

## ABSTRACT

### CHEMICAL MODIFICATION OF $\alpha$ -AMYLASE ENZYME FROM *Aspergillus fumigatus* USING POLYETHYLEN GLYCOL NITROPHENOL CARBONATE (NPC-PEG)

By

VIRGINIA NUH REZA AMANDA

Enzymes of microbial origin are used extensively in industry and medicine. The demand and trade for industrial enzymes are steadily increasing and by 2023 is expected to reach \$7.0 billion. One of the enzymes that has an important role in the industrial field is the  $\alpha$ -amylase enzyme. This study aims to increase the stability of the  $\alpha$ -amylase enzyme from *Aspergillus fumigatus* through chemical modification using NPC-PEG. This research went through production, isolation, purification, modification, and characterization stages. The activity of the  $\alpha$ -amylase enzyme was determined by Fuwa and Mandels method, while for the protein content was by Lowry method. The results showed that specific activity of purified enzyme was 656.742 U/mg which increased 13.7 times from the crude extract of the enzyme which was 47.965 U/mg. Optimum purified enzyme at pH 5 and temperature of 50 °C with a value of  $k_i = 0.0258 \text{ min}^{-1} \pm 0.0004$ ; half-life = 26.87 minutes  $\pm 0.3668$ ; and  $\Delta G_i = 100.151 \text{ kJ mol}^{-1} \pm 0.0367$ . The modified enzymes using NPC-PEG concentrations of 5, 10, and 15 mg had the same optimum pH and temperature, pH of 5.5 and 60 °C temperature, while the value of  $k_i$  is  $0.0157 \text{ min}^{-1} \pm 0.0001$ ;  $0.02 \text{ min}^{-1} \pm 0.0000$ ; and  $0.0224 \text{ minutes}^{-1} \pm 0.0003$  respectively, half-life of 44.15 minutes  $\pm 0.3977$ ; 34.66 minutes  $\pm 0.0000$ ; and 30.94 minutes  $\pm 0.3908$ ; and  $\Delta G_i$  value of  $104.711 \text{ kJ mol}^{-1} \pm 0.0249$ ;  $104.041 \text{ kJ mol}^{-1} \pm 0.0000$ ; and  $103.727 \text{ kJ mol}^{-1} \pm 0.0379$ . Modification using NPC-PEG can increase the stability of the  $\alpha$ -amylase enzyme from *A. fumigatus* 1.2-1.6 times compared to the purified enzyme, indicated by a decrease in the value of  $k_i$ , an increase in half-life ( $t_{1/2}$ ), and an increase in  $\Delta G_i$  for the modified enzyme results.

**Keywords :**  $\alpha$ -amylase, NPC-PEG, enzyme stability, *A. fumigatus*

## ABSTRAK

### MODIFIKASI KIMIA ENZIM $\alpha$ -AMILASE DARI *Aspergillus fumigatus* MENGGUNAKAN NITROFENOL KARBONAT POLIETILEN GLIKOL (NPC-PEG)

Oleh

VIRGINIA NUH REZA AMANDA

Enzim yang berasal dari mikroba digunakan secara luas dalam industri dan obat-obatan. Permintaan dan perdagangan untuk enzim industri terus mengalami peningkatan dan pada tahun 2023 diperkirakan mencapai \$7,0 miliar. Salah satu enzim yang memiliki peran penting di bidang industri adalah enzim  $\alpha$ -amilase. Penelitian bertujuan untuk meningkatkan kestabilan enzim  $\alpha$ -amilase dari *Aspergillus fumigatus* melalui modifikasi kimia menggunakan NPC-PEG. Penelitian dilaksanakan melalui beberapa tahap yaitu produksi, isolasi, pemurnian, modifikasi, dan karakterisasi. Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase ditentukan dengan metode Fuwa dan Mandels, serta kadar protein metode Lowry. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas spesifik enzim hasil pemurnian 656,742 U/mg meningkat 13,7 kali dari ekstrak kasar enzim sebesar 47,965 U/mg. Enzim hasil pemurnian optimum pada pH 5 dan suhu 50 °C dengan nilai  $k_i = 0,0258 \text{ menit}^{-1} \pm 0,0004$ ; waktu paruh = 26,87 menit  $\pm 0,3668$ ; dan  $\Delta G_i = 100,151 \text{ kJ mol}^{-1} \pm 0,0367$ . Enzim hasil modifikasi menggunakan NPC-PEG konsentrasi 5, 10, dan 15 mg memiliki pH dan suhu optimum yang sama yaitu 5,5 dan 60 °C. Sedangkan nilai  $k_i$  secara berturut-turut adalah  $0,0157 \text{ menit}^{-1} \pm 0,0001$ ;  $0,02 \text{ menit}^{-1} \pm 0,0000$ ; dan  $0,0224 \text{ menit}^{-1} \pm 0,0003$ , waktu paruh sebesar 44,15 menit  $\pm 0,3977$ ; 34,66 menit  $\pm 0,0000$ ; dan 30,94 menit  $\pm 0,3908$ ; dan nilai  $\Delta G_i$  104,711 kJ mol<sup>-1</sup>  $\pm 0,0249$ ; 104,041 kJ mol<sup>-1</sup>  $\pm 0,0000$ ; dan 103,727 kJ mol<sup>-1</sup>  $\pm 0,0379$ . Modifikasi menggunakan NPC-PEG dapat meningkatkan kestabilan enzim  $\alpha$ -amilase dari *A. fumigatus* 1,2-1,6 kali dibandingkan dengan enzim hasil pemurnian, ditunjukkan dengan penurunan nilai  $k_i$ , peningkatan waktu paruh ( $t_{1/2}$ ), dan peningkatan  $\Delta G_i$  dari enzim hasil modifikasi.

**Kata kunci** :  $\alpha$ -amilase, NPC-PEG, kestabilan enzim, *A. fumigatus*