzim amilase merupakan salah satu enzim yang paling penting dalam bioteknologi saat ini. Golongan enzim amilase ini menjadi penting karena potensi

pengaplikasiannya yang sangat luas (Ertan, dkk., 2006). Enzim ini selain sangat penting di bidang teknologi, juga sangat penting di bidang industri. Enzim amilase adalah enzim yang mampu menghidrolisa suatu pati menjadi produk yang bervariasi salah satunya dekstrin (Sarah dan Putro, 2010).

Enzim amilase adalah salah satu katalis dalam proses hidrolisis pati dengan air untuk membentuk gula (Iswendi, 2009). Enzim amilase dibagi menjadi tiga jenis, yaitu: α -amilase, β -amilase dan glukoamilase. α -Amilase disebut juga sebagai endoamilase karena mampu memotong ikatan α -1,4-glikosidik, sedangkan β -amilase dapat memecah ikatan β -1,4-glikosidik dalam amilum menghasilkan fragmen-fragmen yang lebih kecil seperti maltosa. β -amilase merupakan contoh dari eksoamilase. Jenis enzim amilase lainnya yaitu glukoamilase bisa juga disebut sebagai γ -amilase mampu menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik dan β -1,6-glikosidik (Joshi, dkk., 2021). Enzim amilase dapat diisolasi dari tanaman, hewan dan mikroorganisme. Mikroorganisme yang banyak digunakan untuk mengisolasi enzim ini biasanya adalah bakteri (Jayanti, dkk, 2013).

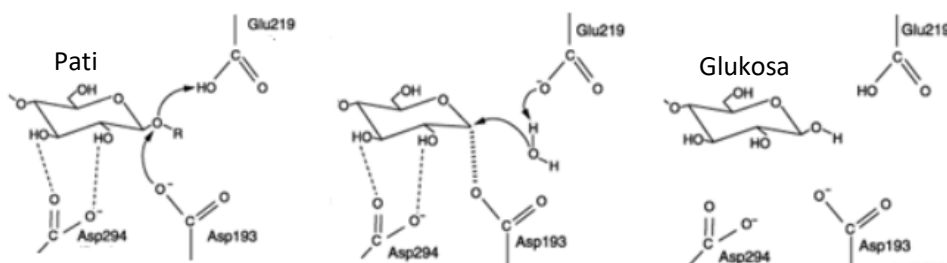
Nama kimiawi dari enzim α -amilase ialah *endo-1,4- α -D-glucan glucohydase*, EC 3.2.1.1. Bentuk enzim α -amilase ditampilkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Enzim Amilase (Nurmala, 2019)

Berdasarkan Gambar tersebut enzim α -amilase tersusun dari 403 endapan asam amino, 153 molekul pelarut dan 3 ion Ca^{2+} . Struktur tersebut terdiri dari 3 domain, yaitu domain sentral (*A*), domain kedua (*B*) dan domain ketiga (*C*) (Iswendi, 2009). Pada Gambar 2.1 domain *A* adalah domain terbesar dengan warna merah yang berbentuk seperti struktur barrel (β/α)_g dengan bentuknya yang miring dan menonjol. Domain *B* berada diantara domain *C* dan *A* dimana domain *B* menempel pada domain *A* karena adanya ikatan disulfida. Domain *B* berwarna kuning pada Gambar 2.1, sedangkan domain *C* ditandai dengan warna biru yang merupakan struktur lembaran β dan menempel pada domain *A* karena adanya senyawa polipeptida yang sederhana. Sisi aktif enzim α -amilase ditunjukkan dengan warna hijau dengan struktur yang panjang terletak pada akhir struktur karboksil domain *A* dan *B* (Wahyuni, 2015).

Mekanisme enzim amilase secara molekuler memecah substrat dengan bantuan asam amino yang berada pada situs aktifnya. Pada enzim amilase terdapat 3 asam amino yang berperan yaitu asam glutamat 219, asam aspartat 294 dan asam aspartat 193. Adapun mekanisme kerja enzim amilase ditampilkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Mekanisme enzim amilase menghidrolisis pati (Nangin dan Sutrisno, 2015)

Berdasarkan Gambar 2.2 tahap pertama adalah pengikatan substrat pati oleh asam aspartat 294. Kemudian asam glutamat 219 dalam bentuk asam akan menyumbangkan proton ke oksigen pada ikatan glikosidik substrat. Molekul H₂O kemudian menyerang ikatan kovalen antara oksigen dengan residu asam aspartat 193. Asam glutamat kemudian menerima ion H dari molekul H₂O sementara residu asam aspartat 193 membentuk gugus hidroksil baru pada molekul glukosa (Nangin dan Sutrisno, 2015).

Seiring berkembangnya teknologi penelitian yang mengambil fokus terhadap aktivitas enzim amilase semakin beragam. Hal tersebut juga sesuai dengan beragamnya genus bakteri *Bacillus*. Pada penelitian kali ini, fokus penelitian yang diambil adalah menguji aktivitas enzim amilase dari bakteri *Bacillus sp.* Bakteri *Bacillus sp.* merupakan bakteri yang mudah ditemukan karna jumlahnya yang melimpah. Salah satu enzim yang dihasilkan oleh bakteri tersebut adalah enzim amilase. Untuk mengoptimalkan kinerja enzim dalam menghidrolisis substrat dilakukan uji pH sebagai faktor yang sangat mempengaruhi kerja enzim amilase.

2.3 Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim

Tingkat keasaman atau kebasaan suatu senyawa dapat dinyatakan sebagai pH dan biasanya diukur dengan menggunakan pH meter. Dalam kehidupan sehari-hari pH memiliki peranan yang penting dan bahkan untuk bidang industri perlu dilakukan pemantauan tingkat pH (Wasito, dkk., 2017). pH juga mampu mempengaruhi aktivitas enzim dalam mengkatalis reaksi. Hal itu dapat terjadi karena konsentrasi ion hidrogen mampu mengubah struktur enzim hingga aktivitasnya. Setiap enzim mempunyai pH optimum dimana pada pH tersebut

enzim dapat mencapai nilai aktivitas katalitik maksimumnya. Hal tersebut disebabkan struktur tiga dimensi enzim dalam mengikat substratnya secara efektif pada keadaan pH optimum (Purwanti, 2015).

pH optimum suatu enzim dapat berbeda tergantung pada substratnya. Untuk enzim α -amilase pH optimum yang dicapai berkisar pH 5–8 (Jayanti, dkk., 2011). Pada enzim α -amilase perubahan pH mampu membuat enzim terdenaturasi. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya ketidakstabilan interaksi ikatan non kovalen (Faizah, 2017). Menurut Estrada, dkk. (2018), perubahan pH yang semakin tinggi atau rendah akan menyebabkan enzim terdenaturasi dimana pada keadaan tersebut aktivitas enzim akan menurun. Hal tersebut ditunjukkan dalam penelitiannya mengenai pengaruh derajat keasaman terhadap enzim amilase, dimana variasi pH yang digunakan pada rentang 4 hingga 9. Aktivitas enzim optimumnya dicapai pada pH 6 sebesar 8,52 U/mL.

Tidak berbeda dari penelitian yang dilakukan oleh Estrada, dkk. (2018), pada penelitian yang dilakukan oleh Istia'nah (2020) memvariasi pH pada enzim amilase untuk menentukan pH optimum beserta pengaruhnya. Menurut Istia'nah, perubahan pH dapat merubah muatan sehingga dapat mempengaruhi aktivitas enzimnya. Variasi pH yang digunakan dalam penelitian tersebut memiliki rentang 4 sampai 8. pH optimum yang dicapai adalah pH 5 dengan aktivitas enzimnya 1,241 U/mL.

Penelitian tentang aktivitas enzim juga dilakukan oleh Samanta, dkk., (2014), menurutnya pada pH rendah enzim akan mengalami protonasi atau kehilangan muatan negatif sedangkan pada pH tinggi substrat akan terionisasi dan kehilangan muatan positifnya. pH yang digunakan dalam penelitian tersebut ialah

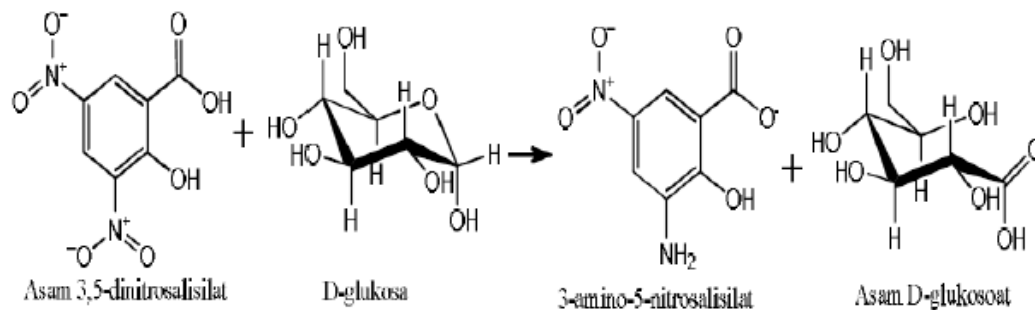
rentang 3 hingga 11 dan pH optimum yang dicapai adalah pH 6,5 U/mL dengan aktivitas enzim sebesar 3,8 U/mL. Adanya perbedaan aktivitas enzim di setiap perubahan pH disebabkan karena asam amino yang merupakan pusat aktif enzim berada dalam keadaan ionisasi yang tetap agar menjadi aktif, karena pada hakikatnya enzim adalah protein yang tersusun atas asam amino yang dapat melakukan ionisasi (Ghosh, dkk., 2015).

2.4 Penentuan Aktivitas Enzim Amilase Dengan Metode DNS

Aktivitas enzim adalah kemampuan enzim untuk mempercepat reaksi kimia secara efektif. Aktivitas enzim didefinisikan sebagai suatu jumlah enzim yang dapat menyebabkan perubahan atau transformasi substrat sebanyak 1 mikromol per menit pada kondisi yang optimal dan sama dalam membandingkannya. Secara umum aktivitas enzim dinyatakan dalam satuan unit (U) (Wuryanti, 2004). Aktivitas enzim amilase dihitung berdasarkan kadar glukosa reduksi oleh mikroba dengan menambahkan suatu reagen, reagen yang sering digunakan yaitu reagen *dinitrosalicylic acid* (DNS) (Rismawati, dkk., 2016).

Asam dinitro salisilat adalah suatu senyawa aromatis yang dapat bereaksi dengan gula pereduksi dan mampu membentuk senyawa asam-3-amino-5-nitrosalisilat. Senyawa tersebut mampu menyerap gelombang elektromagnetik UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm (Ariandi, 2016). Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk membentuk reagen DNS yaitu 3,5-dinitrosalisilat, NaOH, Na₂SO₃, Na-K-tartarat, fenol dan aquades. Munculnya senyawa asam-3-amino-5-nitrosalisilat ditandai dengan berubahnya warna larutan glukosa setelah

ditambahkan larutan DNS (Rismawati, dkk., 2016). Adapun reaksi antara glukosa dengan DNS ditampilkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Reaksi glukosa dan DNS (Rafsen, 2018)

Metode DNS merupakan metode yang dapat mengukur jumlah glukosa reduksi dengan ketelitian yang tinggi, sehingga metode tersebut dapat diaplikasikan untuk mengukur glukosa reduksi yang dihasilkan oleh suatu mikroba meski kadarnya yang sedikit (Putri, 2016). Prinsip dari metode DNS ialah reagen DNS akan bereaksi dengan gula pereduksi membentuk senyawa asam-3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna kuning kecoklatan (Pratiwi, dkk., 2018). Dimana suatu gugus aldehid pada rantai polisakarida akan dioksidasi menjadi gugus karboksil. Di saat yang sama, gugus aldehid pada gula akan mereduksi senyawa 3,5-dinitrosalisilat (DNS) menjadi asam-3-amino-5-nitrosalisilat. Reaksi tersebut akan terjadi secara terus menerus selama masih terdapat gula pereduksi di dalam larutan uji (Hasanah dan Iwan, 2015).

Gula reduksi hasil hidrolisis kemudian dianalisis secara kuantitatif untuk menentukan banyaknya kadar gula reduksi yang terbentuk. Hal tersebut dapat ditentukan dengan kurva standar glukosa. Semakin banyak unsur pereduksi yang berada di dalam sampel maka akan semakin tinggi serapan sebab banyaknya

molekul asam-3-amino-5-nitrosalisilat yang terbentuk (Pitarini, 2014). Aktivitas enzim amilase ditentukan oleh konversi nilai absorbansi (serapan) yang didapatkan dari glukosa standar dan dihitung dengan persamaan 2.1 (Azizah, 2017).

$$AE = \frac{C}{BM \text{ glukosa} \times t} \times \frac{H}{E} \dots\dots\dots(2.1)$$

Keterangan dari persamaan tersebut dengan *AE* adalah aktivitas enzim (Unit/mL), *C* adalah konsentrasi glukosa, *BM* adalah berat molekul glukosa (180 g/mol), *t* adalah waktu inkubasi (menit), *H* adalah volume total enzim substrat (mL) dan *E* adalah volume enzim.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi yang terletak di Kampus Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang dilaksanakan mulai bulan September 2022 sampai Januari 2023.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini seperangkat alat gelas seperti gelas beaker 100 mL, gelas beaker 50 mL, erlenmeyer 250 mL, erlenmeyer 10 mL, gelas ukur 100 mL, labu ukur 100 mL, labu ukur 50 mL, pipet ukur 10 mL, pipet volume 10 mL, tabung reaksi, cawan petri dan batang pengaduk. Selain itu digunakan juga beberapa peralatan seperti *stirrer*, spatula, jarum ose, tabung sentrifugasi, termometer, bunsen, kertas saring, botol akuades, bola hisap, *blue tip*, *aluminium foil*, *plastic wrap*, inkubator, *rotary shaker*, sentrifugator, *waterbath*, *hotplate*, neraca analitik, pH meter, mikropipet 100-1000 μL , *stopwatch*, *autoclave*, lemari pendingin, *laminar air flow* dan *vortex*. Untuk pengukuran aktivitas enzim α -amilase digunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah isolat bakteri *Bacillus sp.* dari koleksi laboratorium bioteknologi program studi kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Selain itu digunakan media pertumbuhan bakteri yaitu *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB) (Sumardi, 2012). Bahan yang digunakan untuk proses uji aktivitas enzim yaitu pati 2%, pepton, *yeast extract*, agar, natrium klorida (NaCl) dan kalium dihidrogenfosfat (KH_2PO_4). Kemudian bahan yang dibutuhkan untuk optimasi aktivitas enzim amilase berupa iodine 1%, glukosa, buffer asetat, buffer fosfat, asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), kalium-natrium tartrat (K-Na tartrat), fenol dan akuades (Hu & Liu, 2021).

3.3 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium yang berfokus terhadap uji aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus sp.* terhadap faktor pengaruh pH. Sampel yang digunakan ialah ekstrak kasar enzim amilase yang diproduksi pada media uji dengan racikan *yeast extract* 0,5 g; pepton 1,0 g; NaCl 0,5 g; KH_2PO_4 0,1 g dan substrat pati 2,0 g. Analisis dilakukan untuk mengetahui kemampuan enzim amilase dalam mendegradasi substrat pati. Metode penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana memiliki satu variabel yaitu variasi pH dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Tabel 3.1 menampilkan perlakuan variasi pH dengan pengulangannya.

Tabel 3.1 Perlakuan pengaruh variasi pH

Faktor A	Ulangan			Hasil
	1	2	3	
1	y11	y12	y13	y1
2	y21	y22	y23	y2
3	y31	y32	y33	y3
4	y41	y42	y43	y4
5	y51	y52	y53	y5

Keterangan: Variasi pH (Faktor A)

A1 = pH 5

A2 = pH 6

A3 = pH 7

A4 = pH 8

A5 = pH 9

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan kerja yang dilakukan pada penelitian ini, yaitu:

- a. Peremajaan Isolat Bakteri *Bacillus sp.*
- b. Uji Kualitatif Aktivitas Amilolitik Oleh *Bacillus sp.*
- c. Persiapan Inokulum Bakteri *Bacillus sp.*
- d. Produksi Dan Ekstraksi Enzim Amilase
- e. Pembuatan Kurva Standar Glukosa
- f. Pengukuran Aktivitas Enzim Amilase dengan Metode DNS
- g. Melakukan Analisa Data

3.5 Cara Kerja Penelitian

3.5.1 Peremajaan Isolat Bakteri *Bacillus sp.*

Peremajaan bakteri *Bacillus sp.* dilakukan secara aseptis dengan mengambil sebanyak satu kawat ose. Kemudian diinokulasi pada media *Nutrient Agar* (NA) miring dengan metode *streak*. Hasil inokulasi media NA dengan

bakteri *Bacillus sp.* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Pranay, dkk., 2019).

3.5.2 Uji Kualitatif Aktivitas Amilolitik Oleh Bakteri *Bacillus sp.*

Kultur yang telah diremajakan akan diuji secara kualitatif dengan cara diambil potongan kertas cakram. Kemudian direndam dalam kultur bakteri cair selama 30 menit. Kertas cakram yang telah terendam oleh kultur bakteri *Bacillus sp.* diletakkan pada media pertumbuhan yang terdiri dari pepton 0,5 g, NaCl 0,3 g, pati 2,0 g dan agar 2,0 g. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi media tumbuh ditetesi dengan larutan iodin 1% hingga merata dan diamati terbentuknya *halo zone* atau zona bening (Hu & Liu, 2021).

3.5.3 Pembuatan Inokulum Bakteri *Bacillus sp.*

Bakteri *Bacillus sp.* yang telah aktif diinokulasi dalam media *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 50 mL. Kemudian digoyang-goyang dengan *shaker* hingga tersuspensi dengan kecepatan 150 rpm selama 18 jam pada suhu ruang. Diukur absorbansi hasil inokulum pada panjang gelombang 600 nm (Munna, dkk., 2015).

3.5.4 Produksi dan Ekstraksi Enzim Amilase

Inokulum *Bacillus sp.* sebanyak 15 mL hasil dari peremajaan dipindahkan secara aseptis ke dalam media produksi berupa *yeast extract* 0,5 g, pepton 1,0 g, NaCl 0,5 g, pati 2,0 g dan KH_2PO_4 0,1 g dengan volume 100 mL. Selanjutnya digoyang-goyangkan dengan *shaker* selama 18 jam dengan suhu ruang. Setelah media produksi tersuspensi, media tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 5000

rpm selama 10 menit dengan suhu 4°C. Hal tersebut dilakukan untuk memisahkan endapan dan filtratnya. Filtrat yang didapat akan digunakan sebagai ekstrak kasar enzim α -amilase (Hu & Liu, 2021).

3.5.5 Pembuatan Kurva Standart Glukosa

Larutan standart glukosa dibuat dengan variasi konsentrasi 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/mL. Kemudian diambil masing-masing 1 mL larutan glukosa dengan konsentrasi yang berbeda. Dimasukkan larutan tersebut ke dalam tabung reaksi yang berbeda dan ditambahkan dengan 1 mL reagen DNS. Lalu dipanaskan dengan air mendidih selama 10 menit menggunakan *waterbath* untuk menyempurnakan reaksi yang terjadi. Kemudian dibiarkan hingga suhunya menurun pada suhu ruang. Ditambahkan larutan K-Na tartrat sebanyak 1 mL dan aquades hingga volumenya menjadi 5 mL. Selanjutnya diukur absorbansi sampel dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm (Nisa, dkk., 2021).

3.5.6 Aktivitas Enzim Amilase

Pengukuran aktivitas enzim amilase dilakukan dengan variasi pH terdiri dari pH 5-6 (buffer sitrat) dan pH 7-9 (buffer fosfat). Sebanyak 0,02 g substrat pati 1% dicampurkan dengan larutan pH 5, 6, 7, 8 dan 9 sebanyak 2 mL serta ekstrak kasar enzim sebanyak 2 mL. Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda. Sebanyak 0,02 g substrat pati 1% dimasukkan dalam tabung reaksi lainnya dengan ditambahkan larutan variasi pH sebanyak 2 mL tanpa penambahan ekstrak kasar enzim sebagai kontrol. Selanjutnya larutan sampel dan kontrol

diinkubasi selama 60 menit dengan suhu 37°C. Supernatan yang diperoleh kemudian diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan 1 mL DNS lalu diinkubasi selama 10 menit dengan suhu 100°C. Selanjutnya ditambahkan larutan K-Na tartrat sebanyak 1 mL dan aquades hingga volumenya menjadi 5 mL. Seluruh sampel di sentrifus hingga tersuspensi. Tahap selanjutnya ialah mengukur absorbansi seluruh sampel dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm (Hu & Liu, 2021). Aktivitas enzim ditentukan dengan persamaan 3.1 (Asadullah, 2014).

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{\text{Konsetrasi glukosa}}{\text{BM glukosa} \times \text{waktu inkubasi}} \times \frac{\text{volume total}}{\text{volume enzim}} \dots\dots\dots(3.1)$$

3.6 Analisis Data

Data hasil yang diperoleh dari penelitian ini meliputi data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif akan disajikan secara deskriptif. Data kuantitatif akan dianalisis menggunakan metode *One Way* ANOVA dengan satu faktor yaitu pH. Aplikasi yang digunakan untuk menganalisis hasil data adalah aplikasi *Statistical Package For The Social Sciences* (SPSS), apabila terdapat perbedaan nyata signifikan akan dilanjutkan dengan uji lanjut Beda Nyata Jujur (*Turkey's* HSD).

BAB IV

PEMBAHASAN

Bacillus sp. hasil isolasi dari bekatul diuji untuk mengetahui aktivitas enzim amilase. Pengujian dilakukan dengan menggunakan satu variasi yaitu pH. Sebelum pengujian, dilakukan peremajaan bakteri, uji kualitatif dengan iodine dan produksi enzim. Pengujian aktivitas amilase secara kuantitatif dilakukan dengan metode 3,5-dinitrosalisilat (DNS) disertai dengan kontrol berupa substrat pati tanpa penambahan enzim untuk membandingkan gula reduksi yang dihasilkan oleh aktivitas enzim amilase.

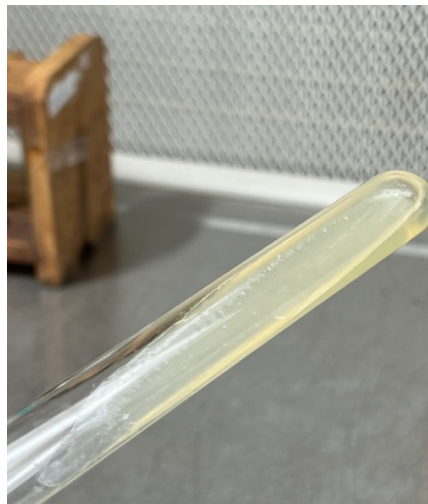
4.1 Peremajaan Isolat *Bacillus sp.*

Bakteri yang digunakan dalam proses produksi enzim adalah bakteri *Bacillus sp.* dari koleksi kultur bakteri Laboratorium Biokimia Universitas Islam Negeri Malang. Bakteri telah disimpan dalam lemari pendingin sehingga untuk menggunakannya diperlukan peremajaan. Peremajaan bakteri bertujuan agar bakteri yang akan digunakan dari biakan dalam kondisi dorman menjadi aktif untuk memulai kembali metabolisme setelah penyimpanan yang cukup lama. Selain itu peremajaan bakteri dibutuhkan untuk menjaga nutrisi bakteri (Wijayati, dkk., 2014).

Media pertumbuhan untuk isolat bakteri *Bacillus sp.* adalah media *Nutrient Agar* (NA) dengan permukaan miring. Media NA telah banyak digunakan sebagai medium kultivasi karena mengandung nutrisi yang mendukung pertumbuhan bakteri. Komposisi dari media tersebut ialah pepton, *beef extract*,

yeast extract, agar dan natrium klorida (NaCl) (Manalu, 2017). Pepton, *beef extract* dan *yeast extract* dibutuhkan sebagai sumber karbohidrat, nitrogen dan vitamin. Penambahan garam atau natrium klorida berfungsi untuk menyeimbangkan tekanan osmotik antara bakteri dengan media agar bakteri tidak mati saat ditumbuhkan (Uthoyasooriyan, dkk, 2016).

Bakteri *Bacillus sp.* diremajakan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) secara aseptis. Biakan bakteri diambil menggunakan ose yang telah dipanaskan di atas api bunsen baik sebelum atau sesudah penanaman biakan. Hal tersebut dilakukan untuk mematikan mikroorganisme lain yang berada di ose (Waluyo, 2011). Kemudian ose dengan biakan bakteri tersebut digoreskan pada media NA miring. Biakan baru selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan suhu ruang (Avci, dkk., 2016).



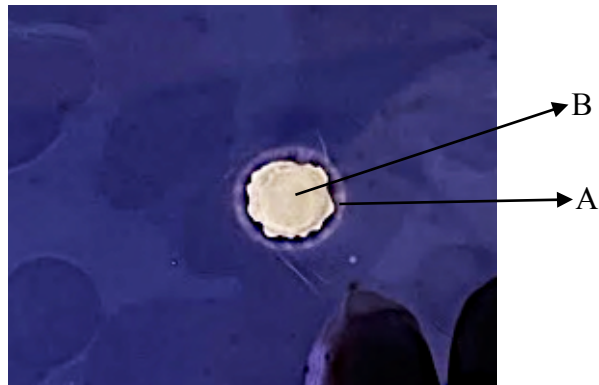
Gambar 4.1 Hasil peremajaan *Bacillus sp.*

Waktu inkubasi bakteri umumnya selama 24 jam karena diasumsikan bakteri telah mencapai fase eksponensial yang ditandai dengan melimpahnya sel bakteri sehingga siap untuk dipanen (Saropah, dkk., 2012). Berdasarkan Gambar 4.1

bakteri yang telah diremajakan membentuk koloni baru dengan warna putih kekuningan dengan kepadatan sel pada media. Berdasarkan hasil peremajaan tersebut dapat dinyatakan bahwa bakteri *Bacillus sp.* yang telah diregenerasi berhasil diremajakan.

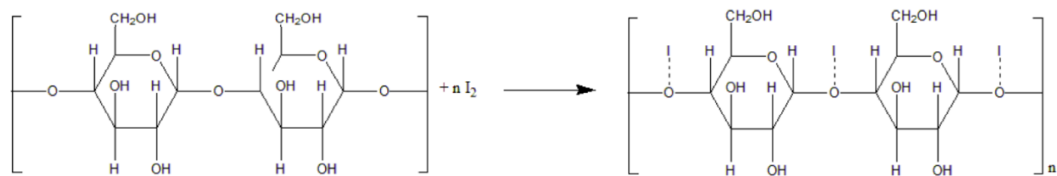
4.2 Uji Kualitatif Aktivitas Amilolitik oleh *Bacillus sp.*

Tahapan awal untuk menguji kemampuan amilolitik bakteri *Bacillus sp* dalam menghasilkan enzim amilase adalah tahap uji kualitatif. Uji kualitatif dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media pertumbuhan padat yang ditambahkan dengan substrat pati 2% (Sundari, dkk., 2019). Potongan kertas cakram yang telah steril direndam dalam biakan kultur bakteri *Bacillus sp.* selama 30 menit. Kemudian potongan kertas cakram diletakkan pada media pertumbuhan padat tepat di bagian tengah medium dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah 24 jam bakteri diinkubasi dituangkan larutan iodine di atas kultur bakteri. Adanya aktivitas amilolitik akan ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar kultur bakteri (Melisha, 2016). Munculnya zona bening menyatakan bahwa pati dalam media agar terhidrolisis oleh enzim amilase yang dieksresikan oleh bakteri (Kusumaningrum dan Ali, 2015). Hasil dari uji kualitatif amilolitik bakteri *Bacillus sp.* ditampilkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Zona bening (A) dari isolat *Bacillus sp.*(B)

Pewarnaan dengan larutan iodin (I_2) memberikan efek warna biru muda hingga biru tua. Warna biru tua yang dihasilkan terjadi karena pembentukan senyawa kompleks sebab amilosa membentuk kumparan heliks di sekitar molekul iodin. Apabila amilosa terputus menjadi senyawa kompleks yang pendek akan menyebabkan warna menjadi lebih muda sebab adanya perubahan ikatan kompleks dengan senyawa iodin (Adnan, dkk., 2017). Reaksi antara iodin dan pati menghasilkan pembentukan kompleks iodin-pati. Proses ini terjadi saat molekul iodin (I_2) berinteraksi dengan rantai polimer pati, terutama amilosa. Perubahan warna disebabkan perubahan energi elektron kompleks iodin-pati yang menyebabkan penyerapan cahaya pada panjang gelombang warna biru (Mustakin dan Tahir, 2019). Reaksi iodin-pati tersebut ditampilkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Reaksi antara pati dengan reagen iodin (Fleischer, 2019)

Bakteri dapat menghasilkan enzim amilase dengan menghidrolisis sumber karbon yang berasal dari pati sebagai bahan pertumbuhan bakteri. Enzim amilase

mampu memecah ikatan polimer pati yang melibatkan proses iodinisasi amilum. Proses iodinisasi ialah dimana terbentuk molekul-molekul yang mampu menyerap cahaya kecuali gelombang warna biru. Ketika amilum diubah oleh enzim amilase menjadi maltosa dan glukosa tidak akan terbentuk warna biru sebab tidak terbentuknya spiral. Tidak adanya warna biru menandakan adanya hidrolisis amilum (Wahyudi, dkk., 2014).

Besar kecilnya ukuran zona bening bergantung pada kemampuan enzim amilase dalam menghidrolisis substratnya. Uji kualitatif yang diperoleh pada penelitian kali ini menunjukkan hasil indeks amilolitik (IA) oleh *Bacillus sp.* sebesar 0,225 ditampilkan pada Lampiran 4. Nilai indeks amilolitik dengan rentang kurang dari 1,1 tergolong dalam kategori rendah (Choi, dkk., 2005). Penelitian oleh Suprpto dkk., (2014) menunjukkan isolat *Bacillus cereus* memberikan indeks amilolitik (IA) sebesar 3,373 dan isolat *Bacillus subtilis* memberikan indeks amilolitik sebesar 6,995. Penelitian lainnya melaporkan jika *Bacillus spp.* memberikan indeks amilolitik pada rentang 1,18 hingga 1,65 (Luang-in dkk., 2019).

4.3 Produksi Enzim Amilase

Bakteri *Bacillus sp.* menghasilkan enzim amilase secara ekstraseluler yang dapat mendegradasi pati menjadi disakarida atau trisakarida. Enzim amilase digunakan untuk mengolah sumber nutrisi di luar sel dan membawanya ke dalam sel untuk dijadikan sumber energi pertumbuhan bakteri (Bhaskara, dkk., 2011). Proses produksi enzim dimulai dengan pembuatan inokulum bakteri, di tahap ini dilakukan pengukuran *optical density* (OD) atau kerapatan optis. Alat yang

digunakan untuk mengukur OD adalah spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm (Munna, dkk., 2015). Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui banyaknya bakteri dalam inokulum. Setelah didapat nilai OD dilakukan pengenceran hingga nilai OD 0,5. Pengenceran dilakukan untuk menyamakan jumlah bakteri dalam media yang digunakan untuk produksi enzim (Seniati, dkk., 2019). Menurut Claudia, dkk., (2021) standard perkiraan jumlah bakteri yang digunakan untuk melakukan percobaan hasil biakan bakteri yaitu 1×10^7 sel/mL.

Tahap produksi enzim dilakukan dengan menginkubasi media produksi selama 24 jam dengan bantuan *shaker* pada suhu ruang. Pada penelitian ini, diamati secara fisik dimana media produksi menjadi lebih keruh dari sebelumnya setelah proses inkubasi. Proses pengadukan dengan *shaker* membantu aerasi dan penyerapan nutrien ke dalam sel bakteri sehingga kekeruhan yang muncul dalam medium inokulum semakin meningkat. Hal tersebut sesuai dengan penjelasan dari Ningsih, dkk., (2012) bahwa pertumbuhan koloni ditandai dengan kehadiran kekeruhan dalam medium yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Proses ekstraksi dilakukan selama 24 jam sebab terjadi fase eksponensial dimana jumlah sel bakteri terus bertambah seiring dengan meningkatnya sintesis enzim amilase (Arfiati, dkk., 2020). Isolat *Bacillus sp.* mencapai fase eksponensial pada jam ke-24 dan menuju fase stationer pada jam ke-24 hingga ke-48 (Jannah, dkk., 2018). Pada fase eksponensial enzim amilase yang diproduksi oleh bakteri akan semakin meningkat setara dengan kenaikan sumber karbon, sehingga digunakan substrat pati dengan konsentrasi 2%

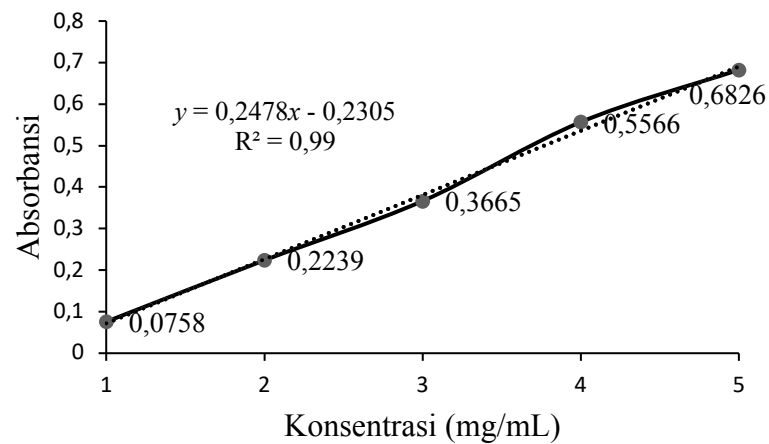
berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Sundari, dkk., (2019).

Ekstrak kasar enzim diperoleh dengan teknik sentrifugasi. Teknik tersebut merupakan pemisahan sel-sel bakteri sebab adanya gaya gravitasi. Adanya gaya gravitasi membuat pemisahan sel bakteri membentuk dua kategori yaitu endapan dan ekstrak kasar enzim yang berupa cairan supernatan. Enzim amilase terpisah ke dalam supernatan karena enzim memiliki ukuran dan berat molekul yang lebih kecil daripada komponen-komponen lain dari sampel ekstrak kasar. Kekuatan sentrifugal dari mesin *sentrfuge* akan menyebabkan pemisahan berdasarkan perbedaan densitas antara enzim dan komponen lainnya dalam media. Proses sentrifugasi dilakukan dengan suhu rendah yaitu 4°C untuk menjaga agar tidak terjadi denaturasi atau kerusakan pada enzim (Putri, 2014).

4.4 Kurva Standar Glukosa

Aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh *Bacillus sp.* dianalisa dengan pengukuran gula reduksi. Metode pengukuran gula reduksi yang dipakai pada penelitian ini ialah metode dinitrosalisilat (DNS). Metode DNS biasa digunakan untuk menentukan aktivitas enzim berdasarkan konsentrasi gula reduksi. Metode tersebut banyak digunakan sebab dapat mendeteksi gula reduksi dengan konsentrasi terendah (Wood, dkk., 2012). Kadar gula reduksi yang dihasilkan oleh aktivitas enzim dapat diketahui berdasarkan nilai absorbansi dengan membuat kurva standar glukosa. Pada penelitian kali ini digunakan larutan standar glukosa dengan rentang konsentrasi tertentu. Hal tersebut dilakukan sebagai indikator aktivitas enzim amilase dalam memproduksi gula reduksi oleh bakteri amilolitik

(Nisa, dkk., 2021). Berdasarkan hasil regresi linier larutan standar glukosa antara konsentrasi (x) dan absorbansi (y) diperoleh persamaan $y=0,2478x - 0,2305$. Kurva standar glukosa dengan persamaan tersebut ditampilkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Kurva standar glukosa

Metode DNS dapat menganalisis produk sederhana dari glukosa berupa monosakarida, disakarida, berbagai oligomer larut serta zat lain yang dilepaskan selama hidrolisis amilosa. Metode tersebut mereduksi 3,5-dinitrosalisilat menjadi 3-amino,5-nitrosalisilat oleh gugus aldehida pada gula pereduksi yang ditandai dengan reaksi pembentukan warna (Marsden, dkk., 1982). Reaksi tersebut ditampilkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Reaksi antara glukosa dengan reagen DNS (Singh, dkk., 2021)

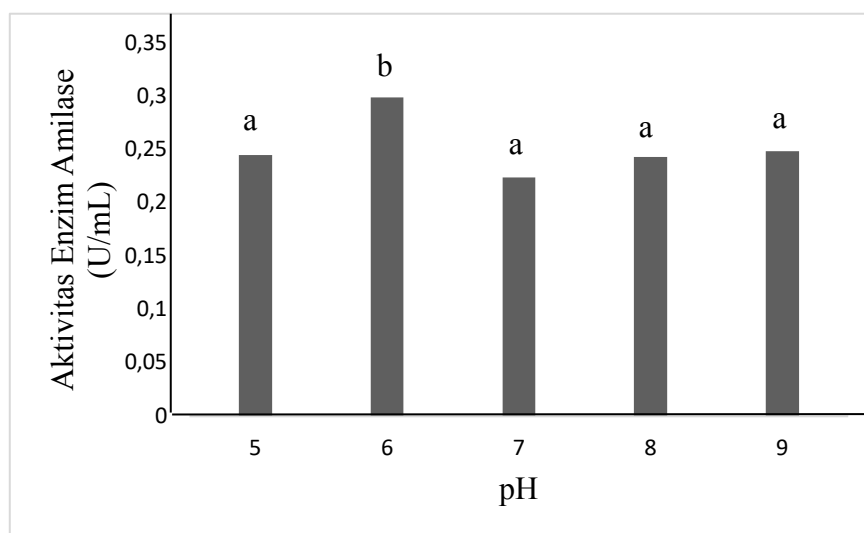
Berdasarkan reaksi yang ditampilkan pada Gambar 4.5, glukosa merupakan salah satu gula reduksi yang memiliki gugus aldehida dan dapat mengalami reaksi oksidasi. Reagen DNS mengandung senyawa dinitrosalisilat yang memiliki gugus nitro (-NO₂). Apabila reagen DNS dicampur dengan larutan yang mengandung gula reduksi, gugus aldehida dan keton di dalam gula reduksi akan mengalami reaksi oksidasi. Selama reaksi oksidasi gugus aldehida atau keton akan berinteraksi dengan senyawa dinitrosalisilat membentuk kompleks baru dengan struktur dan sifat optik yang berbeda (Jain, dkk., 2020).

Ekstrak kasar enzim direaksikan dengan reagen DNS, reaksi tersebut terjadi pada suhu tinggi dimana reaksi akan terus berlangsung selama masih terdapat gula reduksi dalam larutan. Perubahan warna yang terjadi dalam reaksi ialah warna kuning menjadi kemerahan hingga kecoklatan. Reagen DNS dibuat dengan beberapa bahan pendukung. Miller (1959) menjelaskan penambahan NaOH akan memberi suasana basa yang mempertahankan reagen tidak larut dalam oksigen. Penambahan fenol bertujuan untuk meningkatkan jumlah warna yang dihasilkan. Selain itu ada juga asam sulfit yang berfungsi untuk menstabilkan warna yang didapat dalam kehadiran fenol. Begitu pula dengan penambahan K-Na Tartrat bertujuan untuk mereduksi glukosa terhadap asam dinitrosalisilat dan menstabilkan kompleks dari senyawa pengganggu.

4.5 Uji Aktivitas Enzim Amilase oleh *Bacillus sp.*

Enzim merupakan senyawa dengan cara kerja yang spesifik. Suatu enzim hanya dapat bekerja dengan substrat tertentu. Aktivitas dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti konsentrasi substrat, pH dan suhu. Pada penelitian ini

berfokus terhadap pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim amilase (Damira, dkk., 2021). Aktivitas enzim dihitung berdasarkan absorbansi yang didapat dari analisa UV-Vis, dengan menggunakan persamaan yang telah diperoleh pada pembuatan kurva standar. Hasil aktivitas enzim ditampilkan pada Lampiran 8.



Gambar 4.6 Aktivitas enzim amilase *Bacillus sp.*

Keterangan:

Notasi a: Subset 1

Notasi b: Subset 2

Faktor pengaruh pH yang digunakan dalam uji penelitian ini adalah pH 5, 6, 7, 8 dan 9. Berdasarkan Gambar 4.6 menunjukkan bahwa aktivitas enzim mempunyai variasi pada berbagai tingkat pH. Pada pH 5 aktivitas enzim mencapai 0,245 U/mL. Aktivitas enzim meningkat pada pH 6 sebesar 0,299 U/mL tetapi aktivitas enzim mengalami penurunan pada pH 7 menjadi 0,224 U/mL. Pada pH 8 aktivitas enzim yang diperoleh sebesar 0,234 U/mL dan pada pH 9 aktivitas enzim mencapai 0,249 U/mL. Besar kecilnya aktivitas enzim amilase menunjukkan bahwa peningkatan nilai pH dapat mempengaruhi aktivitas enzim pada tingkat yang signifikan.

Reaksi berlangsung lambat pada kondisi pH yang tidak optimum baik kondisi pH yang terlalu rendah (asam) atau pH yang terlalu tinggi (basa). Pada kondisi pH yang ekstrim enzim dapat terdenaturasi dimana kondisi tersebut dapat mengganggu sisi aktif enzim yang menyebabkan reaksi enzim melambat disertai menurunnya nilai aktivitas enzim. Enzim terdiri dari rantai polipeptida yang terdiri dari banyak asam amino. Sisi aktif enzim adalah bagian dimana reaksi katalitik terjadi dan asam amino memiliki beberapa bagian kecil dan masing-masing dapat berinteraksi dengan substrat. Proses hidrolisis amilase melibatkan sisi aktif enzim yang terdiri dari 3 asam amino yaitu 1 asam glutamat dan 2 asam aspartat. Asam glutamat berfungsi sebagai pemberi proton sedangkan salah satu asam aspartat berfungsi sebagai nukleofil (Lowe, dkk., 2004). pH dapat mempengaruhi sifat kimia asam amino yang terlibat dalam katalisis. Asam amino tersebut memiliki sifat terbaik pada pH tertentu untuk menghasilkan aktivitas enzim yang maksimal. Selain itu pH juga dapat mempengaruhi struktur enzim amilase dan kemampuannya dalam berikatan dengan substrat. Proses hidrolisis amilase membutuhkan pH yang sesuai agar proses katalitik optimal, efisien dan reaksi berjalan cepat (Samanta, 2022).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ahmadi, dkk. (2010) dengan isolat bakteri *Bacillus sp.* menunjukkan aktivitas enzim optimal pada pH 6,5-8. Pada penelitian yang dilakukan oleh Samanta, dkk. (2014) dengan isolat bakteri *Bacillus licheniformis* optimal pada pH 6,5 dengan aktivitas enzimnya sebesar 3,8 U/mL. Selain penelitian tersebut, bakteri *Bacillus subtilis* menunjukkan aktivitas enzimnya sebesar 22,14 U/mL dan bakteri *Bacillus licheniformis* sebesar 18,15 U/mL dengan pH optimumnya ialah pH 6 (Msarah, dkk., 2020). Berdasarkan

penelitian ini dan beberapa penelitian terkait menunjukkan bahwa enzim amilase pada berbagai jenis bakteri memiliki perbedaan pH optimum. Menurut Ray (2011) enzim amilase pada bakteri dengan genus *Bacillus* memiliki pH optimum dengan rentang 5-8.

Hasil analisis statistik menggunakan ANOVA pada variasi pH terhadap aktivitas enzim amilase ditampilkan dalam Lampiran 9., dimana menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($7,150 > 3,478$) dengan probabilitas (sig.) sebesar 0,000 lebih kecil dibanding nilai $\alpha=0,05$. Berdasarkan hasil analisis tersebut dapat dinyatakan bahwa variasi pH memberikan pengaruh signifikan terhadap aktivitas enzim amilase *Bacillus sp.*, sehingga perlu dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Turkey's* untuk mengetahui adanya perbedaan antar variasi pH. Berdasarkan uji *Turkey's* pada Lampiran 9. menunjukkan bahwa pH 5, 7, 8 dan 9 tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Hal tersebut disimbolkan dengan notasi A. Pada pH 6 menunjukkan simbol notasi yang berbeda (notasi B) sehingga dapat diketahui bahwa pH 6 berbeda nyata dan berpengaruh secara signifikan terhadap aktivitas enzim amilase *Bacillus sp.* Berdasarkan hasil analisis statistik tersebut dapat dinyatakan bahwa pH optimum pada penelitian ini adalah pH 6 dengan aktivitas enzim amilase sebesar 0,299 U/mL.

4.6 Enzim Amilase dari Bakteri dalam Kajian Keislaman

Pengetahuan tentang bakteri dan peranannya semakin berkembang seiring dengan kemajuan teknologi dan penelitian. Banyak penelitian yang dilakukan untuk mendalami peranan bakteri termasuk dalam bidang industri, kesehatan dan pangan. Hal ini telah dibahas di dalam al-Qur'an bahwasanya Allah menciptakan segala sesuatu untuk memudahkan manusia, sehingga dalam penelitian ini al-Qur'an mampu menjadi pedoman dan motivasi untuk tujuan yang positif. Sebagaimana firman Allah dalam QS. az-Zumar ayat 21:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنَابِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُّخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهِيجُ فَتَرَاهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَامًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِ الْأَلْبَابِ ۝

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 tersebut, Allah SWT sebagai pencipta alam semesta beserta isinya termasuk juga makhluk mikroskopis seperti bakteri. Ayat tersebut menyatakan bahwa Allah berkuasa atas segala ciptaannya baik yang tampak ataupun tidak tampak. Di ujung surat az-Zumar dijelaskan “bagi orang-orang yang mempunyai akal” memiliki makna untuk membandingkan antara yang satu dengan yang lain. Hal tersebut dibutuhkan agar manusia mendapat banyak perbandingan sehingga mampu menambah pemahaman atas kekuasaan Allah (Hamka, 2001). Apabila dikaitkan dengan ciptaan Allah yang tidak tampak seperti

bakteri, maka akal manusia diperlukan untuk memahami adanya bakteri, mulai dari bentuknya, jenis, morfologi hingga manfaatnya. Menurut Tanyildizi, dkk. (2005), bakteri penghasil enzim amilase mulai banyak digunakan dalam bidang industri. Penggunaan enzim yang berasal dari bakteri lebih stabil dan murah dalam segi biaya produksi dibandingkan dari tumbuhan dan hewan.

Allah SWT telah menciptakan segalanya lengkap dengan manfaatnya. Bakteri yang merupakan makhluk tak terlihat (mikroskopis) diciptakan dengan manfaat yang luas, namun hal tersebut tak terlepas dari adanya batasan. Bakteri mampu menghasilkan enzim untuk membantu proses metabolisme di dalam selnya. Enzim merupakan molekul protein yang membantu mempercepat reaksi kimia dalam suatu organisme. Bakteri mensekresi amilase di luar sel mengubah substrat menjadi bentuk yang lebih sederhana dan menyerap ke dalam sel (Divakaran dkk., 2011). Banyak faktor yang mampu mengganggu cara kerja enzim sehingga menghambat kecepatan reaksi kimia. Faktor yang mempengaruhi kinerja enzim berasal dari lingkungan enzim seperti pH, suhu, konsentrasi substrat, ion logam dan sebagainya. Hal tersebut dijelaskan dalam surat al-Qamar ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ۝

Artinya:

“Sungguh, Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran” (QS. az-Zumar: 49)

Hamka (2011) dalam tafsir al-Azhar menjelaskan Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan proporsi dan pengaturan yang sesuai. Setiap ciptaanNya memiliki potensi yang seimbang dan saling menunjang. Pada penelitian kali ini dilakukan uji aktivitas enzim amilase dari *Bacillus sp.* yang bekerja secara optimal

dengan pH yang sesuai. pH yang tinggi ataupun rendah mampu mengganggu kinerja enzim sehingga dapat mempengaruhi aktivitas enzim dan merusak struktur enzim itu sendiri. pH optimum yang diperoleh dari penelitian ini adalah pH 6 dengan aktivitas enzimnya sebesar 0,299 U/mL. terlihat jelas bahwa Allah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan proporsi yang tepat. Termasuk aktivitas enzim amilase dari *Bacillus sp.* yang sangat tergantung pada kondisi pH.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian data yang diperoleh berupa aktivitas enzim amilase. Variasi pH memberikan pengaruh signifikan terhadap aktivitas enzim amilase dengan kepercayaan sebesar 95%. Pada pH 6 terdapat perbedaan signifikan, sehingga aktivitas enzim amilase tertinggi diperoleh sebesar 0,2990 U/mL. Aktivitas enzim amilase terendah sebesar 0,2237 U/mL pada pH 7.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan yaitu sebagai berikut:

- a. Melakukan uji karakteristik dengan faktor lain yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim seperti suhu, konsentrasi substrat, pengaruh ion logam dan sebagainya.
- b. Melakukan pemurnian enzim untuk meningkatkan aktivitas enzim.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, N. S., Wahyuni, S. dan R. Andi K. 2017. Pengujian Sifat Amilolitik dan Proteolitik dari Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Hasil Fermentasi Air Cucian Beras Merah (*Oryza nivara*) Kultivar Wakawondu. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*, 2(5): 759-769.
- Ahmadi, A., Ghobadi, S., Khajeh, K., Nomanpour, B dan Dalfard, A. B. 2010. Purification of α -Amylase from *Bacillus sp.* GHA1 and Its Partial Characterization. *Journal of Iranian Chemical. Society*, 7(2): 432-440.
- Arfiati, D., Lailiyah, S., Dina, K. F. dan Cokrowati, N. 2020. Dinamika Jumlah Bakteri *Bacillus subtilis* dalam Penurunan Kadar Bahan Organik Tom Limbah Budidaya Ikan Lele Sangkuriang(*Clarias gariepinus*). *Journal Of Fisheries and Marine Research*, 4(2): 222-226.
- Ariandi. 2016. Pengenalan Enzim Amilase (*Alpha-Amylase*) dan Reaksi Enzimatiknya Menghidrolisis Amilosa Pati Menjadi Glukosa. *Jurnal Dinamika*, 7 : 74–82.
- Arunsasi, S, M., G, Jegadeesh., M, Ravikumar. 2010. Submerged Fermentation of Amylase Enzyme By *Aspergillus flavus* Using *Cocos nucifera* Meal. *Kathmadu University Journal of Science, Engineering and Technology*, 6 : 75–87.
- Aryani, S. W. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Selulase dari Kapang Selulolitik *Mucor sp.*B2. *Skripsi*. Surabaya: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.
- Asadullah, M. 2014. Isolasi Bakteri Amilolitik dari Bekatul dan Uji Kemampuan untuk Produksi Enzim Amilase Kasar pada Berbagai Jenis Media Produksi. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Avci, A., Adem, D., Inan, I., Yuksel, S., Sahin, K. G. dan Kalka, Z. 2016. Production of Amylase by A Novel *Bacillus sp.* ZBP10 in Submerged Fermentation. *GIDA*, 41(3): 131-136.
- Azizah, N. 2017. Pemurnian Enzim Selulase dari Isolat Khamir Jenis *Candida utilis* Menggunakan Fraksinasi Amonium Sulfat. *Skripsi*. Makassar: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Bhaskara, R. K. V., K. Ashwini., Kumar, G. dan L, Karthik. 2011. Optimization, Production and Partial Purification of Extracellular α -Amylase from *Bacillus sp. marini*. *Scholars Research Library*, 3(1): 33-42.

- Beniwal, V. and Sharma, A. K. (Ed.). 2014. *Industrial Enzymes: Trends, Scope and Relevance*. New York: Nova Publishers.
- Benjamin, S., Smitha, R. B., Jisha, V. N., Pradeep, S., Sajith, S., Sreedevi, S. dan Priji, P. 2013. A Monograph On Amylase From *Bacillus spp.* *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 4: 227-241.
- Choi, Y. W., Hodgkiss, I. J dan Hyde, K. D. 2005. Enzyme Production by Endophytes of *Brucea javanica*. *Journal of Agricultural Technology*, 55-66.
- Claudia, K. M., Nursyirwani dan Effendi, I. 2021. Biodegradability of Proteolytic Bacteria in Mangrove Ecosystem. *Journal of Coastal and Ocean Sciences*, 2(2): 120-126.
- Damira, Firdha, N., Farma, S. A., Atifah, Y dan Batungale, S. 2021. Aktivitas Enzim Amilase pada Saliva dan Enzim Protease pada Sekret Pankreas *Rana esculenta*. *Prosiding SEMNAS BIO*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Divakaran, D., Chandran, A. dan R, Pratap C. 2011. Comparative Study On Production of α -Amylase From *Bacillus Licheniformis* Strains. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42: 1397-1404.
- Ertan, F., Balkan, B., Balkan, S dan Aktac, T. 2006. Solid State Fermentation For The Production of α -Amylase From *Penicillium chrysogenum* Using Mixed Agricultural By Products As Substrate. *Journal Biologia*, 61(6): 657-661.
- Estrada, R., Kartika, R. dan Astuti, W. 2018. Isolasi dan Penentuan Kondisi Kerja Optimum Amilase dari Talas Bogor. Di dalam: *Seminar Nasional Kimia. Prosiding Seminar Nasional Kimia 2018*; Samarinda. Samarinda: Kimia FMIPA Universitas Mulawarman: 60-66.
- Faizah, M. 2017. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Protease *Bacillus subtilis* dari Daun Kenikir (*Cosmos sulphureus*) yang Ditumbuhkan dalam Media Campuran Limbah Cair Tahu dan Dedak. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Fitriani, L., Krisnawati, Y., Anorda, M. O. R. dan Lanjarini, K. 2018. Jenis-jenis dan Potensi Jamur Makroskopis yang Terdapat di PT Perkebunan Hasil Muisi Lestari dan PT Djuanda Sawit Kabupaten Musi Rawas. *Jurnal Biosilampari: Jurnal Biologi*, 1(1): 21-28.

- Fleischer, H. 2019. The Iodine Test for Reducing Sugar – A Save, Quick and Easy Alternative To Copper (II) and Silver (I) Based Reagent. *World Journal of Chemical Education*, 7(2): 45-52.
- Gandjar, I. & Sjamsuridzal, W. 2006. *Mikologi: Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Ghosh, P., Das, A., Gayen, S., Mondal, K.C., Ghosh, U. 2015. Statistical Optimization of α -Amylase Production from *Penicillium notatum* NCIM 923 and Kinetics Study of The Purified Enzyme. *Acta Biologica Szegediensis*, 59(2): 179-188.
- Hamka. 2001. *Tafsir Al-Azhar Jilid 5*. Singapura: Kerjaya Printing Industries Pte Ltd.
- Hamka. 2001. *Tafsir Al-Azhar Jilid 6*. Singapura: Kerjaya Printing Industries Pte Ltd.
- Hamka. 2001. *Tafsir Al-Azhar Jilid 8*. Singapura: Kerjaya Printing Industries Pte Ltd.
- Hamka. 2001. *Tafsir Al-Azhar Jilid 9*. Singapura: Kerjaya Printing Industries Pte Ltd.
- Hasanah, N. dan Iwan, S. 2015. Aktivitas Selulase Isolat Jamur dari Limbah Media Tanam Jamur Merang. *Jurnal Prosedium Seminar Masyarakat Biodiv Indonesia*, 1(1): 1110–1115.
- Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus spp. Oseana*, 25(1): 31-41
- Hu, Q. dan Li, J. 2021. Production of α -Amylase bu *Bacillus subtilis* QM3 and its Enzymatic Properties. *Open Access Library Journal*, 8:e7291
- Istia'nah, D., Utami U., Barizi, A. 2020. Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus negaterium* Pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*, 2(1): 11-17
- Iswendi. 2009. Penentuan Aktivitas Amilase dari Umbi Bengkuang (*Pachyrrizus arosus* L.Urb) Hasil Ekstraksi dengan Etanol dan Ammonium Sulfat. *Jurnal Saintek*, 2(2): 94-98.
- Jain, A., Jain, R. dan Jain, S. 2020. *Basic Techniques In Biochemistry, Microbiology and Molecular Biology: Springer Protocols Handbooks*. New York: Humana Press.
- Jannah, A., Aulanni'am, A.T. dan Suharjono. 20118. Isolation, Cellulase Activity Test and Molecular Identification of Selected Cellulolytic Bacteria Indigenous Rice Bran. *Indonesian Journal of Chemistry*, 18(3): 514-521.

- Jayanti, D., Wuryanti dan Taslimah. 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Amobilisasi α -Amilase dari *Aspergillus oryzae* FNCC 6004. *Chem Info*, 1(1): 76–84.
- Jayanti, R. T. 2011. Pengaruh pH, Suhu Hidrolisis Enzim α -Amilase dan Konsentrasi Ragi Roti untuk Produksi Etanol Menggunakan Pati Bekatul. *Skripsi*. Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- Joshi, N., Andhare, P., Marchawala, F., Bhattacharya, I. dan Upadhyay, D. 2021. A Study On Amylase: Review. *International Journal of Biology, Pharmacy, and Allied Sciences*, 10(4): 333-340.
- Khairina, A dan Yuanita, L. 2015. Pengaruh Variasi Lama Penyimpanan Umbi Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) terhadap Kadar Glukosa Darah *Rattus norvegicus*. *Journal of Chemistry*, 4(1).
- Kusumaningrum, Y dan Ali, A. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik dari Industri Pengolahan Pati Sagu. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Riau*, 2(1): 1-11.
- Lowe, M. E. 2004. *Encyclopedia of Gastroenterology*. Missouri: Washington University School of Medicine.
- Luang-In, V., Yotchaisarn, M., Saengha, W., Udomwong, P., Deeseenthum, S dan Maneewan, K. 2019. Isolation and Identification of Amylase-Producing Bacteria from Soil in Nasinuan Community Forest, Maha Sarakham, Thailand. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 12(3): 1061-1068.
- Manalu, R. T. 2017. Isoalasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Asal Indonesia. *Sainstech Farma*, 10(2): 23-28.
- Marsden, W. L., Gray, P. P., Nippard, G. J dan Quinlan, M. R. 1982. Evaluation of The DNS Method For Analysing Lignocellulosic Hydrolysates. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 32(7-12): 1016-1022.
- Miller, G. L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Journal of Analytical Chemistry*, 31: 426-428.
- Msarah, M. J., Ibrahim, I., Hamid, A. A. dan Aqma, Q. S. 2020. Optimization and Production of Alpha Amylase from Thermophilic *Bacillus spp.* And Its Application In Food Waste Biodegradation. *Heliyon*, e04183.
- Mukamto, Ulfah, S., Mahalina, W., Syauqi, A., Istiqfaroh, L. dan Trimulyono, G. 2015. Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus sp.* Pelarut Fosfat dari Rhizosfer Tanaman *Leguminosae*. *Sains & Matematika*, 3(2): 62-68.

- Munna, Md. S., Tahera, J., Afrad, Md. M. H., Nur, I. T. dan Noor, R. 2015. Survival of *Bacillus spp.* SUBB01 At High Temperatures and A Preliminary Assessment of Its Ability to Protect Heat-Stressed *Eschericia coli* Cells. *BMC Research Notes*, 8:637.
- Mustakin, F. dan Tahir, M. M. 2019. Analisis Kandungan Glikogen Pada Hati, Otot dan Otak Hewan. *Canrea Journal*, 2(2): 75-80.
- Nangin, D. dan Sutrisno, A. 2015. Enzim Amilase Pemecah Pati Mentah dari Mikroba: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(3): 1032-1039.
- Nisa, I. K., Prabaningtyas, S., Lukiati, B., Saptawati, R. T. dan Rodiansyah, A. 2021. The Potential of Amylase enzyme Activity Against Bacteria Isolated from Several Lake in East Java, Indonesia. *Biodeversitas*, 22(1): 42-49.
- Ningsih, D. R., Rastuti, U. dan Kamaludin, R. 2012. Karakterisasi Enzim Amilse dari Bakteri *Bacillus amyloliquefaciens*. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional 2012*. Purwokerto. Purwokerto: Program Studi Kimia MIPA FST UNSOED: 39-45.
- Nurmalia. 2019. Peningkatan Stabilitas Enzim α -Amilase dari *Aspergillus fumigates* dengan Modifikasi Kimia Menggunakan Dimetiladipimidat. *Skripsi*. Bandar Lampung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Pitarini, D. 2014. *Isolasi Jamur Selulolitik dalam Batubara Serta Uji Aktivitas Selulotiknya Pada Berbagai pH*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Pranay, K., Padmadeo, S. R. dan Prasad, B. 2019. Production of Amylase from *Bacillus subtilis sp.* Strain KR1 Under Solid State Fermentation On Different Agrowastes. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21(4): 101300.
- Pratiwi, Y. H., Ratnayani, O. dan Wirajana, I. N. 2018. Perbandingan Metode Uji Gula Pereduksi dalam Penentuan Aktivitas α -L-Arabinofuranosidase dengan Substrat Janur Kelapa (*Cocos nucifera*). *Jurnal Kimia*, 12(2): 134–139.
- Purwanti, A. C. 2015. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Xilanase dari *Trichoderma viride* yang Ditumbuhkan pada Media Tongkol Jagung. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Negeri Islam Malang.
- Putri, F. I. C. E. 2014. Optimasi Produksi Selulase dari Bakteri Laut *Bacillus cereus*. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

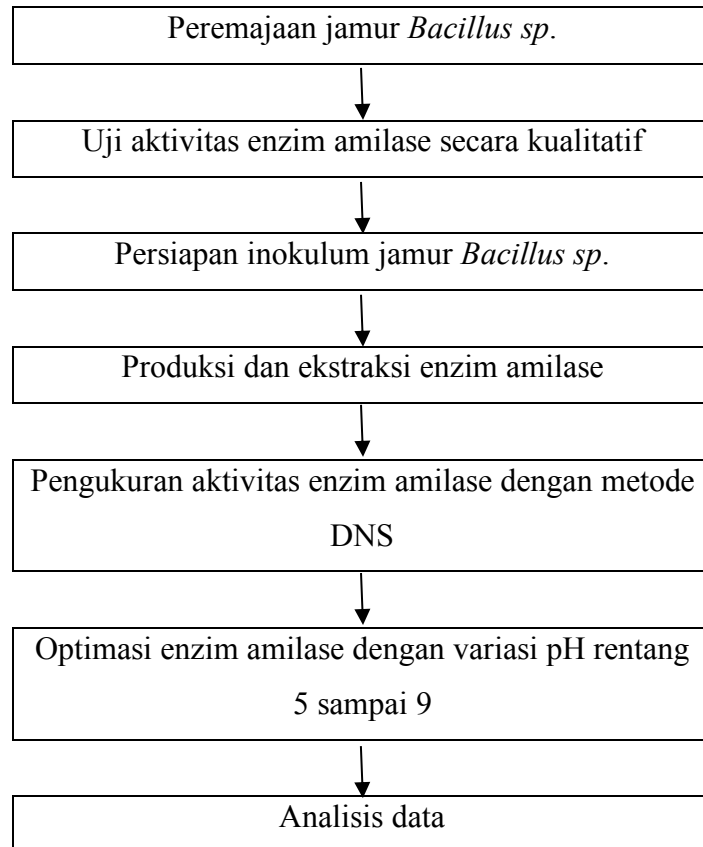
- Putri, S. 2016. Karakterisasi Enzim Selulase yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus plantarum* Pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Negeri Islam Malang.
- Rafsen, H. 2018. Optimasi Produksi dan Karakterisasi Enzim α -Amilase dari Isolat Bakteri Termofil *Bacillus* sp RSSII_{4B} Sumber Air Panas Lejja Soppeng Sulawesi Selatan. *Skripsi*. Makassar: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
- Ray, R. R. 2011. Microbial Isoamylase: An Overview. *American Journal of Food Technology*, 6(1): 1-18.
- Rismawati, Y., Bahri, S. dan Prismawiryati. 2016. Produksi Glukosa dari Jerami Padi (*Oryza sativa*) Menggunakan Jamur *Trichoderma* sp. *Jurnal Riset Kimia*, 2(2): 67–76.
- Sachdev, S., Ojha, S. K. dan Mishra, S. 2016. *Bacillus* spp. Amylase: Production, Isolation, Characterisation and Its Application. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 4(1): 3-14.
- Samanta, S., Das, Arpan., Halder, S. K., Jana, Arijit dan Kar, Sanjay. 2014. Thermodynamic and Kinetic Characteristics of An α -Amylase from *Bacillus licheniformis* SKB4. *Acta Biologica Szegediensis*, 58(2): 147-156.
- Samanta, S. 2022. Structural and Catalytical Features of Different Amylases and their Potential Applications. *Jourdan Journal of Biological Sciences*, 15(2): 311-337.
- Sarah, Putra, S. R. dan Putro, H. S. 2010. Isolasi α -Amilase Termotabil dari Bakteri Termofili *Bacillus stearothermophilus*. Di dalam: *Prosiding Skripsi Kimia FMIPA 2010*. Surabaya. Surabaya: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember: 1-5.
- Saropah, D. A., Jannah, A. dan Maunatin, A. 2012. Kinetika Reaksi Enzimatis ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. *Alchemy*, 2(1): 35-45.
- Sella, S. R. B. R., Vandenberghe, L. P. S. dan Soccol, C. R. 2014. Life Cycle and Spore Resistance of Spore-Forming *Bacillus atrophaeus*. *Microbiological Research*, 169(12): 931-939.
- Sena, H. H., Sanches, M. A., Rocha, D. F. S., Segundo, W. O. P. F., Souza, E. S. de. And Souza, J. V. B. de. 2018. Production of Biosurfactants by Soil Fungi Isolated from the Amazon Forest. *International Journal of Microbiology*, 2018.

- Seniati, M. dan Irham, A. 2019. Pengukuran Kepadatan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara Cepat dengan Menggunakan Spektrofotometer. *Agrokompleks*, 19(2): 12-19.
- Sholihati, M., Baharuddin, M. dan Santi. 2015. Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis*. *Al-Kimia*, 3(2): 78-90.
- Singh, P., Agrawal, M., Gupta, N. dan Khandelwal, A. 2021. Stimulation of *Pithecellubium dulce* (jungle jalebi) Seed with Electromagnetic Exposure and Its Impact On Biochemical Parameter and Growth. *Material Today: Proceedings*, 1-6.
- Sivaramakrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K. M., Soccol, C. S. dan Pandey, A. 2006. α -Amylases from Microbial Sources – An Overview on Recent Developments. *Food Technology and Biotechnology*, 44(22): 173–184.
- Sumardi, Ekowati, C. N., Handayani, K. dan Nurhayati. 2012. Isolasi dan Karakterisais *Bacillus sp.* Penghasil Antimikroba dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung (*Gallus domesticus*). *Prosiding SNSMAIP III*. Lampung: Jurusan Biologi FMIPA Unila.
- Sundari, A. S., Purwani, N. N. dan Kurniati, A. 2019. Isolasi dan Penentuan Indeks Amilolitik Bakteri dari Sediment Mangrove di Wonorejo, Surabaya. *QUANTUM: Jurnal Inovasi Pendidikan Sains*, 10(1): 38-44.
- Suprpto, Gunaedi, T. dan Rumahorbo, B. T. 2014. Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri Amilolitik dari Tepung Sagu Basah dan Lingkungan Tempat Penyediaannya Secara Tradisional di Jayapura. *Jurnal Biologi Papua*, 6(2): 47-52.
- Supriyatna, A., Amalia, D., Jauhari, A. A. dan Holydaziah, D. 2015. Aktivitas Enzim Amilase, Lipase dan Protease dari Larva *Hermetia illucens* yang Diberi Pakan Jerami Padi, *Jurnal ISTEK*: 9(2).
- Tanyildizi, M. S., Ozer, D. dan Elibol, M. 2005. Optimization of α -Amylase Production by *Bacillus sp.* Using Response Surface Methodology. *Process Biochemistry*, 40: 2291-2296.
- Turnbull, P. C. B. 1996. *Medical Microbiology*. 4th Edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch At Galveston.
- Uthayasooriyan, M., Pathmanathan, S., Ravimannan, N. dan Sathyaruban, S. 2016. Formulation of Alternative Culture Media For Bacterial and Fungal Growth. *Scholars Research Library*, 8(1): 431-436.

- Wahyudi, P., Rachmania, R. A., Ramdhan, M., Sari, N., Zahratunnisa, M., Nuriyam, Hardi, D. dan Purwanti, T. 2014. Isolasi Bakteri Amilolitik dan Optimasi Kondisi Fermentasi untuk Produksi Enzim α -Amilase. *Farmasains*, 2(3).
- Wahyuni. 2015. Konversi Enzimatik Pengujian Aktivitas Enzim α -Amilase. *Skripsi*. Bandung: Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Bandung.
- Waluyo, Lud. 2011. *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press.
- Wasito, H., Karyati, E., Vikarosa, C. D., Hafizah, N. I., Utami, H. R., Khairun, M. 2017. Test Strip Pengukur pH dari Bahan Alam yang Diimobilisasi dalam Kertas Selulosa. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(3).
- Wijayati, N., Astutiningsih, C. dan Mulyati, S. 2014. Transformation α -Pinena By Bacteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika*, 6(1): 24-28.
- Wood, I. P., Elliston, A., Ryden, P., Bancroft, I., Roberts, I. N. dan Waldron, K. W. 2012. Rapid Quantification of Reducing Sugars in Biomass Hydrolysates: Improving The Speed And Precision of The Dinitrosalicylic Acid Assay. *Biomass and Bioenergy*, 117-121.
- Wuryanti. 2004. Isolasi dan Penentuan Aktivitas SPesifik Enzim Bromelin dari Buah Nanas (*Ananas comosus L.*). *Jurnal Kimia Sains & Aplikasi*, 7(3): 78-82.

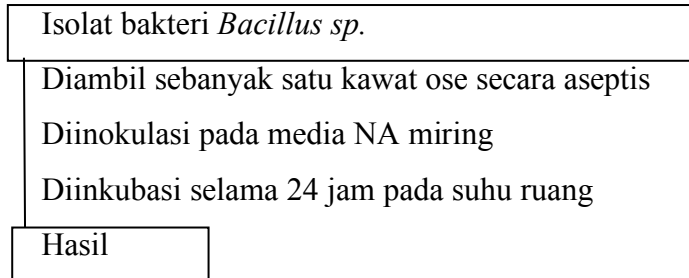
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

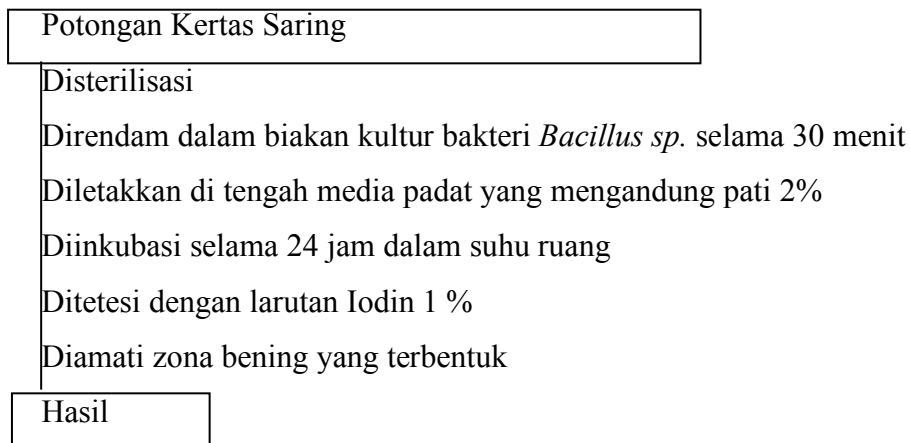


Lampiran 2. Diagram Alir

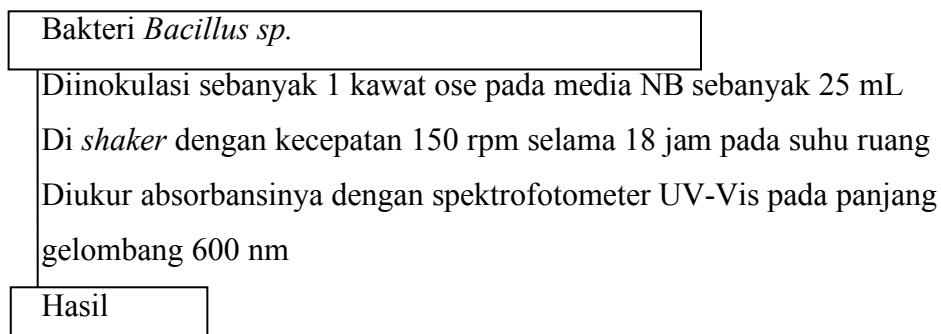
L.2.1 Peremajaan Bakteri *Bacillus sp.*



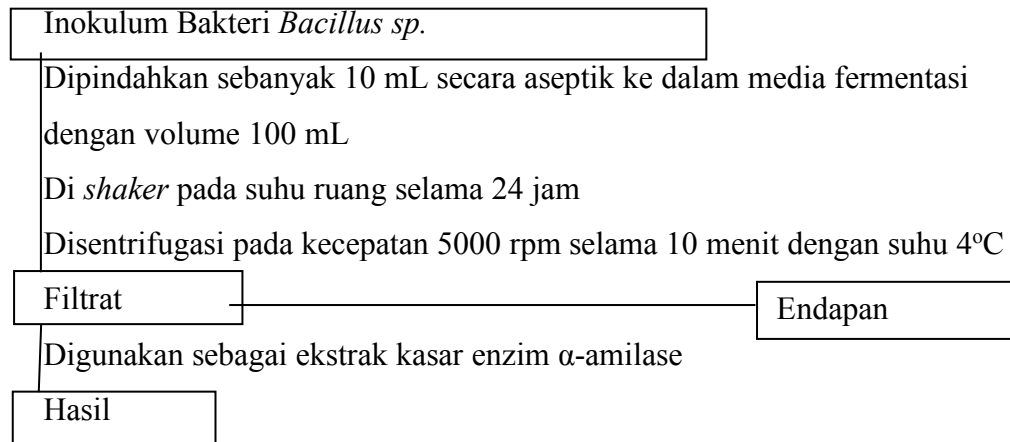
L.2.2 Uji Kualitatif Enzim Amilase



L.2.3 Persiapan Inokulum Bakteri *Bacillus sp.*

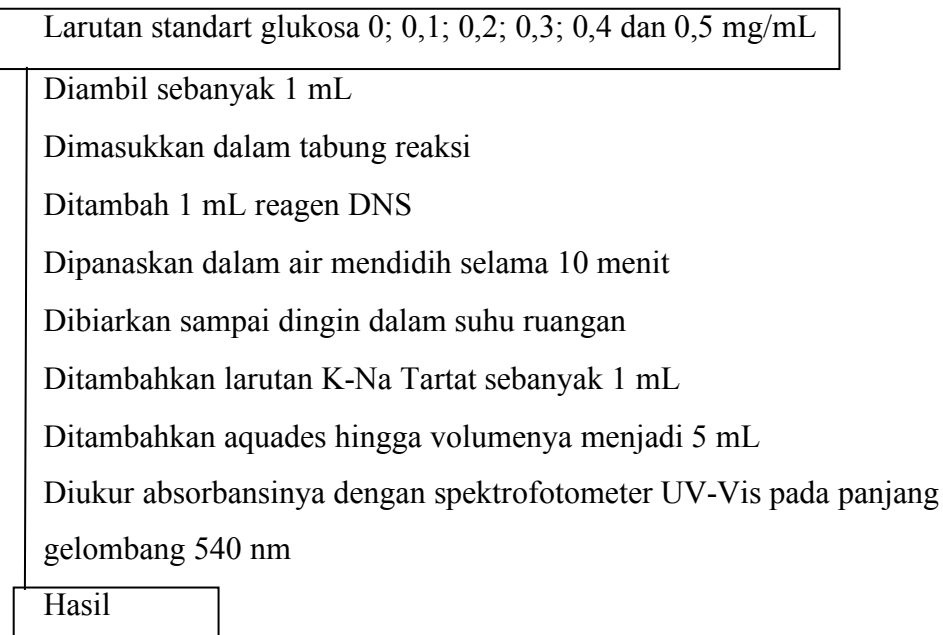


L.2.4 Produksi dan Ekstraksi Enzim Amilase



L.2.5 Pengukuran Aktivitas Enzim Amilase dengan Metode DNS

L.2.5.1 Pembuatan Kurva Standart



L.2.5.2 Uji Aktivitas Enzim Amilase dengan Variasi pH

Ekstrak kasar enzim amilase

Diambil sebanyak 1 mL

Dimasukkan dalam tabung reaksi

Ditambahkan substrat berupa pati 1%

Ditambahkan larutan variasi pH 5, 6, 7, 8 dan 9

Diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C

Ditambahkan reagen DNS sebanyak 1 mL

Dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit

Dibiarkan pada suhu ruang hingga dingin

Ditambahkan larutan K-Na Tartat sebanyak 1 mL

Ditambahkan aquades hingga volumenya menjadi 5 mL

Di *vortex*

Diukur absorbansi pada panjang gelombang 540 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Dihitung aktivitas enzim dengan rumus berikut:

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{\text{Konsetrasi glukosa}}{\text{BM glukosa} \times \text{waktu inkubasi}} \times \frac{\text{volume total}}{\text{volume enzim}}$$

Hasil

L.2.5.3 Pembuatan Kontrol Uji Aktivitas Enzim Amilase dengan Variasi pH

Larutan pati 1 % sebanyak 1 mL

Diinkubasi selama 60 mL menit pada suhu ruang

Ditambahkan reagen DNS sebanyak 1 mL

Dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit

Dibiarkan dalam suhu ruang hingga suhu menurun

Ditambahkan K-Na Tartat sebanyak 1 mL

Ditambahkan aquades hingga 5 mL

Di *vortex*

Diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm

Dihitung aktivitas enzim dengan rumus berikut:

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{\text{Konsetrasi glukosa}}{\text{BM glukosa} \times \text{waktu inkubasi}} \times \frac{\text{volume total}}{\text{volume enzim}}$$

Hasil

Lampiran 3. Pembuatan Larutan

L.3.1 Pembuatan Media *Nutrient Agar*

Media *nutrient agar* (NA) dibuat menggunakan 2 g serbuk NA yang dilarutkan dalam 100 mL aquades. Selanjutnya dipanaskan menggunakan *hot plate* hingga mendidih dan diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai serbuk tercampur sempurna. Kemudian, disterilkan di dalam *autoklaf* pada suhu 121°C, tekanan 15 lbs dan selama 60 menit.

L.3.2 Pembuatan Media *Nutrient Broth*

Media *nutrient broth* (NB) dibuat dengan mencampurkan serbuk NB sebanyak 0,8 g dan 100 mL aquades. Kemudian, dipanaskan menggunakan *hot plate* sampai mendidih sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* hingga serbuk terlarut sempurna. Selanjutnya disterilkan di dalam *autoklaf* pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 60 menit.

L.3.3 Pembuatan Media Pertumbuhan (Uji Kualitatif)

Media pertumbuhan dibuat dengan menggunakan bahan-bahan yaitu pepton sebanyak 0,5 g, NaCl 0,3 g, *soluble strach* 2 g dan agar sebanyak 2 g. Kemudian dilarutkan dalam aquades sebanyak 100 mL dan dipanaskan menggunakan *hot plate* dan *magnetic stirrer* hingga semua bahan terlarut sempurna. Selanjutnya disterilkan di dalam *autoklaf* dengan suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 60 menit.

L.3.4 Pembuatan Media Uji

Media uji dibuat menggunakan bahan-bahan seperti: *yeast extract* 0,5 g, pepton 1,0 g, NaCl 0,5 g, *soluble starch* 2,0 g dan KH_2PO_4 0,1 g. Kemudian dilarutkan dalam aquades sebanyak 100 mL dan dipanaskan menggunakan *hot plate* dan *magnetic stirrer* hingga semua bahan terlarut dengan sempurna. Selanjutnya media yang sudah terlarut disterilkan di dalam *autoklaf* dengan suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 60 menit.

L.3.5 Pembuatan Larutan Iodin 1%

Larutan yang diketahui misalkan iodine 10% dalam 100 mL maka,

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 0,1 \times V_1 &= 0,01 \times 100 \text{ mL} \\ V_1 &= 1/0,1 \\ &= 10 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, dibutuhkan 10 mL larutan iodine dari larutan iodine 10% untuk membuat larutan iodine 1%.

L.3.5 Pembuatan Reagen (*Dinitro salisilic acid*) DNS

Reagen DNS dibuat dengan cara mencampurkan 1 g DNS, 1 g NaOH, 0,05 g Na_2SO_3 , 0,2 g fenol dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 mL lalu dihomogenkan. Larutan yang telah homogen disimpan dalam botol gelap dengan suhu dingin. Larutan K-Na tartrat dibuat dengan melarutkan 40 g K-Na tartrat ke dalam aquades sebanyak 100 mL dengan labu ukur dan ditandabatkan. Untuk larutan K-Na tartrat diletakkan dalam botol yang tidak gelap dan pada suhu ruang.

L.3.6 Pembuatan Larutan Standar Glukosa 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 mg/mL dalam 100 mL

Pembuatan larutan stok glukosa baku dengan konsentrasi 5 mg/mL sebagai berikut,

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

Untuk mendapatkan larutan glukosa dengan konsentrasi 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 dapat dilakukan dengan cara pengenceran larutan stok glukosa baku.

Pembuatan larutan glukosa tersebut sebagai berikut,

- a. Membuat konsentrasi 0,1 mg/mL

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 5 \text{ mg/mL} \times V_1 &= 0,1 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mg}}{5 \text{ mg/mL}} \\ &= 2 \text{ mL} \end{aligned}$$

- b. Membuat konsentrasi 0,2 mg/mL

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 5 \text{ mg/mL} \times V_1 &= 0,2 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{20 \text{ mg}}{5 \text{ mg/mL}} \\ &= 4 \text{ mL} \end{aligned}$$

- c. Membuat konsentrasi 0,3 mg/mL

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 5 \text{ mg/mL} \times V_1 &= 0,3 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$V_1 = \frac{30 \text{ mg}}{5 \text{ mg/mL}}$$

$$= 6 \text{ mL}$$

d. Membuat konsentrasi 0,4 mg/mL

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

$$5 \text{ mg/mL} \times V_1 = 0,4 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{40 \text{ mg}}{5 \text{ mg/mL}}$$

$$= 8 \text{ mL}$$

e. Membuat konsentrasi 0,5 mg/mL

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

$$5 \text{ mg/mL} \times V_1 = 0,5 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{50 \text{ mg}}{5 \text{ mg/mL}}$$

$$= 10 \text{ mL}$$

Tabel L.3.1. Perhitungan Larutan Stok untuk Pengenceran

No	Konsentrasi glukosa (mg/mL)	Volume glukosa (mL)	Volume akuades (mL)
1	0,1	2	98
2	0,2	4	96
3	0,3	6	94
4	0,4	8	92
5	0,5	10	90

L.3.7 Pembuatan Larutan pH 5, 6, 7, 8 dan 9

L.3.7.1 Pembuatan Buffer Sitrat

$$\text{Massa (g)} = \text{mol} \times \text{Mr}$$

$$\text{Larutan A (Asam Sitrat) : mol} = M \times V$$

$$= 0,1 \times 1 \text{ mL}$$

$$= 0,1$$

$$\text{Massa} = \text{mol} \times \text{Mr}$$

$$= 0,1 \times 210,14$$

$$= 21,014 \text{ g}$$

$$\text{Larutan B (Na-sitrat) : mol} = M \times V$$

$$= 0,1 \times 1 \text{ mL}$$

$$= 0,1$$

$$\text{Massa} = \text{mol} \times \text{Mr}$$

$$= 0,1 \times 294,10$$

$$= 29,41 \text{ g}$$

Untuk membuat larutan pH dengan volume 100 mL:

Dalam 1000 mL maka, $\frac{1000 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 100 \text{ mL}$.

$$\text{Larutan A: } 0,1 \text{ M asam sitrat} = \frac{21,014 \text{ g}}{10} = 2,1014 \text{ g}$$

$$\text{Larutan B: } 0,1 \text{ M Na-sitrat} = \frac{29,41 \text{ g}}{10} = 2,941 \text{ g}$$

X mL larutan A + Y mL larutan B, diencerkan sampai 100 mL,

$$\text{pH 5: } X = 20,5 \text{ mL}$$

$$Y = 29,5 \text{ mL}$$

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

$$0,1 \times 20,5 = M_2 \times 100$$

$$M_2 = 0,0205$$

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

$$0,1 \times 29,5 = M_2 \times 100$$

$$M_2 = 0,0295$$

$$\text{pH } 6: X = 9,5$$

$$Y = 41,5$$

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

$$0,1 \times 9,5 = M_2 \times 100$$

$$M_2 = 0,0095$$

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

$$0,1 \times 41,5 = M_2 \times 100$$

$$M_2 = 0,0415$$

L.3.7.2 Pembuatan Buffer Fosfat

$$\text{Massa (g)} = \text{mol} \times \text{Mr}$$

$$\text{Larutan A (Na}_2\text{HPO}_4) : \text{mol} = M \times V$$

$$= 0,2 \times 1 \text{ mL}$$

$$= 0,2$$

$$\text{Massa} = \text{mol} \times \text{Mr}$$

$$= 0,2 \times 141,96$$

$$= 28,392 \text{ g}$$

$$\text{Larutan B (NaH}_2\text{PO}_4) : \text{mol} = M \times V$$

$$= 0,2 \times 1 \text{ mL}$$

$$= 0,2$$

$$\begin{aligned}\text{Massa} &= \text{mol} \times \text{Mr} \\ &= 0,2 \times 137,99 \\ &= 27,598 \text{ g}\end{aligned}$$

Untuk membuat larutan pH dengan volume 100 mL:

Dalam 1000 mL maka, $\frac{1000 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 100 \text{ mL}$.

$$\text{Larutan A: } 0,1 \text{ M Na}_2\text{HPO}_4 = \frac{28,392 \text{ g}}{10} = 2,8392 \text{ g}$$

$$\text{Larutan B: } 0,1 \text{ M NaH}_2\text{PO}_4 = \frac{27,598 \text{ g}}{10} = 2,7589 \text{ g}$$

X mL larutan A + Y mL larutan B, diencerkan sampai 200 mL,

$$\text{pH 7: } X = \frac{39,0}{2} = 19,5 \text{ mL}$$

$$Y = \frac{61,0}{2} = 30,5 \text{ mL}$$

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

$$0,2 \times 19,5 = M_2 \times 100$$

$$M_2 = 0,0877$$

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

$$0,2 \times 30,5 = M_2 \times 100$$

$$M_2 = 0,0123$$

$$\text{pH 8: } X = \frac{5,3}{2} = 2,65 \text{ mL}$$

$$Y = \frac{94,7}{2} = 47,35$$

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

$$0,2 \times 2,65 = M_2 \times 100$$

$$M_2 = 0,0053$$

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

$$0,2 \times 47,35 = M_2 \times 100$$

$$M_2 = 0,0947$$

Lampiran 4. Indeks Amilolitik

L.4.1 Perhitungan Indeks Amilolitik *Bacillus sp.*

a) Ulangan 1

$$IA = \frac{9,5-8,3}{8,3} = 0,145$$

b) Ulangan 2

$$IA = \frac{12,2-8,925}{8,925} = 0,367$$

c) Ulangan 3

$$IA = \frac{12,05-10,5}{10,5} = 0,148$$

d) Rata-rata Indeks Amilolitik

$$IA = \frac{0,145+0,367+0,148}{3} = 0,22$$

Tabel L.4.1. Indeks amilolitik *Bacillus sp.*

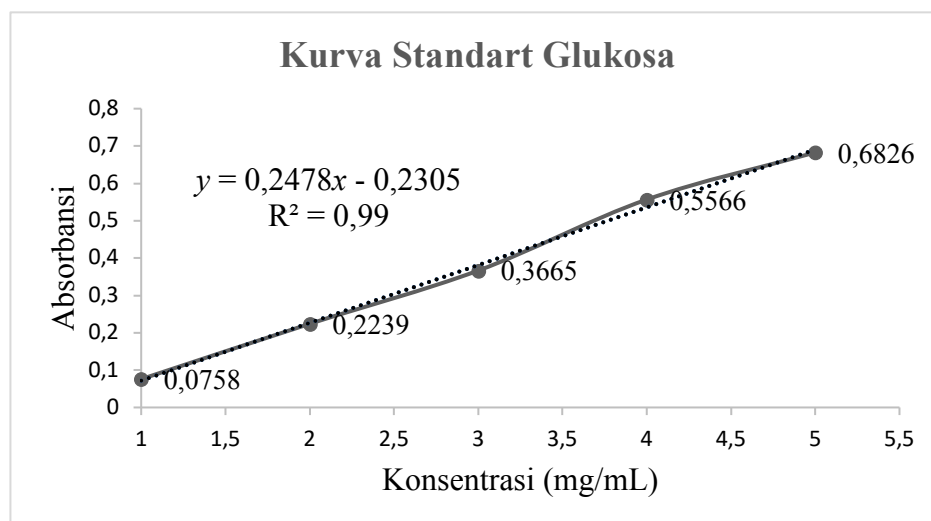
Ulangan	Diameter Koloni (mm)	Diameter Zona Bening (mm)	Indeks Amilolitik	Rata-rata Indeks Amilolitik
1	8,3	9,5	0,145	0,22 (Rendah)
2	8,925	12,2	0,367	
3	10,5	12,05	0,148	

Tabel L.4.2. Klasifikasi rasio enzim ekstraseluler (Choi, dkk., 2005)

Rasio Enzim Ekstraseluler	Reaksi
≥ 2	Tinggi
1,1-1,9	Sedang
$\leq 1,0$	Rendah
0	Tidak ada reaksi

Lampiran 5. Pembuatan Kurva Standar Glukosa**Tabel L.5.1. Data absorbansi standar glukosa**

Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi
0,1	0,0758
0,2	0,2239
0,3	0,3665
0,4	0,5566
0,5	0,6826



Lampiran 6. Pengukuran Absorbansi Sampel dan Aktivitas Enzim Amilase

Tabel L.6.1. Data absorbansi sampel

pH	Absorbansi		
	U1	U2	U3
5	0,1115	0,0896	0,1112
6	0,1798	0,1579	0,1988
7	0,0466	0,0881	0,0878
8	0,0663	0,1229	0,1191
9	0,0709	0,1473	0,1142

Tabel L.6.2. Data absorbansi kontrol

pH	Absorbansi		
	U1	U2	U3
5	0,0052	0,0068	0,0066
6	0,0089	0,0108	0,008
7	0,0025	0,0048	0,0086
8	0,0038	0,0124	0,0078
9	0,0032	0,0151	0,0071

Tabel L.6.3. Data absorbansi untuk aktivitas enzim amilase

pH	Absorbansi		
	U1	U2	U3
5	0,1063	0,0828	0,1046
6	0,1709	0,1471	0,1908
7	0,0441	0,0833	0,0792
8	0,0625	0,1105	0,1113
9	0,0677	0,1322	0,1071

Lampiran 7. Perhitungan Konsentrasi Glukosa pada Sampel

Berdasarkan kurva standar glukosa yang didapat pada Lampiran 5. diperoleh persamaan regresi $y = 0,2478x - 0,2305$. Melalui persamaan tersebut y merupakan absorbansi dan x merupakan konsentrasi, sehingga konsentrasi yang diperoleh dari absorbansi 0,1063 adalah:

$$y = 0,2478x - 0,2305$$

$$0,1063 = 0,2478x - 0,2305$$

$$x = 1,3592 \text{ mg/mL}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut diperoleh konsentrasi glukosa pada Tabel L.7.1.

Tabel L.7.1. Data konsentrasi glukosa pada sampel

pH	Konsentrasi (mg/mL)		
	U1	U2	U3
5	1,3592	1,2643	1,3523
6	1,6199	1,5238	1,7002
7	1,1082	1,2663	1,2498
8	1,1824	1,3761	1,3793
9	1,2034	1,4637	1,3624

Lampiran 8. Perhitungan Aktivitas Enzim Amilase

1 Unit enzim = 1 mikromol substrat per menit ($\mu\text{mol}/\text{menit}$)

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{\text{Konsentrasi glukosa} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) \times 1000}{\text{BM glukosa} \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}}\right) \times \text{waktu inkubasi (menit)}} \times \frac{\text{volume total (mL)}}{\text{volume enzim (mL)}}$$

Keterangan:

Konsentrasi glukosa = pada Tabel L.7.1

Volume total = 4 mL

Volume enzim = 2 mL

Berat molekul glukosa = 180 g/mol

Waktu inkubasi = 60 menit

Apabila konsentrasi glukosa sebesar 1,3592 mg/mL, maka aktivitas enzim amilase yaitu:

$$\text{AE} = \frac{1,3592 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 1000}{180 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 60 \text{ menit}} \times \frac{4 \text{ mL}}{2 \text{ mL}} = 0,252 \text{ U/mL}$$

Hasil perhitungan aktivitas enzim amilase ditampilkan pada Tabel L.8.1.

Tabel L.8.1 Data aktivitas enzim amilase

pH	Aktivitas Enzim (U/mL)			Rata-rata
	U1	U2	U3	
5	0,2517	0,2341	0,2504	0,2454
6	0,3000	0,2822	0,3148	0,2990
7	0,2052	0,2345	0,2314	0,2237
8	0,2190	0,2548	0,2554	0,2431
9	0,2228	0,2711	0,2523	0,2487

Lampiran 9. Hasil Statistik *One Way ANOVA*

Oneway

Descriptives

Aktivitas_Enzim

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					5.00000	3	.000245400	.0000098077
6.00000	3	.000299000	.0000163230	.0000094241	.000258451	.000339549	.0002822	.0003148
7.00000	3	.000223700	.0000160963	.0000092932	.000183715	.000263685	.0002052	.0002345
8.00000	3	.000243067	.0000208445	.0000120346	.000191286	.000294847	.0002190	.0002554
9.00000	3	.000248733	.0000243467	.0000140566	.000188253	.000309214	.0002228	.0002711
Total	15	.000251980	.0000301540	.0000077857	.000235281	.000268679	.0002052	.0003148

ANOVA

Aktivitas_Enzim

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	4	.000	7.150	.005
Within Groups	.000	10	.000		
Total	.000	14			

Homogeneous Subsets

Aktivitas_Enzim

	pH	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Tukey HSD ^a	7.00000	3	.000223700	
	8.00000	3	.000243067	
	5.00000	3	.000245400	
	9.00000	3	.000248733	
	6.00000	3		.000299000
	Sig.		.481	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

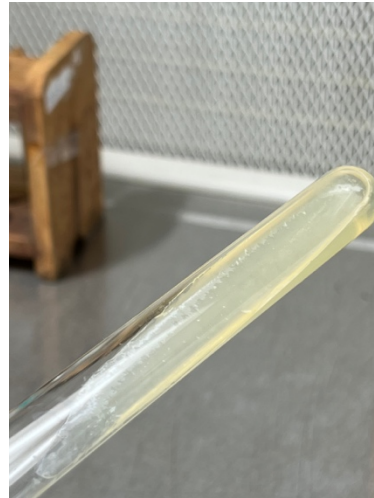
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 10. Dokumentasi

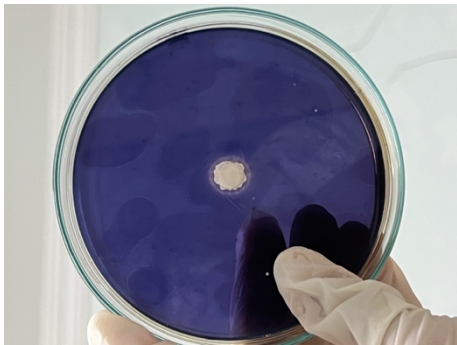
Pembuatan Media Peremajaan
Bacillus sp.



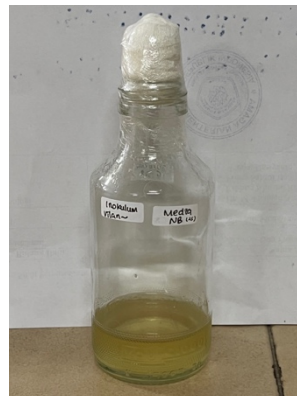
Peremajaan *Bacillus sp.*



Uji Kualitatif Aktivitas Amilase



Media NB



Kultur Cair bakteri *Bacillus sp.*



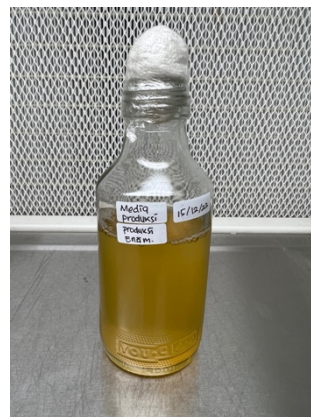
Pengukuran Nilai OD



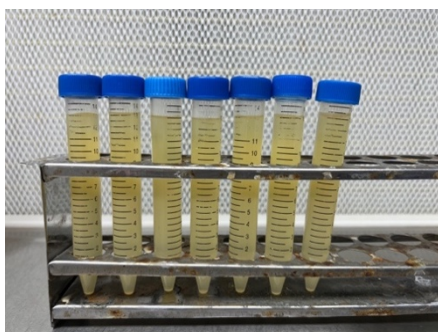
Inokulum Kerja Bakteri OD 0,5



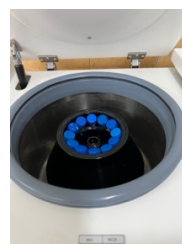
Media Produksi untuk Uji Aktivitas Enzim

Proses Produksi Enzim dengan *Shaker*Hasil *Shaker* Produksi Enzim

Persiapan Pemisahan Endapan dan Supernatan



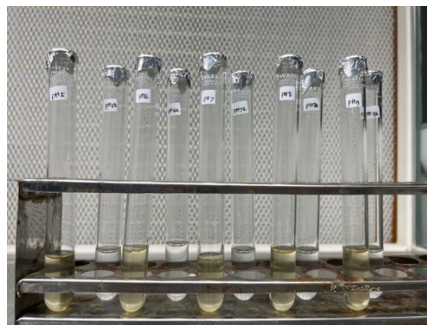
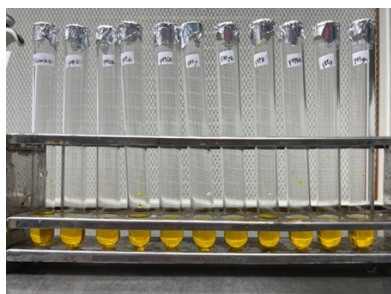
Proses Sentrifugasi



Ekstrak Kasar Enzim



Ekstrak Kasar Enzim dan Kontrol

Ekstrak Kasar Enzim dengan
Penambahan DNSPenambahan K-Na Tartrat pada
Ekstrak Kasar Enzim

Proses Pembuatan Kurva Standar



Proses Pemanasan Larutan



Hasil Larutan Setelah Dipanaskan

Penambahan Larutan K-Na Tartrat
untuk Standar Glukosa

