

ABSTRAK

STUDI PENGARUH PENAMBAHAN POLIOL TERHADAP STABILITAS TERMAL ENZIM α -AMILASE DARI *Bacillus subtilis* ITBCCB148

Oleh

EVILIA ARIYANTI

Penggunaan enzim dalam bidang industri telah banyak dilakukan karena enzim memiliki tenaga katalitik yang luar biasa, yang umumnya jauh lebih besar daripada katalisator sintetik. Namun sebagian besar enzim mempunyai beberapa kendala, salah satunya adalah stabilitasnya yang rendah. Kendala ini dapat diatasi dengan penambahan polioliol yang dapat meningkatkan stabilitas termal enzim.

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan stabilitas termal enzim α -amilase dari *Bacillus subtilis* ITBCCB148 dengan senyawa aditif yaitu sorbitol dan gliserol. Untuk mencapai tujuan tersebut pertama dilakukan produksi, isolasi dan pemurnian enzim. Pemurnian enzim α -amilase dilakukan melalui tiga tahap yaitu fraksinasi dengan amonium sulfat, dialisis, dan kromatografi kolom penukar ion dengan menggunakan CMC. Enzim hasil pemurnian dikarakterisasi dengan menggunakan sorbitol dan gliserol. Pengujian aktivitas α -amilase dilakukan dengan metode *Fuwa* dan metode *Mandels*, sedangkan pengukuran kadar protein dengan metode *Lowry*.

Hasil penelitian menunjukkan enzim hasil pemurnian memiliki pH optimum 6 suhu optimum 60°C , dengan nilai K_M dan V_{maks} berturut-turut adalah $3,99 \text{ mg mL}^{-1}$ substrat dan $3,89 \mu\text{mol mL}^{-1} \text{ menit}^{-1}$. Proses pemurnian meningkatkan aktivitas spesifik enzim dari 393 U/mg untuk ekstrak kasar menjadi 12.000 U/mg untuk kromatografi kolom dengan tingkat kemurnian 30 kali.

Penambahan sorbitol tidak mengalami perubahan pH dan suhu optimum. Stabilitas termal enzim dengan penambahan sorbitol $0,5\text{M}$ mempunyai nilai $K_M = 1,98 \text{ mg mL}^{-1}$ substrat, $V_{maks} = 1,19 \mu\text{mol mL}^{-1} \text{ menit}^{-1}$, $t_{1/2} = 28,39$ menit; $k_i = 0,029$, $\Delta G_i = 103,010 \text{ kJ mol}^{-1}$; sorbitol 1M , $K_M = 1,86 \text{ mg mL}^{-1}$ substrat, $V_{maks} = 1,44 \mu\text{mol mL}^{-1} \text{ menit}^{-1}$, $t_{1/2} = 38,50$ menit; $k_i = 0,018$, $\Delta G_i = 104,330 \text{ kJ mol}^{-1}$; sorbitol $1,5\text{M}$, $K_M = 1,35 \text{ mg mL}^{-1}$ substrat, $V_{maks} = 3,93 \mu\text{mol mL}^{-1} \text{ menit}^{-1}$, $t_{1/2} = 43,31$ menit; $k_i = 0,016$, $\Delta G_i = 104,657 \text{ kJ mol}^{-1}$. Enzim dengan penambahan sorbitol $0,5\text{M}$; 1M ; $1,5\text{M}$ memiliki aktivitas sisa berturut-turut adalah $16,96\%$; $33,22\%$; dan $41,69\%$ setelah penyimpanan selama 60 menit pada suhu 60°C .

Enzim dengan penambahan gliserol $0,5\text{M}$; 1M ; $1,5\text{M}$ tidak menyebabkan perubahan suhu optimum tetapi mengalami perubahan pH optimum dari 6 menjadi 6,5. Enzim dengan penambahan gliserol $0,5\text{M}$ mempunyai nilai $K_M = 1,82 \text{ mg mL}^{-1}$ substrat, $V_{maks} = 1,34 \mu\text{mol mL}^{-1} \text{ menit}^{-1}$, $t_{1/2} = 21,00$ menit, $k_i = 0,033$, $\Delta G_i = 102,652 \text{ kJ mol}^{-1}$; gliserol 1M , $K_M = 1,75 \text{ mg mL}^{-1}$ substrat, $V_{maks} = 3,44 \mu\text{mol mL}^{-1} \text{ menit}^{-1}$ gliserol $t_{1/2} = 21,00$ menit, $k_i = 0,033$, $\Delta G_i = 102,652 \text{ kJ mol}^{-1}$; gliserol $1,5\text{M}$, $K_M = 2,15 \text{ mg mL}^{-1}$, $V_{maks} = 1,71 \mu\text{mol mL}^{-1} \text{ menit}^{-1}$, $t_{1/2} = 27,72$ menit, $k_i = 0,025$, $\Delta G_i = 103,421 \text{ kJ mol}^{-1}$. Enzim setelah penambahan gliserol $0,5\text{M}$; 1M ; $1,5\text{M}$ memiliki aktivitas sisa berturut-turut adalah $14,16\%$; $14,16\%$; $24,79\%$ selama penyimpanan 60 menit pada suhu 60°C .

Penambahan sorbitol dan gliserol hanya meningkatkan stabilitas termal enzim α -amilase. Penurunan nilai k_i , peningkatan waktu paruh dan ΔG_i menunjukkan bahwa enzim dengan penambahan poliol lebih stabil dibandingkan enzim sebelum penambahan poliol.