

**PENGARUH VOLUME ENZIM AMILASE YANG DIHASILKAN OLEH  
*Bacillus sp.* TERHADAP AKTIVITASNYA**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
M. YUSRIL IHZA MASTURY  
NIM. 17630117**



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

**PENGARUH VOLUME ENZIM AMILASE YANG DIHASILKAN OLEH  
*Bacillus sp.* TERHADAP AKTIVITASNYA**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
M. YUSRIL IHZA MASTURY  
NIM. 17630117**

**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**

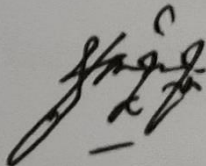
**PENGARUH VOLUME ENZIM AMILASE YANG DIHASILKAN OLEH  
*Bacillus* sp. TERHADAP AKTIVITASNYA**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**M. YUSRIL IHZA MASTURY**  
NIM. 17630117

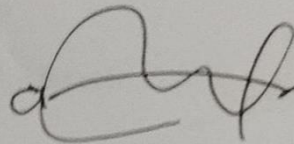
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diujui  
Tanggal: 20 Desember 2023

Pembimbing I



**Dr. Anik Maunatin, S.T.M.P**  
NIDT. 19760105 20180201 2 248

Pembimbing II



**Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I**  
NIDT. 19890113 20180201 1 244

Mengetahui,

Ketua Program Studi



**Rachmawati Angsilu, M.Si**  
NIP. 19810811 200801 2 610

**PENGARUH VOLUME ENZIM AMILASE YANG DIHASILKAN OLEH  
*Bacillus* sp. TERHADAP AKTIVITASNYA**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**M. YUSRIL IHZA MASTURY**  
NIM. 17630117

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 20 Desember 2023

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

(.....)

**Ketua Penguji** : Fadilah Nor Laili Lutfia, M.Biotech  
LB. 63033

(.....)

**Sekretaris Penguji** : Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P  
NIDT. 19760105 20180201 2 248

(.....)

**Anggota Penguji** : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I  
NIDT. 19890113 20180201 1 244

(.....)

Mengetahui,  
Ketua Program Studi



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

## SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : M. Yusril Ihza Mastury  
NIM : 17630117  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia  
Judul Penelitian : Pengaruh Volume Enzim Amilase yang Dihasilkan oleh  
*Bacillus* sp. Terhadap Aktivitasnya

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggungjawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 20 Desember 2023  
Yang Membuat Pernyataan,



M. Yusril Ihza Mastury  
NIM. 17630117

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Serangkai huruf yang berlandaskan hal-hal ilmiah ini kupersembahkan kepada kedua orang tua saya yang terus melangitkan do'a untukku, tanpa mereka saya tidak dapat menyelesaikan naskah tulisan ini. Bahkan, tidak jarang saya berucap diantara do'a saya "*Tuhan, bila do'a hambamu ini terhambat oleh dosa yang bertumpuk. Setidaknya kabulkanlah do'a kedua orang tua hamba meski hanya sebutir nasi.*"

Mereka yang memudahkan jalanku menuju surga. Guru-guru yang pertama kali mengenalkan saya huruf abjad dan hijaiyah hingga akhirnya kini saya mengenal kata-kata ilmiah.

Mereka yang menemaniku di berbagai rasa. FRST.GEE sektor Kota Malang yang terus memberikan saya support untuk menuntaskan tulisan ini

Mereka yang membenturkanku hinngga aku terbebntuk. PMII Rayon *Pencerahan Galileo* dengan segala instrumennya yang berhasil mengasah otak saya untuk terus berfikir dan bernalar. Komunitas Gubuk Tulis yang menjadi tempat pertama saya untuk menemukan rasa yang indah ketika menulis dan candu yang nikmat untuk membaca. Komunitas Duta Damai yang sekarang saya sadar betapa seriusnya moderenisasi menggrogoti keutuhan NKRI melalui generasi-generasi mudanya.

Mereka yang mengajarkanku serta mengenalkanku zat addictive dan caffeine. *Oase Coffee and Literacy*, *Kunil Coffee*, Omah Kayu, dan Joyo Makmur. Tersebut rumah kesekian saya ketika hendak menyusun naskah ini. Terus lah bertahan dan berkembang, agar esok hari saya dapat bernostalgia.

Mereka yang kukenal di seperempat abad hidupku. Seluruh keluarga kimia yang terus menemani saya berproses di titik terendah hingga titik optimal saya. Sejuta bahasa terimakasih pun saya rasa tak cukup untuk membayar semua jasa kalian.

Terakhir, kupersembahkan tulisan ini untuk 'masa depan'. Saya tidak tahu bagaimana masa depan saya, apa yang akan terjadi nantinya? Setidaknya, bersamaan dengan tulisan ini semoga di masa depan, saya terus mempertahankan api semangat untuk tetap hidup dan berkarya.

## **MOTTO**

“Membacalah dengan paksa hingga terbiasa.

Menulislah dengan rasa, jangan terpaksa”



## KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan taufiq, rahmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi ini. Shalawat dan salam penulis haturkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah mengembangkan ajaran Islam di muka bumi demi keselamatan umat manusia. Penyusunan naskah skripsi ini dapat berjalan baik dan lancar juga berkat dukungan, bantuan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tua tercinta dan keluarga yang telah memberikan dukungan kepada penulis dalam penyusunan skripsi.
2. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Rachmawati Ningsih, M.Si, selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Dr. Anik Maunatin, S.T.M.P, selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi dalam proses penyusunan skripsi ini.
6. Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan arahan dan perbaikan dalam penulisan skripsi ini.
7. Segenap sivitas akademika Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

8. Teman-teman Program Studi Kimia dan seluruh pihak yang ikut membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari dalam penulisan naskah ini masih jauh dari kata sempurna, mengingat keterbatasan kemampuan yang penulis miliki sebagai seorang manusia. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan.

Malang, 20 Desember 2023

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN ORISINALITAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>v</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xvi</b>
<b>مستخلص البحث.....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Batasan Masalah.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 Enzim.....	6
2.2 Aplikasi Enzim Amilase.....	10
2.3 <i>Bacillus</i> sp.....	11
2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim Amilase .....	13
2.5 Media NA ( <i>Nautrient Agar</i> ).....	15
2.6 Media YPS ( <i>Yeast Peptone Starch</i> ).....	16
2.7 Media NB ( <i>Nutrient Broth</i> ).....	17
2.8 Pengujian Aktivitas Enzim Amilase.....	18
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	20
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	20
3.2.1 Alat .....	20
3.2.2 Bahan .....	20
3.3 Rancangan Penelitian .....	20
3.4 Tahapan Penelitian .....	21
3.5 Pelaksanaan Penelitian .....	22

3.5.1. Sterilisasi Alat.....	22
3.5.2. Pembuatan Media .....	22
3.5.3. Peremajaan Bakteri <i>Bacillus</i> sp. ....	23
3.5.4. Pembuatan Inokulum <i>Bacillus</i> sp. ....	23
3.5.5. Produksi Enzim Amilase .....	24
3.5.6. Pembuatan Kurva Standar Glukosa .....	24
3.5.7. Uji Aktivitas Enzim Amilase Terhadap Pengaruh Volume. ....	24
3.5.8. Analisis Data.....	25
<b>BAB IV PEMBAHASAN.....</b>	
..... Error! Bookmark not defined.	
4.1 Peremajaan Isolat <i>Bacillus</i> sp. ....	
..... <b>Erro</b>	
<b>r! Bookmark not defined.</b>	
4.2 Produksi Enzim Amilase .....	
..... <b>Erro</b>	
<b>r! Bookmark not defined.</b>	
4.3 Kurva Standart Glukosa.....	
..... <b>Erro</b>	
<b>r! Bookmark not defined.</b>	
4.4 Uji Aktivitas Enzim Amilase oleh <i>Bacillus</i> sp. ....	
..... <b>Erro</b>	
<b>r! Bookmark not defined.</b>	
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>37</b>
5.1 Kesimpulan.....	37
5.2 Saran .....	37
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>38</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	
..... Error! Bookmark not defined.	

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur amilase dari <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> amylase.....	8
Gambar 2.2 Reaksi hidrolisis pati menjadi glukosa.....	9
Gambar 2.3 Mekanisme molekuler enzim amilase .....	10
Gambar 2.4 Reaksi glukosa dengan DNS .....	19
Gambar 4.1 Hasil Peremajaan <i>Bacillus</i> sp. ....	
.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.2 Kurva Standar Glukosa .....	
.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.3 Reaksi hidrolisis pati menjadi glukosa.....	
.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.4 Reaksi glukosa dengan DNS .....	
.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.5 Aktivitas Enzim Amilase pada Berbagai Volume Enzim .....	
.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi media <i>Nutrient Agar</i> .....	16
Tabel 3.1 Pengaruh volume terhadap aktivitas enzim amilase .....	21
Tabel 4.1 Aktivitas Enzim Amilase pada Berbagai Volume .....	
..... <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Tabel L.3.1 Perhitungan Larutan Standar Glukosa.....	
..... <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Tabel L.4.1 Kurva Standar Glukosa.....	
..... <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Tabel L.5.1 Absorbansi Sampel .....	
..... <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Tabel L.6.1 Data Konsentrasi Glukosa pada Sampel.....	
..... <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Tabel L.7.1 Data Aktivitas Enzim Amilase .....	
..... <b>Error! Bookmark not defined.</b>	

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Lampiran 2. Diagram Alir.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Larutan.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Lampiran 4. Kurva Standar Glukosa.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Lampiran 5. Pengukuran Absorbansi Sampel.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Lampiran 6. Konsentrasi Glukosa.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Lampiran 7. Perhitungan Aktivitas Enzim Amilase .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Lampiran 8. Hasil Analisis <i>One Way</i> ANOVA .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Lampiran 9. Dokumentasi.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## ABSTRAK

Mastury, M., Y., I. 2023. Pengaruh Volume Enzim Amilase yang Dihasilkan oleh *Bacillus* sp. Terhadap Aktivasinya. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I : Dr. Anik Maunatin, S.T.M.P. Pembimbing II : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I

---

---

**Kata Kunci:** *Volume, Enzim Amilase, Bacillus sp.*

*Bacillus* sp. merupakan satu dari sekian banyak mikroorganisme amilolitik atau mikroorganisme yang dapat memproduksi enzim amilase. *Bacillus* sp. merupakan bakteri Gram-positif yang memiliki potensi tinggi dalam produksi amilase dengan efisiensi tinggi. Enzim amilase sendiri merupakan enzim yang berperan dalam mengurai senyawa karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari variasi volume enzim amilase yang diproduksi oleh *Bacillus* sp. terhadap aktivasinya guna meningkatkan efisiensi aplikasinya dalam industri.

Pengukuran aktivitas enzim amilase dilakukan melalui uji gula reduksi menggunakan reagen dinitrosalisilat-asam (DNS). Metode penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu variabel, yaitu variasi volume 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5 mL. Data yang didapatkan kemudian diuji statistik menggunakan *Analysis Of Variance* (ANOVA) dan apabila didapatkan pengaruh nyata terhadap parameter maka dilakukan uji *Tukey* sebagai uji lanjutan.

Berdasarkan hasil uji statistik didapatkan bahwa variasi volume enzim memiliki pengaruh nyata terhadap aktivitas enzim amilase. Aktivitas tertinggi berada pada volume 0,5 mL dengan nilai 17,0479 U/mL, sedangkan aktivitas enzim amilase terendah berada pada volume 1,5 mL dengan nilai 12,0370 U/mL.



## ABSTRACT

Mastury, M., Y., I. 2023. The Influence Of The Volume Of Amylase Enzyme Produced By *Bacillus* sp. On Its Activity. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Supervisor I : Dr. Anik Maunatin, S.T.M.P. Supervisor II : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I

---

---

**Keywords:** *Volume, Amylase Enzyme, Bacillus* sp.

*Bacillus* sp. was one of the many amylolytic microorganisms or microorganisms capable of producing amylase enzymes. *Bacillus* sp. is a Gram-positive bacterium with high potential in amylase production with high efficiency. Amylase enzyme itself plays a role in breaking down complex carbohydrate compounds into simple sugars. This research aimed to determine the effect of variations in the volume of amylase enzyme produced by *Bacillus* sp. on its activity to improve its efficiency in industrial applications.

The measurement of amylase enzyme activity was conducted through the reducing sugar test using dinitrosalicylic acid (DNS) reagent. This research method used a Completely Randomized Design (CRD) with one variable, namely variations in volume of 0.5 mL, 1 mL, 1.5 mL, 2 mL, and 2.5 mL. The obtained data were then statistically tested using Analysis Of Variance (ANOVA), and if a significant effect on the parameter was found, Tukey's test was performed as a post hoc test.

Based on the results of statistical tests, it was found that the variation in enzyme volume had a significant effect on amylase enzyme activity. The highest activity was at a volume of 0.5 mL with a value of 17.0479 U/mL, while the lowest amylase enzyme activity was at a volume of 1.5 mL with a value of 12.0370 U/mL.

## مستخلص البحث

مستوري، م، ي، أ. ٢٠٢٣ تأثير حجم إنزيم الأميليز الذي ينتج بالعصية - باسلوس س.ف إلى أنشطته. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف الأول: الدكتورة أنيك ماونتين، بكالوريوس في الهندسة، ماجستير في الغذاء. المشرف الثاني: أوكي باجاس براسيتيو، ماجستر التعليم الإسلامي.

**الكلمات الرئيسية:** الحجم، إنزيم الأميليز، باسلوس س.ف.

باسلوس س.ف هو واحد من العديد من الكائنات الحية الدقيقة أميلوليتيك أو الكائنات الحية الدقيقة التي يمكنها إنتاج إنزيم الأميليز. باسلوس س.ف هو بكتيريا موجبة لصبغة جرام ولها قدرة عالية على إنتاج الأميليز بكفاءة عالية. إن إنزيم الأميليز نفسه هو إنزيم يلعب دورًا في تحطيم مركبات الكربوهيدرات المعقدة إلى سكريات بسيطة. يُهدف هذا البحث إلى تقييم تأثير التغيرات في حجم إنزيم الأميليز الذي يُنتج بالعصية - باسلوس س.ف إلى أنشطته من أجل زيادة كفاءة تطبيقتها في الصناعة.

وتم إجراء قياس نشاط إنزيم الأميليز من خلال اختبار تقليل السكر باستخدام كاشف حمض الدينيترووساليسيليك (د ن س) تُستخدم طريقة البحث بهذه التصميم العشوائي الكامل مع متغير واحد، وهو اختلافات الحجم ٠.٥ مل، ١ مل، ١.٥ مل، ٢ مل، و ٢.٥ مل. وتم قياس نشاط الإنزيم في ٣ تكرارات، ومن ثم تم حساب المتوسط. تم اختبار البيانات التي تم الحصول عليها إحصائيًا باستخدام تحليل التباين (أنوفا). وإذا وجد تأثير حقيقي على المعلمات، تم إجراء اختبار توكي كاختبار إضافي.

وبناءً على نتائج الاختبارات الإحصائية، تبين أن الاختلافات في حجم الإنزيم لها تأثير حقيقي، لذا كان من الضروري إجراء المزيد من الاختبارات باستخدام اختبار توكي. وأعلى نشاط كان بحجم ٠.٥ مل بقيمة ١٧٠.٤٧٩ وحدة / مل، بينما أقل نشاط لإنزيم الأميليز كان بحجم ١.٥ مل بقيمة ١٢.٠٣٧٠ وحدة / مل.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Makhluk hidup yang terdiri dari hewan, tumbuhan, dan manusia merupakan satuan ciptaan tuhan yang kompleks. Terdiri dari berbagai zat pembangun dari yang paling sederhana seperti molekul air hingga yang paling kompleks seperti karbohidrat dan sebagainya. Selain itu, kehidupan tersebut juga tidak lepas dari peran-peran penting enzim, salah satunya enzim amilase (Isti'anah dkk., 2020).

Enzim amilase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis pati dan glikogen. Diketahui terdapat tiga jenis enzim amilolitik yaitu amilase,  $\beta$ -amilase, dan glucoamilase. Enzim amilase sendiri merupakan enzim yang menghidrolisis ikatan 1,4-glikosidik dari pati dan maltodekstrin secara acak dari molekul kompleks polisakarida sehingga menghasilkan molekul maltosa dan beberapa oligosakarida dengan rantai pendek. Sederhananya, enzim amilase memiliki kemampuan memutuskan ikatan glikosida yang terdapat pada amilum. Hasil hidrolisisnya berupa molekul-molekul yang lebih sederhana seperti glukosa, maltosa, dekstrin, dan asam-asam organik lainnya (Soeka dkk., 2015; Mayasari, 2016).

Enzim amilase banyak digunakan dalam industri makanan, minuman, tekstil, farmasi, dan detergen. Hal itu dikarenakan kemampuan enzim amilase dalam menyediakan gula hidrolisis pati sehingga dapat dimanfaatkan untuk produksi sirup glukosa maupun fruktosa yang memiliki tingkat rasa dengan kemanisan yang tinggi dalam industri roti atau pun makanan bayi. Sedangkan dalam industri tekstil, enzim amilase cukup berperan dalam proses penghilangan

pati yang digunakan sebagai perekat untuk melindungi benang yang ditenun sehingga memiliki sifat yang lentur. Karena itu enzim amilase sangat dibutuhkan dalam bidang industri tekstil, hidrolisis pati, dan produksi pangan seperti roti, sirup, pemanis buatan, selain itu juga berperan dalam industri pakan ternak, detergen, etanol, obat, dan suplemen (Soeka dkk., 2015; Mayasari, 2016; Asadullah, 2014).

Enzim amilase dapat diperoleh dari berbagai macam mikroorganisme seperti kapang, bakteri, dan khamir atau bahkan tumbuhan. Penggunaan mikroorganisme cukup mudah karena mikroorganisme dapat tumbuh cepat dan pada skala produksi mudah diperbanyak. Hal itu dikarenakan enzim amilase yang diproduksi oleh tanaman dan hewan lebih sedikit dibandingkan mikroorganisme. Selain itu penggunaan mikroorganisme berupa bakteri memiliki keuntungan diantaranya biaya produksinya yang rendah, kondisi selama produksi dapat dikontrol, dan proses produksi yang terbilang lebih singkat (Asadullah, 2014; Soeka dkk., 2015).

Kehadiran mikroorganisme seperti bakteri, kapang, maupun khamir sudah tercantum secara implisit dalam firman Allah SWT, tepatnya pada surat Al-Baqarah ayat 26:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعْضُهُ فَوْقَهَا...

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil dari itu...*” (QS. Al-Baqarah: 26)

Menurut penafsiran Al Misbah, Lafadz مَا بَعْضُهُ فَوْقَهَا secara harfiah memiliki makna “lebih kecil dibanding nyamuk”, yaitu makhluk hidup yang memiliki bentuk lebih kecil dari nyamuk. Seperti mikroorganisme berupa bakteri, kapang, dan khamir memiliki struktur morfologi yang hanya dapat diamati

menggunakan mikroskop. Selain itu, secara umum ayat tamsil tersebut juga membicarakan tentang keunikan dan keajaiban penciptaan Allah SWT. Pada dasarnya, Allah SWT ingin membicarakan keajaiban dan keindahan ciptaan-Nya yang memiliki ukuran sangat kecil. Seperti kita ketahui bahwa nyamuk sebagai permisalan dalam ayat ini memiliki ukuran yang sangat kecil, namun ia mampu menembus kulit gajah, kerbau, dan unta yang memiliki ukuran kulit lebih tebal dari dirinya untuk menghisap darah mereka. (Wathoni, 2020; Jannah, 2022)

Beberapa isolat bakteri yang dapat menghasilkan enzim amilase yang telah dikembangkan secara komersial ialah dari genus *Bacillus* diantara lain *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus cereus*, dan *Bacillus polymiza*. Kebanyakan penelitian di negara-negara berkembang menjadikan bakteri *Bacillus* sebagai target untuk mengekstraksi enzim amilase. Hal ini dilakukan karena bakteri *Bacillus* memiliki kebutuhan nutrisi yang sederhana dan mudah dipelihara (Mauliya, 2023). Selain itu, *Bacillus* dapat memproduksi enzim amilase dalam kuantitas yang besar (Wahyuningsih dkk, 2004). Adapun dari kelompok kapang ialah *Aspergillus* sp. dan *Rhizopus* sp. yang dapat memproduksi amiloglukosidase, amilase, dan transglukosidase (Isti'annah, dkk. 2020)

Selain mikroorganisme penghasil enzim, laju produksi enzim sendiri dapat dipengaruhi oleh faktor eksternal diantaranya pH, suhu, dan jenis substrat yang digunakan. Selain itu lama waktu inkubasi, konsentrasi enzim, serta terdapatnya aktivator dan inhibitor juga mempengaruhi laju produksi enzim. Peningkatan volume enzim awalnya akan meningkatkan laju reaksi karena jumlah molekul enzim yang tersedia untuk mengkatalis reaksi bertambah. Namun, penambahan volume enzim melebihi titik optimum dapat menghambat aktivitas enzim karena

terjadinya penumpukan molekul enzim yang mengganggu ikatan enzim-substrat. Oleh karena itu, penting untuk menentukan volume enzim optimal untuk mencapai aktivitas maksimal (Isti'annah dkk., 2020; Faizah, 2017; Baehaki dkk, 2005).

Penelitian tentang potensi *Bacillus* sp. dalam memproduksi enzim amilase sudah banyak dilaporkan. Aktivitas optimum enzim amilase dari bakteri *Bacillus* sp. menurut Sharif, S., dkk (2023) sebesar 4,4 U/mL pada volume 300  $\mu$ L dengan konsentrasi substrat 1,25% dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 70°C.

Kegunaan enzim bagi berbagai sektor industri dan katalis hayati belum dapat terpenuhi di Indonesia. Sehingga untuk memenuhi kebutuhan yang terus meningkat Indonesia harus mengimport enzim amilase dari berbagai negara (Isti'annah dkk., 2020). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait kondisi optimum bagi aktivitas enzim amilase yang diproduksi oleh *Bacillus* sp. terutama konsentrasi optimum enzim dengan variasi volume 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5 mL, sehingga menjadi penunjang industri ataupun instansi dalam memanfaatkan enzim amilase secara komersial dengan biaya produksi yang rendah dan hasil yang maksimal (Faizah, 2017).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu bagaimana pengaruh volume enzim amilase yang diproduksi oleh *Bacillus* sp. terhadap aktivitasnya?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana pengaruh volume enzim amilase yang diproduksi oleh *Bacillus* sp. terhadap aktivitasnya.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi terhadap perkembangan ilmu pengetahuan khususnya biokimia tentang mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim dan dapat dimanfaatkan pada berbagai industri seperti industri pangan dan obat-obatan.
2. Memberikan informasi terkait potensi bakteri *Bacillus* sp. dalam memproduksi enzim amilase.
3. Memberikan informasi tentang volume optimal terhadap aktivitas enzim amilase yang diproduksi oleh bakteri *Bacillus* sp.
4. Memberikan informasi untuk penelitian selanjutnya sehingga dapat lebih mengembangkan potensi bakteri *Bacillus* sp. sebagai agen mikroorganisme yang menghasilkan enzim amilase.

#### **1.5 Batasan Masalah**

1. Bakteri *Bacillus* sp. yang digunakan merupakan koleksi laboratorium biokimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Variasi perlakuan yang digunakan pada volume adalah 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5 mL.
3. Konsentrasi substrat yang digunakan adalah 2,5% pada pH 7.
4. Parameter yang dianalisis adalah aktivitas enzim amilasi yang diproduksi bakteri *Bacillus* sp. yang ditunjukkan dengan pengukuran nilai aktivitas enzim yang dihasilkan (U/mL).

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Enzim**

Menjadi satu diantara banyaknya metabolit sekunder yang dihasilkan oleh makhluk hidup, enzim memiliki fungsi untuk menjadi katalisator reaksi biokimia pada tubuh makhluk hidup. Sebagai katalisator, enzim memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan bahan kimia lainnya, diantaranya (1) spesifitas yang dimiliki enzim cukup tinggi, (2) enzim mengkatalis substrat-substrat tertentu yang sesuai dengan spesifikasinya, (3) tidak terdapat produk sampingan yang tidak diinginkan, (4) produktifitas enzim yang cukup tinggi dapat menekan biaya, (5) pada umumnya produk yang dihasilkan tidak mudah terkontaminasi sehingga tidak mengeluarkan biaya tambahan untuk purifikasi dan mengurangi efek kerusakan pada lingkungan (Susilawati dkk, 2015; Faizah, 2017).

Secara umum, enzim memiliki fungsi sebagai katalisator, yaitu sebuah senyawa yang dapat meningkatkan kecepatan sebuah reaksi kimia. Tidak jauh berbeda dengan katalis lainnya, enzim dapat menurunkan atau memperkecil nilai energi aktivasi suatu reaksi kimia. Sehingga sebuah enzim dapat mempercepat sebuah reaksi hingga  $10^8$  sampai  $10^{10}$  kali lebih cepat dari pada reaksi tanpa menggunakan katalis seperti enzim. Pada prosesnya, enzim melakukan perubahan suatu senyawa yang kemudian disebut substrat hingga menjadi sebuah produk, akan tetapi enzim tidak mengalami perubahan pada proses tersebut (Supriyatna dkk, 2015)



Banyaknya manfaat dan kelebihan enzim mengakibatkan tingginya permintaan produksi enzim di Indonesia. Penggunaan yang terus meningkat hingga mencapai 10-15% tiap tahunnya memaksa Indonesia mengimpor enzim. Oleh karena itu banyak peneliti yang terus mengembangkan kemajuan teknologi. Salah satunya mengembangkan pemanfaatan mikroorganisme pada bidang industri enzim (Isti'annah dkk, 2020).

Enzim amilase, lipase, dan protease merupakan enzim-enzim yang banyak dikenal masyarakat luas. Enzim-enzim tersebut merupakan enzim hidrolitik yang mampu memecah senyawa-senyawa makromolekul. Enzim amilase sendiri pada proses kerjanya memiliki kemampuan untuk memutuskan ikatan glikosida pada amilum dengan proses hidrolisis, sehingga terbentuk molekul-molekul yang lebih sederhana seperti glukosa, maltosa, dekstrin, dan asam-asam lainnya. (Supriyatna dkk, 2015; Soeka dkk, 2015; Ompusunggu dkk., 2013)

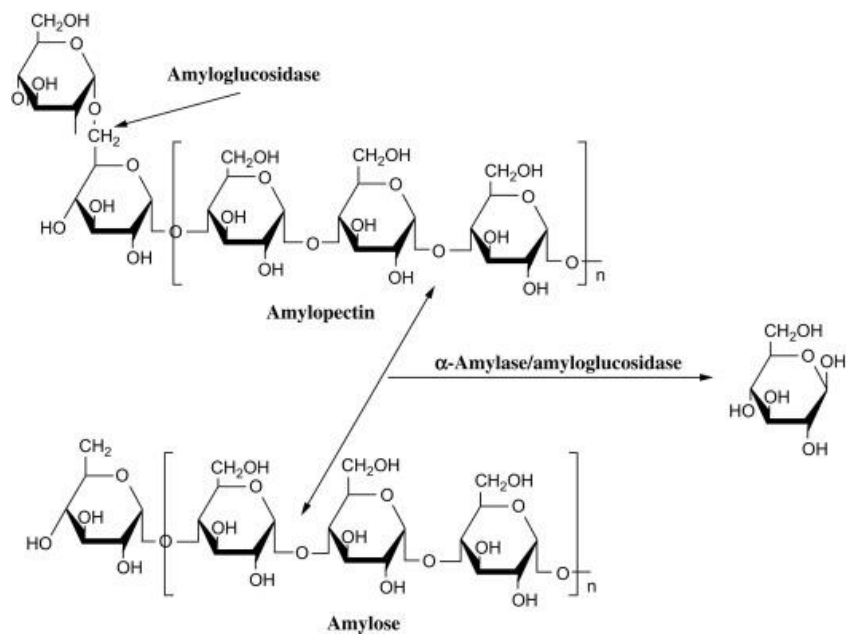
Enzim amilase atau dikenal juga dengan nama 1,4-D-glukanglukanohidrolase dan glukogenase merupakan salah satu enzim yang memiliki peran penting dalam proses pemecahan oligosakarida serta disakarida sehingga menjadi monosakarida yang siap untuk diabsorpsi. Umumnya enzim amilase mendegradasi pati yang terdiri oligosakarida secara acak dan sangat cepat. Produk dari proses pemecahan tersebut menghasilkan glukosa dan sedikit dekstrin yang banyak digunakan dalam memproduksi roti (Naiola dkk., 2001; Suryani dan Nisa, 2015; Wardani dkk., 2015; Soeka dkk, 2015; Ompusunggu dkk., 2013)



Gambar 2. 1 Struktur amilase dari *Bacillus amyloliquefaciens* amylase (Algofer dkk, 2021)

Enzim amilase terbagi menjadi tiga jenis, yaitu  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase, dan glukoamilase.  $\alpha$ -Amilase sering disebut sebagai endoamilase karena memiliki kemampuan untuk memotong ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosidik, sementara  $\beta$ -amilase dapat memecah ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik pada amilum sehingga menghasilkan fragmen-fragmen yang lebih kecil, seperti maltosa.  $\beta$ -amilase merupakan contoh dari eksoamilase. Jenis enzim amilase lainnya, yaitu glukoamilase, juga dapat disebut sebagai  $\gamma$ -amilase, memiliki kemampuan untuk menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosidik dan  $\beta$ -1,6-glikosidik (Mauliya, 2023)

Enzim amilase atau disebut juga *dextrinizing enzyme* atau *starch liquifing* menghidrolisa ikatan glukosidik pada molekul pati tepat di ikatan 1-4 glikosidik, dikenal juga dengan *endo-amilase*. Enzim amilase menghidrolisa pati atau amilum melalui dua tahap. Tahap pertama mendegradasi pati menjadi maltosa dan maltoriosa yang kemudian dihidrolisis menjadi glukosa dan maltosa (Naiola dkk., 2001).



Gambar 2. 2 Reaksi hidrolisis pati menjadi glukosa (Nadaroglu and Polat, 2022)

Mekanisme molekuler enzim amilase melibatkan pemecahan substrat dengan dukungan dari asam amino yang terdapat pada situs aktifnya. Tiga asam amino yang memiliki peran kunci dalam enzim amilase adalah asam glutamat 219, asam aspartat 294, dan asam aspartat 193. Langkah awal melibatkan pengikatan substrat oleh asam aspartat 294. Langkah berikutnya, asam glutamat 219 dalam bentuk asam akan mentransfer proton ke oksigen pada ikatan glikosidik substrat. Hasil reaksi ini adalah pembentukan ion oksokarbonium dalam keadaan transisi, yang diikuti oleh pembentukan intermediat kovalen. Molekul  $H_2O$  kemudian menyerang ikatan kovalen antara oksigen dan residu asam aspartat 193. Asam glutamat menerima H dari molekul  $H_2O$ , dan residu asam aspartat 193 membentuk gugus hidroksil baru pada molekul glukosa (Mauliya, 2023; Nangin, dkk., 2015).



Gambar 2.3 Mekanisme molekuler enzim amilase (Nangin, dkk., 2015)

Enzim amilase dapat diperoleh dari berbagai macam mikroorganisme seperti kapang, bakteri, dan khamir atau bahkan tumbuhan. Penggunaan mikroorganisme cukup mudah karena mikroorganisme dapat tumbuh cepat dan pada skala produksi mudah diperbanyak. Hal itu dikarenakan enzim amilase yang diproduksi oleh tanaman dan hewan lebih sedikit dibandingkan mikroorganisme. Selain itu penggunaan mikroorganisme berupa bakteri memiliki keuntungan biaya produksinya yang rendah, kondisi selama produksi dapat dikontrol, dan proses produksi yang terbilang lebih singkat. Enzim amilase sendiri aktif pada kondisi pH 5,2 – 5,6 dengan suhu optimum berkisar pada 70 – 90°C (Soeka dkk, 2015; Asadullah, 2014)

## 2.2 Aplikasi Enzim Amilase

Enzim yang berguna sebagai katalis hayati bagi organisme sangat dibutuhkan di Indonesia. Akan tetapi, Penggunaan enzim terus meningkat hingga mencapai 10-15% tiap tahunnya di Indonesia masih belum terpenuhi sehingga memaksa Indonesia untuk mengimpor enzim. Selain itu di dunia, nilai perdagangan enzim terus meningkat hingga 3-4 miliar dolar tiap tahunnya, 4-5 juta dolar diantaranya dari pasar Indonesia yang keseluruhannya didapatkan dari negara-negara produsen enzim (Isti'annah dkk. 2020; Faizah, 2017).

Penggunaan enzim sendiri sangat banyak dilakukan karena sebanding dengan keuntungan yang didapatkan. Enzim dapat diperoleh dari berbagai macam mikroorganisme seperti kapang, bakteri, dan khamir. Selain itu produksi enzim melalui mikroorganisme juga sangat mudah dan cepat. Dengan biaya produksi yang rendah dan kondisi produksi yang dapat dikontrol, enzim dapat diproduksi dengan nominal yang mudah diperbanyak (Soeka dkk, 2015).

Enzim amilase yang luas aplikasinya akan terus berkembang dari masa ke masa. Pengaplikasian pada industri pangan dan pertanian seperti produksi biskuit, fermentasi minuman seperti minuman beralkohol dan pembuatan sirup, tekstil, kertas, detergen, industri farmasi, industri terapi, dan analisis kimia (Soeka, 2015).

Industri kertas pada prosesnya memanfaatkan enzim amilase untuk menghasilkan lem dari modifikasi pati. Industri detergen menggunakan enzim amilase sebagai pendegradasi karbohidrat pada kotoran. Industri tekstil memanfaatkan peranan enzim amilase untuk memperhalus tekstur (Ningsih dkk, 2012 )

Adapun pada industri kue dan roti penambahan enzim amilase banyak digunakan untuk meningkatkan jumlah dekstrin yang merupakan salah satu produk antara dari konversi pati menjadi maltosa. Penambahan tersebut sangat efektif untuk menurunkan kekerasan roti karena efek dari berat molekul dekstrin yang rendah. Sehingga dapat memberikan dampak yang positif pada volume dan tekstur dari produk kue dan roti (Ompusunggu dkk 2013).

### **2.3 *Bacillus* sp.**

Pada dasarnya masyarakat umum mengenal bakteri sebagai makhluk berukuran mikroskopis yang hampir selalu menjadi sumber penyakit dan berada di

berbagai tempat. Bakteri sendiri merupakan makhluk hidup yang terdiri dari satu sel dan tidak memiliki inti sel. Bakteri hidup di berbagai lokus-lokus air dan tanah. Sebagian di antaranya bersifat aerobik (membutuhkan oksigen) dan sebagian yang lain bersifat anaerobik (tidak membutuhkan oksigen) (Sutiknowati, 2016).

Bakteri terkelompok sesuai dengan kemiripannya, salah satunya kelompok amilolitik atau bakteri yang dapat memproduksi enzim amilase. Adapun bakteri yang termasuk dalam kelompok bakteri amilolitik di antaranya adalah genus *Bacillus*, *Clostridium*, *Bacteriodes*, *LactoBacillus*, *Micrococcus*, *Thermus*, dan *Actinomyces*. Berdasarkan tujuh genus bakteri tersebut, *Bacillus* merupakan salah satu bakteri yang paling banyak dimanfaatkan dalam memproduksi enzim amilase (Isti'annah dkk, 2020).

Pengamatan secara makroskopis menjelaskan bahwa *Bacillus* sp. koloni yang terbentuk bulat tidak beraturan dengan warna krem keputihan. Koloni *Bacillus* sp. juga cenderung besar tidak mengkilat dengan permukaan kasar dan tidak berlendir, bahkan lebih banyak dijumpai dengan kondisi kering dan berbubuk. Adapun pengamatan secara mikroskopis ketika telah dilakukan pewarnaan menjelaskan bahwa *Bacillus* sp. merupakan bakteri gram positif dengan bentuk batang pendek hingga tunggal (Puspita dkk. 2017)

*Bacillus* sp. termasuk dalam kelas bakteri yang bersifat uniseluler atau biasa disebut heterotrofik. *Bacillus* sp. merupakan bakteri berbentuk batang dan dapat dijumpai di tanah dan di air termasuk air laut. Kemampuan *Bacillus* sp. dalam bertahan hidup dan beradaptasi cukup baik. Sebagai bakteri yang tidak memproduksi toksin, *Bacillus* sp. dapat ditemukan pada lingkungan-lingkungan ekstrem seperti suhu yang tinggi. Selain itu, *Bacillus* sp. juga termasuk kelompok

mikroorganisme reducen atau dekomposer. Hampir seluruh spesies *Bacillus* yang mudah ditumbuhkan dan tidak membutuhkan substrat yang mahal sangat cocok untuk dimanfaatkan dalam produksi enzim, kecuali *Bacillus cereus* dan *Bacillus anthracis* (Faizah, 2017).

Telah diketahui beberapa dekade terakhir bahwa sebagian spesies dari *Bacillus* seperti *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, dan *Bacillus licheniformis* banyak dimanfaatkan dalam skala produksi. *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus*, dan *Bacillus amyloliquefaciens* menjadi salah satu di antara sekian banyak bakteri dari spesies *Bacillus* yang mampu menghasilkan amilase termostabil dengan baik, bahkan telah banyak digunakan pada berbagai macam aplikasi dan penelitian (Soeka, 2015).

#### **2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim Amilase**

Enzim amilase yang terbilang angka produksinya sangat tinggi tidak lepas dengan adanya faktor-faktor yang mempengaruhi efektivitas produksi enzim tersebut. Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi enzim amilase diantaranya suhu, pH, dan substrat yang digunakan. Kondisi lingkungan yang optimum dapat mempengaruhi laju reaksi enzimatik sehingga produksi enzim lebih banyak. Laju reaksi dari enzim dapat meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi enzim. Sehingga, laju reaksi tersebut dapat mencapai nilai konstan apabila jumlah substrat terus bertambah hingga melewati batas kemampuan enzim. Namun, apabila jumlah substrat tidak memenuhi kebutuhan enzim maka laju reaksi dapat menurun tajam (Bahri, 2012).

Secara umum, enzim membutuhkan sebuah aktivator saat reaksi katalisnya berlangsung. Aktivator merupakan senyawa atau ion yang mampu meningkatkan

laju reaksi enzimatik dan mencegah adanya inhibitor. Inhibitor sendiri merupakan senyawa atau ion yang mampu menghambat laju reaksi enzimatik tersebut (Pujawati, 2012).

Enzim amilase memiliki struktur molekuler berupa 1,4-glukanohidrolase. Sebagian besar enzim amilase berada pada kelompok metaloenzim atau calcium metalloenzyme dependent yang tidak mampu beraktivitas apabila tidak terdapat ion kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) sebagai salah satu aktivator enzim amilase. Sehingga selain konsentrasi substrat, suhu, dan pH perlu dipastikan juga ketersediaan aktivator pada lingkungan enzim apakah cukup atau tidak untuk enzim melakukan aktivasi (Soeka, 2015).

Selain itu, suhu dan pH menjadi faktor utama yang harus diketahui kondisi optimumnya. Hal tersebut dikarenakan enzim akan berfungsi secara optimal pada kondisi suhu dan pH tertentu. Kecepatan reaksi dapat menurun tajam ketika suhu berada di atas, karena protein sebagai penyusun utama enzim akan terdenaturasi pada suhu tinggi (Kusumaningrum dkk 2019).

Faktor internal juga dapat mempengaruhi aktivitas enzim, seperti banyak sedikitnya volume ekstrak kasar enzim atau besar tidaknya konsentrasi enzim tersebut. Penurunan aktivitas amilase akibat peningkatan volume ekstrak enzim yang berlebih diduga disebabkan oleh akumulasi produk glukosa hasil hidrolisis pati yang bersifat menghambat kerja enzim. Dengan demikian, terdapat volume optimum ekstrak kasar enzim amilase untuk mencapai aktivitas hidrolisis pati yang maksimal. Kontrol terhadap volume ekstrak enzim perlu diperhatikan dalam aplikasi enzim amilase dalam skala industri (Prasetyo et al., 2011).



## 2.5 Media NA (*Nutrient Agar*)

Sebagai sarana penunjang untuk pertumbuhan mikroorganisme dibutuhkan media yang mengandung nutrisi sebagai sumber makanannya. Umumnya mikroorganisme membutuhkan enam komponen utama seperti karbohidrat, lipid, protein, asam nukleat, dan dua komponen lainnya yang berada di dalam sel untuk menunjang proses sintesis sesuai perannya masing-masing. Salah satu dari sekian banyak pilihan media yang paling umum digunakan adalah media NA (*Nutrient Agar*) yang menggunakan ekstrak daging dan protein sebagai sumber glukosa serta asam amino (Thohari dkk., 2019).

Secara fisik media NA (*Nutrient Agar*) merupakan media dengan bentuk serbuk putih kekuningan yang apabila digunakan akan berbentuk padat setelahnya karena terdapat kandungan agar sebagai pematatnya. Komposisi yang terkandung dalam media NA (*Nutrient Agar*) yang utama adalah karbohidrat dan protein yang terdapat pada ekstrak daging, serta pepton yang menyesuaikan kebutuhan sebagian besar bakteri (Thohari dkk., 2019).

Media NA (*Nutrient Agar*) mengandung ekstrak daging sapi dan peptone yang kemudian digunakan sebagai bahan dasar pertumbuhan mikroorganisme karena ekstrak daging sapi dan peptone merupakan sumber protein, nitrogen, vitamin, dan karbohidrat. Peptone yang merupakan sumber utama dari nitrogen organik merupakan asam amino dengan peptide rantai panjang, sedangkan karbohidrat sangat dibutuhkan untuk metabolisme mikroorganisme (Sari, 2017).

Tabel 2.1 Komposisi media *Nutrient Agar* (Sari, 2017).

Bahan	Jumlah
<i>Beef extract</i>	3 g
<i>Peptone</i>	5 g
Agar	15 g

## 2.6 Media YPS (*Yeast Peptone Starch*)

Media pada umumnya berfungsi sebagai tempat pertumbuhan mikroorganisme, isolasi, menguji sifat-sifat fisiologis, dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Sedangkan proses pembuatannya harus dilakukan sterilisasi dan dengan metode aseptis sehingga menghindari terjadinya kontaminasi. Media tersebut harus mengandung nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan seperti karbon, mineral, vitamin, dan sebagainya. Selain itu kondisi dan perlakuan media seperti pH, waktu inkubasi, dan konsentrasi substrat perlu diperhatikan. Salah satu media yang banyak digunakan adalah YPS (*Yeast Peptone Starch*) (Naiola dkk., 2001; Rahmawati, 2021).

Media YPS (*Yeast Peptone Starch*) pada umumnya mengandung yeast extract, peptone, dan starch. Yeast pada umumnya banyak digunakan pada industri pangan seperti pembuatan makanan dan minuman fermentasi. *Yeast extract* sendiri banyak digunakan sebagai nutrisi pada media pertumbuhan mikroba. *Yeast extract* terdiri dari komponen-komponen larut seperti protein, asam amino, dan peptida (Ardiyanti, 2019).

*Peptone* adalah hidrolisat protein yang banyak digunakan pada pertumbuhan bakteri sebagai salah satu komponen nutrisi. Penggunaan Peptone pada prosesnya sangat luas mencakup kebutuhan pada laboratorium mikrobiologi

hingga pada industri berbasis tekbologi. *Peptone* sendiri pada media produksi enzim berfungsi sebagai sumber nitrogen bagi mikroorganismenya (Pantaya dkk., 2016).

Starch atau pati pada dasarnya adalah sumber karbon yang sangat mempengaruhi produksi enzim amilase. Karbon sendiri merupakan elemen dasar yang sangat penting bagi seluruh bentuk kehidupan. Karbon dibutuhkan dengan jumlah yang lebih besar dari pada elemen-elemen lainnya (Nasikhin, 2013; Santos et al., 2003).

Komposisi YPS (yeast peptone starch) terdiri dari 0,2% ekstrak khamir, 0,5% pepton, 0,3%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,05%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,01%  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 20 gr agar dan pati terlarut sesuai dengan kebutuhan penelitian (Isti'ana dkk, 2020).

## **2.7 Media NB (*Nutrient Broth*)**

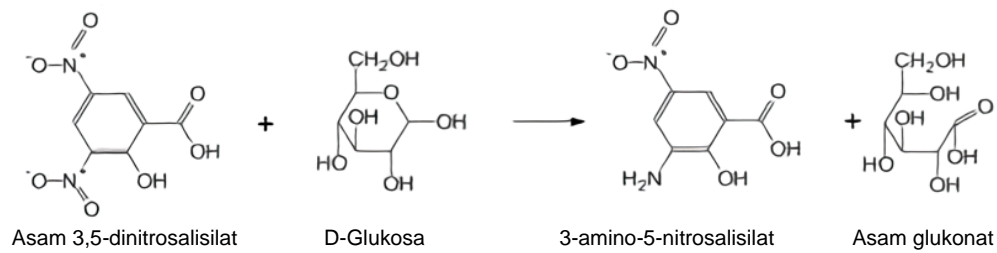
Media Nutrient Broth (NB) merupakan media cair yang banyak digunakan untuk kultur bakteri. Media NB mengandung ekstrak ragi dan ekstrak daging sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri. Kandungan pepton pada NB juga berperan sebagai sumber asam amino, nitrogen, vitamin, dan mineral (Wahyuningsih, N., dan Zulaika, E., 2018).

Keuntungan media NB adalah praktis, simple, dan ekonomis karena hanya mengandung beberapa komponen nutrisi utama bagi bakteri. Selain itu, NB cair memudahkan inokulasi bakteri dalam jumlah banyak dan pengambilan sampel kultur untuk analisis lebih lanjut. Media NB sering digunakan dalam produksi inokulum awal untuk penelitian skala besar (Wibowo, 2021).

## 2.8 Pengujian Aktivitas Enzim Amilase

Uji secara kualitatif pada dasarnya dapat dilakukan dengan uji iodin, sedangkan uji kuantitatif dapat dilakukan dengan metode DNS. Uji iodin ialah penentuan aktivitas enzim amilase berdasarkan kemampuan enzim tersebut dalam mereduksi warna biru tua. Uji iodin hanya dapat digunakan untuk larutan pati dan reagen warna yang kebanyakan tersusun atas larutan iodin ( $I_2$ ) dan kalium iodida (KI). Prosesnya, kompleks pati-iodin akan larut pada air dan memberikan efek warna biru tua, sedangkan polisakarida dan monosakarida lainnya yang tidak memiliki struktur helix yang sama tidak akan menghasilkan kompleks dengan iodin (Naiola dkk., 2001).

Umumnya uji kuantitatif aktivitas enzim amilase dengan menganalisis gula reduksi dapat dilakukan dengan berbagai macam metode, seperti metode Luff Schoorl, metode Nelson-Smogyi, dan metode DNS. Metode DNS sendiri merupakan metode yang paling sering dilakukan para peneliti untuk menentukan kadar gula reduksi. DNS adalah senyawa aromatis yang dapat bereaksi dengan gula pereduksi dan menghasilkan produk asam 3-amino-5-nitrosalisilat. Produk tersebut merupakan senyawa yang mampu menyerap radiasi gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang sebesar 540 nm. Terbentuknya asam 3-amino-5-nitrosalisilat ditandai dengan meningkatnya kadar gula reduksi pada sampel. Sehingga, absorbansi sampel menjadi semakin tinggi (Kowalski et al, 2013; Ruzki 2013; Lone et al, 2012; Nisak, 2020).



Gambar 2.4 Reaksi glukosa dengan DNS (Rismawati dkk., 2016)

Mekanisme reaksi diawali dengan oksidasi gugus aldehida pada glukosa oleh DNS membentuk asam glukonat. DNS sendiri akan tereduksi membentuk 3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna (Santoso et al., 2012). Penambahan alkali akan meningkatkan intensitas warna sehingga memudahkan deteksi fotometrik. Dengan demikian, larutan DNS dapat dimanfaatkan untuk analisis kadar produk glukosa hasil reaksi enzimatik (Nisak, 2020).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai Juli 2023 di Laboratorium Biokimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

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

##### **3.2.1 Alat**

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

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini di antaranya bakteri *Bacillus* sp. koleksi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, *Aquadest*, NA (*Nutrient Agar*), dan YPS (*yeast pepton starch*). Sedangkan proses uji aktivitas dan optimasi enzim amilase menggunakan larutan Iodin, buffer fosfat 1 M pH 7, aluminium foil, alkohol 70%, dan reagen DNS.

#### **3.3 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh volume enzim terhadap aktivitas enzim amilase yang

dihasilkan *Bacillus* sp. dengan variasi volume yang digunakan yaitu 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5 mL.

Rancangan penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pengulangan tiga kali, adapun data yang didapatkan pada penelitian ini berupa aktivitas enzim amilase.

Tabel 3.1 Pengaruh volume terhadap aktivitas enzim amilase

Variasi Volume (mL)	Aktivitas Enzim (U/mL)
0,5	
1	
1,5	
2	
2,5	

Kondisi volume optimum ditandai dengan titik aktivitas enzim amilase tertinggi.

### 3.4 Tahapan Penelitian

- a) Sterilisasi Alat
- b) Pembuatan media
- c) Peremajaan bakteri *Bacillus* sp.
- d) Pembuatan inokulum *Bacillus* sp.
- e) Produksi enzim amilase
- f) Uji pengaruh volume
- g) Analisis data

### **3.5 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.5.1. Sterilisasi Alat**

Seperangkat alat gelas yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu. Proses sterilisasi dilakukan dengan cara dicuci bersih terlebih dahulu dan dikeringkan. Setelah itu seperangkat alat gelas dibungkus dengan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Kemudian dilakukan sterilisasi dengan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (Widodo, 2019)

#### **3.5.2. Pembuatan Media**

##### **3.5.2.1. Media *Nutrient Agar***

Media *Nutrient Agar* dibuat dengan cara dilarutkan 2 g NA bubuk dalam 100 mL aquadest kemudian dihomogenkan di atas hotplate stirrer. Sebagian larutan NA tersebut dituangkan ke dalam tabung reaksi bertujuan untuk memelihara isolat di dalam media agar miring. Kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave*. Setelah itu diletakkan miring hingga dingin dan terbentuk agar (Soeka, 2015; Mayasari, 2016).

##### **3.5.2.2. Media *Nutrient Broth***

Media *Nutrient Broth* (NB) dibuat dengan melarutkan nutrient broth powder sebanyak 0,8 gram ke dalam 100 mL aquades sambil diaduk dengan stirrer dan dipanaskan hingga mendidih (Putri et al., 2019). Setelah mendidih dan semua bahan larut sempurna, media NB disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C tekanan 15 psi selama 15 menit (Wulandari et al., 2017).

##### **3.5.2.3. Media YPS (*Yeast Peptone Starch*)**

Media yang digunakan sebagai media isolasi dan produksi enzim amilase pada penelitian ini adalah media YPS (*Yeast Peptone Starch*) yang mengandung 0,5



g *yeast extract*, 1 g *peptone*, 0,1 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,5 g NaCl, dan 1 g pati sebagai sumber karbon. Apabila dibutuhkan berbentuk padat maka ditambahkan 1 g agar. Semua bahan tersebut ditambahkan ke dalam *aquadest* sebanyak 100 mL serta dipanaskan dan diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga mendidih dan terlarut. Setelah itu media tersebut dimasukkan ke dalam botol UC 100 mL dan disterilisasi menggunakan *autoclave*. (Soeka, 2015; Mayasari, 2016)

### **3.5.3. Peremajaan Bakteri *Bacillus* sp.**

Peremajaan bakteri *Bacillus* sp. pertama kali dilakukan sterilisasi alat dan media. Kemudian diinokulasikan isolat tersebut pada media NA (*Nutrient Agar*) miring. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Soeka dkk, 2015)

### **3.5.4. Pembuatan Inokulum *Bacillus* sp.**

Inokulum diproduksi dengan cara diambil hasil peremajaan sebanyak 2 ose yang kemudian diinokulasikan ke dalam media 25 mL NB. Setelah itu dishaker selama 18 jam dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang. Kemudian kultur dihitung absorbansinya dengan *Spektrofotometer* UV-Vis menggunakan panjang gelombang 600 nm. Berdasarkan absorbansi tersebut dihitung volume yang dibutuhkan dengan konsentrasi OD 0,5 untuk mendapatkan jumlah bakteri yang sama tiap pengulangannya. Volume yang didapatkan kemudian digunakan untuk membuat inokulum dengan volume total 25 mL. Inokulum tersebut kemudian diinkubasi selama 18 jam menggunakan *shaker* kecepatan 100 rpm pada suhu ruang (Isti'anah dkk, 2020; Msarah dkk., 2020; Zulharmita et al., 2021).

### **3.5.5. Produksi Enzim Amilase**

Enzim Amilase diproduksi dengan menggunakan inokulum yang telah diproduksi. Ekstraksi enzim amilase dilakukan dengan tahapan awal diambil 10 mL inokulum bakteri yang telah diinkubasi pada *shaker inkubator*, kemudian dimasukkan ke dalam 100 mL media YPS secara *aseptis*. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Larutan yang didapatkan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 10.000 rpm dan suhu 4°C. Adapun supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim amilase (Isti'annah dkk, 2020; Luang-In dkk., 2019)

### **3.5.6. Pembuatan Kurva Standar Glukosa**

Larutan standar glukosa dengan konsentrasi 25; 50; 100; 200; dan 400 mg/mL disiapkan. Masing-masing 1 mL larutan glukosa dengan konsentrasi berbeda dimasukkan ke dalam tabung reaksi terpisah. Kemudian, 1 mL reagen DNS ditambahkan ke setiap tabung reaksi. Campuran ini dipanaskan dengan air mendidih selama 10 menit menggunakan waterbath untuk memaksimalkan reaksi. Setelah larutan mendingin hingga suhu ruang, ditambahkan 1 mL larutan K-Na tartrat. Setelah itu ditambahkan aquades hingga volumenya 5 mL. Selanjutnya, absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm (Mauliya, 2023).

### **3.5.7. Uji Aktivitas Enzim Amilase Terhadap Pengaruh Volume**

Pengujian aktivitas enzim amilase terhadap pengaruh volume menggunakan metode DNS untuk menentukan gula pereduksi. Larutan pati 2,5% diambil sebanyak 1 mL. Setelah itu dilakukan penambahan ekstrak kasar enzim sesuai

variasi yaitu 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5 mL. Larutan tersebut diinkubasi selama 60 menit pada suhu 32°C. Kemudian ditambahkan 1 mL DNS dan 1 mL Kna-Tartat. Setelah itu, dituangkan *aquadest* hingga volumenya masing-masing 10 mL dan di-vortex. Larutan yang telah di-vortex kemudian dianalisis absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm (Isti'annah dkk, 2020; Nisak, 2020; Irawati, 2016; Soeka, 2015).

Aktivitas enzim amilase dapat diketahui setelah dianalisis absorbansinya dan dihitung berdasarkan persamaan 3.1 (Lestari, 2018 )

$$Aktivitas\ Enzim = \frac{Konsentrasi\ Glukosa}{BM\ Glukosa} \times \left[ \frac{v}{p.q} \right] \times fp \dots\dots\dots(3.1)$$

Adapun BM Glukosa merupakan berat molekul glukosa sebesar 180 g/mol, kemudian v merupakan volume total sampel pada tabung, p adalah volume ekstrak kasar enzim, q waktu inkubasi, dan fp merupakan faktor pengenceran. Data yang didapatkan kemudian dianalisis menggunakan aplikasi SPSS.

### 3.5.8. Analisis Data

Data hasil uji aktivitas enzim amilase kemudian dianalisis menggunakan metode one ways ANOVA untuk mengetahui pengaruh variasi volume. Apabila didapatkan hasil dengan perbedaan yang signifikan, maka diperlukan uji Tukey untuk mengetahui perlakuan yang menyebabkan perbedaan nyata pada variasi volume (Nisak, 2020).

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, data aktivitas enzim amilase menunjukkan bahwa variasi volume memiliki pengaruh signifikan terhadap aktivitas enzim tersebut. Pada volume 0,5 mL terdapat perbedaan signifikan, di mana aktivitas enzim amilase mencapai puncak tertinggi sebesar 17,0479 U/mL. Sementara itu, aktivitas enzim amilase terendah tercatat sebesar 12,0370 U/mL pada volume 1,5 mL.

#### **5.2 Saran**

Hasil penelitian menunjukkan perlunya melakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan metode produksi enzim amilase dengan optimal dan hasil yang maksimal seperti melakukan analisis volume enzim dengan rentang yang berbeda baik di bawah 0,5 mL ataupun di atas 2,5 mL atau melakukan analisis aktivitas enzim dengan variasi volume yang sama namun konsentrasi dan sumber substrat yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Algofar, M. A. A., Rosmansyah, H. F., Rum, I. A., Muhsinin, S., dan Fatmawati, F. 2021. Artikel Review : Study Amilase Dari Mikroorganisme Serta Pemanfaatannya Dalam Pembuatan Maltodekstrin. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*. Volume 6, Nomor 1: 102-117
- Ardiyanti, C., A., P., dan Guntoro. 2019. Produksi *Yeast Extract* dari *Spent Brewer's Yeast*. *Bioedukasi: Jurnal Pendidikan Biologi*. Volume 12, Nomor 1: 55-60.
- 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*. Volume 4, Nomor 2: 222-226
- Ariandi. 2016. Pengenalan Enzim Amilase (Alpha-Amylase) Dan Reaksi Enzimatiknya Menghidrolisis Amilosa Pati Menjadi Glukosa. *Jurnal Dinamika*. Volume 7, Nomor 1: 74-82
- Ar-Rifa'i, M., N. 1999. Kemudahan dari Allah Ringkasan Tafsir Ibnu Katsir Jilid 1. Jakarta: Gema Insani
- Arzita, dan Agustien, A. 2013. Potensi *Bacillus* sp. PA-05 Termofilik Obligat untuk Produksi Amilase. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*.
- Asadullah, M. 2014. Isolasi Bakteri Amilolitik Dari Bekatul Dan Uji Kemampuan Untuk Produksi Enzim Amilase Kasar Pada Berbagai Jenis Media Produksi. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Amar, A., Edward, S. P. T., Dewi, S. T., 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri dalam Proses Pembuatan Sari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, L). Di dalam : *Seminar PATPI 2016*; Tangerang.
- Annamalai, N., Thavasi, R., Vijayalakshmi, S., & Balasubramanian, T. (2011). Extraction, purification and characterization of thermostable, alkaline tolerant  $\alpha$ -amylase from *Bacillus cereus*. *Indian Journal of Microbiology*, 51(4), 424-429.
- Avianty, H., B., Pujiyanto, S. 2020. Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Berkala Bioteknologi*. Volume 3, Nomor 2: 24-30
- Bahri, S., Mirzan, M, dan Hasan, M. 2012. Karakterisasi Enzim Amilase Dari Kecambah Biji Jagung Ketan (*Zea mays ceratina L.*). *Jurnal Natural Science*. Volume 1, Nomor 1: 132-143
- Baehaki, A., dkk. 2008. Karakterisasi Protease dari Bakteri Patogen Ikan *Aeromonas hydrophilla*. *Buletin Teknologi dan Industri*. 19(1): 80-86

- 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.
- Dinarsari A., A., dan Alfiana A. 2013. Proses Hidrolisa Pati Talas Sente (*Alocasia macrorrhiza*) Menjadi Glukosa : Studi Kinetika Reaksi. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. Volume 2, Nomor 4: 253-260
- 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 Air Tahu dan Dedak. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- 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.
- Hidayati, F. N., Rosahdi, T. D., dan Hafsari, A. R. 2018. Pengaruh pH, Suhu dan Buffer Terhadap Aktivitas amilase dari *Bacillus* sp. K<sub>2</sub>Br<sub>5</sub>. Di dalam: *Seminar Nasional Kimia UIN Sunan Gunung Djati. Prosiding Seminar Nasional Kimia UIN Sunan Gunung Djati 2018*; Bandung, 13 Oktober 2018. Bandung: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Gunung Djati. Halaman 95-99
- Ilyas, H. 2015. Al-Nakirah wa Al-Ma'rifah. *Shaut Al-'Arabiyah*. Volume 3, Nomor 2: 7-15
- Irawati, R. 2016. Karakterisasi pH, Suhu, dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi oleh *Bacillus circulans*. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Isti'anah, D., Utami, U., dan Barizi, A. 2020. Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus megaterium* pada Variasi Suhu, pH, dan Konsentrasi Substrat. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*. Volume 2, Nomor 1: 11-17
- Jannah, S., L., N. 2022. Pengaruh pH Dan Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Protease Yang Dihasilkan Oleh *Weissella confusa*. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Kowalski, S., Lukasiewicz, M., and Berski, W. 2013. Applicabilty of Physico-chemical Parameters of Honey for Identification of The Botanical Origin. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* Volume 12, Nomor 1: 51-59
- Kuddus, M., Joseph, B., Kumar, P. A., & Rao, M. B. (2013). Cold-active extra cellular  $\alpha$ -amylase production from novel isolate Alkaliphilic *Bacillus* sp. MBTU 6011: Kinetics and modeling. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2(4), 289-295.

- Kusumaningrum, A., Gunam, I. B. W., Wijaya, I. M. M. 2019. Optimasi Suhu dan pH Terhadap Aktivitas Enzim Endoglukanase Menggunakan Response Surface Methodology (RSM). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. Volume 7, Nomor 2: 243-253
- Lestari, D., P. 2018. Aktivitas Enzim Pencernaan Udang Vaname (*Penaeus vannamei*) yang Diberikan Pakan Berbahan Baku Tepung *Skeletonema costatum*. *Jurnal Perikanan*. Volume 8, Nomor 1: 71-75
- Lone, M. A., Wani, M. R., Bhat, N. A., Sheikh, S. A., and Reshi, M. A. 2012. Evaluation of Cellulase Enzyme Secreted by Some Common and Stirring Rhizosphere Fungi of *Junglans regia L.* by DNS Method. *Journal of Enzyme Research*. Volume 3, Nomor 1: 18-22
- Mayasari. 2016. Pemurnian Enzim Amilase Kasar Dari Bakteri Amilolitik Endogenous Bekatul Secara Parsial Menggunakan Ammonium Sulfat Skripsi. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Mukti, P., R., Feliatra, Effendi, I. 2020. Growth of Bacteria *Bacillus cereus* in Liquid Media with Different Protein Sources. *Journal of Coastal and Ocean Sciences*. Volume 1, Nomor 1: 35-40
- 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.
- Nadaroglu, H., Polat, M., S. 2022. *Microbial Extremozymes: Novel Sources and Industrial Application* Amerika Serikat: Academic Press.
- Naiola, E. 2001. Karakterisasi Amilase dari Isolat Bakteri yang Berasal dari Bali dan Lombok. *Jurnal Biologi Indonesia*. Volume 3, Nomor 1: 32-42
- Nangin, D., Aji, S. 2015. Enzim Amilase Pemecah Pati Mentah Dari Mikroba: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Volume 3, Nomor 3: 1032-1039
- Nasikhin, R., Shovitri, M. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Solar dan Bensin dari Perairan Pelabuhan Gresik. *Jurnal Sains dan Semi Pomits*. Volume 2, Nomor 2: 2337-2350.
- Ningsih, D. R., Rastuti, U., dan Kamaluddin, R. 2012. Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus amyloliquefaciens*. Di dalam: *Seminar Pengembangan Sumber Daya Pedesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan II. Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Sumber Daya Pedesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan II*; Purwokerto, 27-28 November 2012. Purwokerto: Universitas Jendral Soedirman.

- Nisak, Choitrotun. 2020. Optimasi Aktivitas Enzim Amilase dari Jamur *Penicillium subteritium* pada Variasi Suhu. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Ompusunggu, H. E. S., Juwita, dan Silaban, R. 2013. Kajian Biomedik Enzim Amilase dan Pemanfaatan dalam Industri. *Jurnal Pendidikan Kimia*. Volume 5, Nomor 3.
- Pandey G., Munguambe D. M., Tharmavaram M., Rawtani D., dan Agrawal Y. K. 2017. Halloysite nanotubes – An efficient ‘nano-support’ for the immobilization of amylase. *Applied Clay Science*. Nomor 136: 184-191
- Pantaya, D., Pamungkas, D., Merry, M., D., U., Wulandari., S., dan Febri., A. 2016. Optimasi Produksi Pepton dari Bungkil Kedelai untuk Media Produksi Yeast. Di Dalam: *Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat.*; Jember, 23 Desember 2016. Jember: Politeknik Negeri Jember.
- Prasetyo, J., Natalia, D., & Antek, S. (2011). Optimasi Produksi Enzim Amilase dari *Bacillus* sp. Galur N-10. *Jurnal Teknologi*, 4(1), 38–46.
- Priono, T. (2013). Pengaruh sterilisasi terhadap sifat fisik dan kimia tempe. *Agritech*, 33(3), 302-307.
- Pujawati, S. 2012. Seleksi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi Sebagai Penghasil Enzim Amilase. (Skripsi). Universitas Negeri Yogyakarta
- Pujiati. 2022. Teknik Pengamatan Mikroba. Madiun: UNIPNA Press
- Puspita Fifi, Muhammad Ali, Ridho Pratama. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Bakteri *Bacillus* sp. Endofitik dari Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Agrotek. Trop*. Volume 6, Nomor 2: 44-49
- Putri, W.D., Raffiudin, R., & Susanti, I. (2019). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari feses sapi perah sebagai probiotik. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 11(1), 45-50.
- Rahmawati, Annisa. 2021. Campuran Infusa Kentang (*Solanum toberosum* L.) dan Kacang Kedelai (*Glycine max* L.) Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bakteri *Exchericia coli*. (Skripsi). Politeknik Kesehatan Yogyakarta.
- Risna, Y. K., Harimurti, S., Wihandoyo, dan Widodo. 2022. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Itik Lokal Asal Aceh. *Jurnal Peternakan Indonesia*. Volume 24, Nomor 1: 1-7
- Rosmania dan Yanti, F. 2020. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*. Volume 22, Nomor 2: 76-86



- Santos, E., D., O., dan Martins, M., L., L. 2003. Effect of The Medium Composition on Formation of Amylase by *Bacillus* sp. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. Volume 46, Nomor 1: 129-134
- Santoso, B., Kilmaskossu, A., & Maligan, J. M. (2012). Isolasi dan karakterisasi amilase dari *Bacillus* sp. Galur lokal. *Eugenia*, 18(3), 184-196.
- Sari, W., P. 2017. Perbedaan Hasil Uji Kepekaan *Salmonella typhi* Menggunakan Mueller Hinton Agar dan *Nutrient Agar* dengan Antibiotik *Ampicillin*, *Ciprofloxacin*, dan *Trimethoprim-Sulfamethoxazole*. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Seniati, M. dan Irham, A. 2019. Pengukuran Kepadatan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara Cepat dengan Menggunakan Spektrofotometer. *Agrokompleks*, 19(2): 12-19.
- Sharif, S., Asad, H., S., Anila, F., Sammyia, J., Sajida, R., dan Azra, Y. 2023. Optimization of amylase production using response surface methodology from newly isolated thermophilic bacteria. *Heliyon*. Volume 9, Nomor 1: e12901
- Soeka, Y. S. 2015. Kemampuan *Bacillus licheniformis* dalam menghasilkan enzim amilase. *Prosiding Seminar Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. Volume 1, Nomor 5: 1162-1166
- Soeka, Y. S., Rahmansyah, M., dan Sulistiani. 2015. Optimasi Enzim Amilase dari *Bacillus amyloliquefaciens* O 1 yang Diinduksi Substrat Dedak Padi dan Karboksimetilselulosa. *Jurnal Biologi Indonesia*. Volume 11, Nomor 2: 259-266.
- Soeka, Yati Sudaryati., dan Sulistiani. (2014). Karakterisasi Protease *Bacillus Subtilis* A1 Inacc B298 yang Diisolasi dari Terasi Samarinda. *Berita Biologi*. Volume 13, Nomor 2: 203-212
- Sofia, W., N. 2020. Interpretasi Imam Al-Maraghi dan Ibnu Katsir terhadap QS. Ali Imran Ayat 190-191. *Tafkir: Interdisciplinary Journal of Islamic Education*. Volume 2, Nomor 1: 41-57
- 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 Kajian Islam*. Volume 9, Nomor 2: 18-32
- Susilawati, I. O., Batubara, U. M., dan Riany, H. 2015. Analisis Aktivitas Enzim Amilase yang Berasal dari Bakteri Tanah di Kawasan Universitas Jambi. Di dalam : *Semirata 2015. Prosiding Semirata 2015 Bidang MIPA BKS-PTN Barat*; Pontianak.
- Sutiknowati, L. I. 2016. Biokatalisator Pencemaran, Bakteri *Eschericia coli*. *Oseana*. Volume XLI, Nomor 4: 63-71

- Tarigan, W. F., Sumardi, dan Setiawan, W., A. 2015. Karakterisasi Enzim Selulase dari Bakteri Selulolitik *Bacillus* sp. Makalah disajikan dalam *Seminar Nasional Sains dan Teknologi VI*. Lampung: Lembaga Penelitian dan Pengabdian Universitas Lampung. 3 November 2015.
- Thohari, N., M., Pestariati, dan Istanto., W. 2019. Pemanfaatan Tepung Kacang Hijau (*Vigna radiata L.*) Sebagai Media Alternatif NA (*Nutrient Agar*) untuk Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli*. *Analisis Kesehatan Sains*. Volume 8, Nomor 2: 725-737
- Tomi, Ambar, R., Mahyarudin, M. 2022. Aktivitas Antijamur Isolat Bakteri Endofit Tanaman Kunyit Terhadap Penghambatan Pertumbuhan *Mallassezia furfur* Secara In-Vitro. *Jurnal Ilmiah Umum dan esehatan Aisyiyah*. Volume 7, Nomor 1: 1-11
- Wahyuningsih, N., dan Zulaika, E. 2018. Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik Pada Media *Nutrient Broth* dan *Carboxy Methyl Cellulose*. *JURNAL SAINS DAN SENI ITS*. Volume 7, Nomor 2: 2337-3520.
- Wahyuningsih, S., S., Mursyanti, E., dan Atmodjo, P., K. 2004. Pola Pertumbuhan dan Produksi  $\alpha$ -Amilase *Bacillus amyloliquefaciens* pada Substrat Pati Jagung dengan Variasi pH Awal Media dan Waktu Inkubasi. *Biota*. Volume 9, Nomor 2: 84-91
- Wathoni, L. M., dan Nursyamsu. 2020. Tafsir Virus (Fauqa Ba'udhah): Korelasi Covid-19 dengan Ayat-Ayat Allah. *el-Umdah Jurnal Ilmu Al-Qur'an dan Tafsir*. Volume 3, Nomor 1: 63-84.
- Wibowo, D., A. 2021. Pengaruh Suhu Dan Volume Enzim Terhadap Aktivitas Protease Yang Dihasilkan Oleh *Weissella confusa*. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Widodo, Hanan A. 2019. Pengaruh Penambahan Sukrosa pada Air Kelapa terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Weisella confusa*. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Wijayanti, D. R. 2022. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Program Studi DIII Kebidanan. Jakarta: DINAWAN KAMPUS
- Zulharmita, Z., Afriyenni, & Delyuzar. (2021). Skrining dan Uji Potensi Selulase Kasar Beberapa Galur Kapang Pelapuk Kayu Hutan Lindung Gunung Malintang. *Jurnal Hutan Lestari*, 9(2), 767-779.