I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Enzim adalah katalis yang memiliki keunggulan sifat dapat membantu prosesproses kimia kompleks pada kondisi percobaan yang lunak dan lebih ramah lingkungan (Mateo, 2007). Kelebihan enzim sebagai katalisator antara lain enzim memiliki spesifitas tinggi, mempercepat reaksi kimiawi spesifik tanpa pembentukan senyawa samping, produktivitas tinggi, dan umumnya produk akhir yang terbentuk tidak terkontaminasi sehingga mengurangi biaya purifikasi (Chaplin dan Bucke, 1990). Salah satu enzim yang sering digunakan dalam industri baik pangan maupun non pangan adalah enzim — -amilase. Enzim — amilase adalah enzim yang dapat mengkatalisis penguraian pati menjadi glukosa, maltosa, dan oligosakarida. Pada industri pangan enzim — -amilase digunakan dalam memproduksi sirup gula cair, sari buah, dan selai sedangkan pada industri non pangan banyak dipakai pada industri tekstil (Richana, 2000).

Enzim □-amilase dapat diperoleh dari berbagai sumber, salah satunya dari *Bacillus Subtilis*. Enzim □-amilase dihasilkan dari *Bacillus subtilis* secara ekstraseluler, enzim ini memiliki kelebihan dibandingkan enzim yang dihasilkan secara intraseluler, yaitu enzim ini dapat diperoleh dalam keadaan murni dengan cara pemisahan dan pemurnian yang tidak begitu rumit (Smith, 1990).

Enzim
—-amilase dapat digunakan dalam industri jika memiliki kestabilan termal yang tinggi dan rentang pH yang lebar sehingga diperlukan metode yang tepat untuk mendapatkan enzim dengan kestabilan yang tinggi (Soemitro, 2005). Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mendapatkan enzim yang stabil adalah dengan teknik amobilisasi. Chibata (1978) menjelaskan bahwa metode amobilisasi enzim ada tiga macam yaitu : (1) Metode penjebakan, (2) Metode pengikatan (adsorbsi) pada bahan pendukung, dan (3) Metode ikatan silang.

Amobilisasi enzim dengan metode pengikatan (adsorpsi) dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu dengan adsopsi fisik, ikatan ionik, dan ikatan kovalen. Amobilisasi enzim dengan metode pengikatan (adsorbsi) dengan cara ikatan ion dapat dilakukan dengan berbagai bahan pendukung, salah satunya dengan CM-Sephadex C-50 (karboksi metil Sephadex C-50). Diantara yang telah menggunakan metode pengikatan (adsorbsi) dengan cara ikatan ion sebagai pengamobil yaitu Devi Susanti (2010), dengan menggunakan CM-selulosa (karboksi metil selulosa). Hal ini mengindikasikan bahwa CM-Sephadex C-50 (karboksi metil Sephadex C-50) sangat berpeluang sebagai adsorben pengamobil enzim —amilase yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* ITBCCB148.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- Memproduksi, mengisolasi dan memurnikan enzim □-amilase dari
 Bacillus subtilis ITBCCB148 hingga tahap kromatografi kolom menggunakan CM-selulosa.
- 2. Menentukan karakteristik enzim yang meliputi suhu optimum, stabilitas termal, dan nilai K_M dan V_{Maks} enzim hasil pemurnian.
- 3. Menentukan karakteristik enzim yang meliputi suhu optimum, stabilitas termal, nilai K_M dan V_{Maks} , serta pemakaian berulang enzim hasil hasil amobilisasi.
- Menentukan konstanta laju inaktivasi termal (k_i), waktu paruh (t_½), dan perubahan energi akibat denaturasi (□G_i) enzim hasil pemurnian.
- 5. Menentukan konstanta laju inaktivasi termal (k_i) , waktu paruh $(t_{i/2})$, dan perubahan energi akibat denaturasi $(\Box G_i)$ enzim hasil amobilisasi.

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kemampuan CM-Sephadex C-50 sebagai bahan pengamobil enzim amilase dari *Bacillus substilis* ITBCCB148.