

ABSTRAK

AMOBILISASI ENZIM α -AMILASE DARI *Bacillus subtilis* ITBCCB148 DENGAN MENGGUNAKAN CM-Sephadex C-50

Oleh

Feraliana

Enzim α -amilase merupakan enzim yang memutus ikatan α -1,4 glikosida pada amilum. Enzim ini banyak dimanfaatkan dalam proses-proses industri baik yang berhubungan dengan pangan maupun non-pangan. Dalam proses industri, enzim ini harus mampu bekerja pada pH ekstrim dan mempunyai stabilitas termal yang tinggi. Namun, umumnya enzim tidak stabil pada kondisi tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan stabilitas enzim α -amilase dari *Bacillus subtilis* ITBCCB148 dengan cara amobilisasi menggunakan CM-Sephadex C-50. Untuk mencapai tujuan tersebut, dilakukan produksi, isolasi, dan pemurnian enzim meliputi : fraksinasi dengan amonium sulfat, dialisis, dan kromatografi kolom penukar kation CM-selulosa. Enzim hasil pemurnian kemudian diamobilisasi dengan menggunakan CM-Sephadex C-50. Penentuan aktivitas α -amilase dilakukan dengan metode *Fuwa* dan metode *Mandels*, sedangkan penentuan kadar protein dilakukan dengan metode *Lowry*.

Hasil penelitian menunjukkan enzim hasil pemurnian memiliki aktivitas spesifik sebesar 21.400 U/mg, meningkat kemurniannya 15 kali dibandingkan ekstrak kasar enzim dengan perolehan 11%. Enzim ini memiliki suhu optimum 60°C, harga $K_M = 6,32 \text{ mg mL}^{-1}$ substrat dan harga $V_{maks} = 138,89 \mu\text{mol mL}^{-1} \text{ menit}^{-1}$. Uji stabilitas termal pada suhu 60°C selama 60 menit masih memiliki aktivitas sisa 23%, $t_{1/2} = 33,64$ menit, $k_i = 0,0206 \text{ menit}^{-1}$, $\Delta G_i = 103,97 \text{ kJ mol}^{-1}$. Amobilisasi enzim hasil pemurnian dengan menggunakan CM-Sephadex C-50 menghasilkan enzim hasil amobilisasi dengan suhu optimum yaitu 70°C dengan nilai K_M yaitu $6,90 \text{ mg mL}^{-1}$ dan V_{maks} yaitu $90,09 \mu\text{mol mL}^{-1} \text{ menit}^{-1}$. Uji stabilitas termal enzim sesudah amobilisasi pada suhu 60°C selama 60 menit masih memiliki aktivitas sisa sebesar 51%, $k_i = 0,0136 \text{ menit}^{-1}$, $t_{1/2} = 50,96$ menit, $\Delta G_i = 105,12 \text{ kJ mol}^{-1}$.

Hasil amobilisasi menunjukkan peningkatan stabilitas termal enzim hingga 1,51 kali dibandingkan enzim hasil pemurnian sebelum amobilisasi. Data yang diperoleh menunjukkan penurunan nilai K_M dan kenaikan nilai V_{maks} , penurunan nilai k_i , peningkatan waktu paruh, dan ΔG_i yang menunjukkan bahwa amobilisasi meningkatkan rigiditas enzim sehingga lebih stabil terhadap pH dan suhu.

Kata kunci : α -amilase, *Bacillus subtilis* ITBCCB148, Amobilisasi Enzim, CM-Sephadex C-50.