

ABSTRAK

PENGARUH MODIFIKASI KIMIA MENGGUNAKAN ASAM GLIOKSILAT TERHADAP STABILITAS ENZIM α -AMILASE DARI *Aspergillus fumigatus*

Oleh

Dwi Noviani

Enzim α -amilase merupakan enzim ekstraseluler yang mampu memotong ikatan 1,4- α -D-glikosidik antar monomer glukosa pada rantai linier amilosa. Enzim α -amilase memiliki aplikasi paling luas dalam berbagai bidang industri. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan stabilitas enzim α -amilase dari *A. fumigatus* dengan modifikasi kimia menggunakan asam glioksilat. Enzim α -amilase diisolasi menggunakan sentrifugasi dan dimurnikan menggunakan fraksinasi dengan amonium sulfat dan dialisis. Enzim hasil pemurnian dimodifikasi dengan asam glioksilat. Aktivitas enzim α -amilase dilakukan dengan metode Fuwa dan metode Mandels. Kadar protein ditentukan dengan metode Lowry. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas spesifik enzim hasil pemurnian sebesar 1.037,42 U/mg meningkat 18 kali dibandingkan dengan ekstrak kasar enzim yang mempunyai aktivitas spesifik 58,31 U/mg. Enzim hasil pemurnian mempunyai pH optimum 5,0 dengan suhu optimum 55°C; $K_M = 11,55 \text{ mg/mL}^{-1}$ substrat, $V_{maks} = 10,76 \mu\text{mol mL}^{-1}\text{menit}^{-1}$ dan uji stabilitas termal enzim selama 100 menit pada suhu 60°C memiliki aktivitas sisa sebesar 9,34% dengan $k_i = 0,018 \text{ menit}^{-1}$; $t_{1/2} = 38,50$ menit; dan $\Delta G_i = 104,331 \text{ kJ/mol}^{-1}$. Enzim hasil modifikasi kimia menggunakan asam glioksilat dengan konsentrasi 1,5; 2,0; dan 2,5 mg/mL optimum pada pH 5,5 dan suhu 55°C serta memiliki nilai K_M berturut-turut sebesar 16,74; 16,28; dan 14,67 mg/mL^{-1} substrat, nilai V_{maks} berturut-turut sebesar 9,32; 7,92; dan 7,07 $\mu\text{mol mL}^{-1}\text{menit}^{-1}$ serta uji stabilitas termal enzim selama 100 menit pada suhu 60°C memiliki aktivitas sisa berturut-turut sebesar 28,59; 35,93; dan 39,23% serta memiliki nilai $k_i = 0,0105$; 0,0096; dan 0,0088 menit^{-1} , nilai $t_{1/2} = 66,00$; 72,19; dan 78,75 menit, dan nilai $\Delta G_i = 105,799$; 106,076; dan 106,297 kJ/mol^{-1} . Enzim hasil modifikasi kimia dengan asam glioksilat memiliki kestabilan termal yang tinggi, hal ini dibuktikan dengan peningkatan waktu paruh sebesar 1,08-2,05 kali lipat dibandingkan dengan enzim murni.

Kata kunci: α -amilase, *A. fumigatus*, modifikasi kimia, asam glioksilat.

ABSTRACT

EFFECTS CHEMICAL MODIFICATION USING GLYOXYLIC ACID ON THE STABILITY OF α -AMYLASE FROM *Aspergillus fumigatus*

By

Dwi Noviani

α -Amylase is an extracellular enzyme that may breakdown 1,4-D-glycosidic bonds between glucose monomers in amylose linear chains. The α -amylase enzyme is widely used in a variety of industrial areas. The purpose of this study was to enhance the stability of the α -amylase enzyme from *A. fumigatus* by chemical modification using glyoxylic acid. The α -amylase enzyme was isolated by centrifugation and purified by ammonium sulfate fractionation and dialysis. The purified enzyme was modified with glyoxylic acid. α -Amylase activity was tested using the Fuwa method and Mandels method. Protein content was determined by the Lowry method. The results showed that the specific activity of the purified enzyme, 1,037.42 U/mg, increased 18 times over the crude extract of the enzyme, which had a specific activity of 58.31 U/mg. The purified enzyme has an optimum pH of 5.0 with an optimum temperature of 55°C; $K_M = 11.55 \text{ mg/mL}^{-1}$ substrate, $V_{\max} = 10.76 \text{ mole/mL}^{-1}$ and the thermal stability test at 60°C for 100 minutes yielded a residual activity of 9.34% with $k_i = 0.018 \text{ minutes}^{-1}$, $t_{1/2} = 38.50 \text{ minutes}$, and $\Delta G_i = 104.331 \text{ kJ/mol}^{-1}$. Chemical modification enzyme using glyoxylic acid with a concentration of 1.5; 2.0; and 2.5 mg/mL optimum pH at 5.5 and temperature 55°C and has a K_M value of 16.74; 16.28; and 14.67 mg/mL^{-1} substrate, V_{\max} value are 9.32; 7.92; and 7.07 mole/mL^{-1} and the thermal stability test at 60°C for 100 minutes yielded residual activity of 28.59, 35.93, and 39.23%, with $k_i = 0.0105, 0.0096, \text{ and } 0.0088 \text{ min}^{-1}$, $t_{1/2} = 66.00, 72.19, \text{ and } 78.75 \text{ minutes}$, and $\Delta G_i = 105.799, 106.076, \text{ and } 106.297 \text{ kJ/mole}^{-1}$. Enzymes that have been chemically modified with glyoxylic acid show great thermal stability, as indicated by a 1.08-2.05-fold increase in half-life when compared to purified enzymes.

Keywords: α -amylase, *A. fumigatus*, chemical modification, glyoxylic acid.