

## ABSTRAK

### PENINGKATAN KESTABILAN ENZIM $\alpha$ -AMILASE DARI *Aspergillus fumigatus* DENGAN MODIFIKASI KIMIA MENGGUNAKAN SITRAKONAT ANHIDRIDA

Oleh

**Annisa Dila Febriyanti**

Enzim  $\alpha$ -amilase merupakan enzim yang mampu untuk menghidrolisis pati dengan memutuskan ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosidik dan banyak digunakan pada proses industri pada pH dan suhu yang ekstrim, namun pada umumnya enzim tidak stabil pada kondisi tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan stabilitas enzim  $\alpha$ -amilase dari *Aspergillus fumigatus* dengan modifikasi kimia menggunakan sitrakonat anhidrida. Untuk mencapai tujuan tersebut, telah dilakukan proses isolasi, pemurnian, modifikasi kimia, dan karakterisasi enzim  $\alpha$ -amilase hasil pemurnian sebelum dan setelah modifikasi. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas spesifik enzim  $\alpha$ -amilase hasil pemurnian sebesar 5.597,597 U/mg meningkat sebanyak 11,21 kali. Enzim hasil pemurnian mempunyai pH 5,5; suhu optimum 50<sup>0</sup> C;  $K_M = 349,267$  mg/mL substrat;  $V_{maks} = 666,667$   $\mu$ mol/mL.menit. Uji stabilitas termal enzim  $\alpha$ -amilase hasil pemurnian memiliki aktivitas sisa sebesar 5,422% dan nilai  $k_i = 0,0485$  menit<sup>-1</sup>;  $t_{1/2} = 14,289$  menit; dan  $\Delta G_i = 98,691$  kJ/mol. Enzim hasil modifikasi menggunakan sitrakonat anhidrida dengan penambahan 20  $\mu$ L memiliki pH optimum 5,5 sedangkan penambahan 30  $\mu$ L dan 40  $\mu$ L memiliki pH optimum 4,5; suhu optimum untuk ketiga penambahan adalah 55<sup>0</sup> C;  $K_M$  berturut-turut adalah 77,915; 69,377; dan 70,169 mg/mL substrat; dan  $V_{maks}$  berturut-turut adalah 169,491; 129,87; dan 153,846  $\mu$ mol/mL.menit. Uji stabilitas termal pada enzim hasil modifikasi dengan variasi penambahan 20, 30, dan 40  $\mu$ L selama 60 menit pada suhu 60<sup>0</sup> C memiliki aktivitas sisa berturut-turut sebesar 64,762; 86,824; dan 83,384 % dan memiliki nilai  $k_i$  berturut-turut adalah 0,0069; 0,0024; dan 0,0028menit<sup>-1</sup>;  $t_{1/2}$  secara berturut-turut adalah 100,435; 288,75; dan 107,798 menit; serta nilai  $\Delta G_i$  secara berturut-turut adalah 106,27; 108,855; dan 108,455 kJ/mol. Berdasarkan penurunan nilai  $k_i$ , peningkatan nilai  $\Delta G_i$  dan  $t_{1/2}$ , diketahui bahwa enzim hasil modifikasi kimia menggunakan sitrakonat anhidrida dapat meningkatkan stabilitas enzim  $\alpha$ -amilase dibandingkan enzim hasil pemurnian.

Kata kunci : *Aspergillus fumigatus*, Enzim  $\alpha$ -Amilase, Modifikasi Kimia, Sitrakonat Anhidrida

## ABSTRACT

### INCREASED STABILITY OF THE $\alpha$ -AMILASE OBTAINED FROM *Aspergillus fumigatus* WITH CHEMICAL MODIFICATION USING CITRACONIC ANHYDRIDE

By

**Annisa Dila Febriyanti**

The  $\alpha$ -amylase is an enzyme that is able to hydrolyze starch breaking the  $\alpha$ -1,4-glycosidic bond and is widely used in industrial processes at extreme pH and temperature, but in general the enzyme is unstable under these conditions. In this study aims to increased stability of the  $\alpha$ -amilase obtained from *Aspergillus fumigatus* with chemical modification using citraconic anhydride. The study include the isolation, purification, chemical modification, and characterization of the purified enzyme before and after modification. The results showed that the  $\alpha$ -amylase after purification had a specify activity of 5,597.597 U/mg whose purity increased 11,21 times compared to crude extract. The purified enzyme had a pH of 5.5; optimum temperature of 50<sup>0</sup> C;  $K_M = 349.267$  mg/mL substrate; and  $V_{max} = 666.667$   $\mu$ mol/mL.minute. Thermal stability test of the purified enzyme had residual activity of 5.422% and the value of  $k_i = 0.0485$  minutes<sup>-1</sup>;  $t_{1/2} = 14.289$  minute; and  $\Delta G_i = 98.691$  kJ/mol. The enzyme had been modified using cytrakonic anhydride with the addition of 20  $\mu$ L have an optimum pH of 5.5 while the addition of 30 and 40  $\mu$ L have an optimum pH of 4.5; the optimum temperature for the three additions is 55<sup>0</sup>C; respectively had  $K_M = 77.915$ ; 69.377; and 70.169 mg/mL substrate;  $V_{max} = 169.491$ ; 129.87; and 153.846  $\mu$ mol/mL.minutes. Thermal stability test of the modified enzyme with an additions of 20, 30, and 40  $\mu$ L respectively had residual activity 64.762; 86.824; dan 83.384 % and respectively had value of  $k_i = 0.0069$ ; 0.0024; and 0.0028 minutes<sup>-1</sup>;  $t_{1/2} = 100.435$ ; 288.75; and 107.798 minutes; and also  $\Delta G_i = 106.27$ ; 108.855; and 108.455 kJ/mol. Based on the decrease in  $k_i$ , increasing in  $\Delta G_i$  and  $t_{1/2}$ , indicate that the modified  $\alpha$ -amylase using citraconic anhydride is more stable than the purified enzyme.

**Keywords:**  $\alpha$ -Amilase, *Aspergillus fumigatus*, Chemical Modification, Citraco Anhydride