

**PENGARUH PENAMBAHAN XILITOL TERHADAP KESTABILAN
ENZIM α -AMILASE DARI *Aspergillus fumigatus***

(Skripsi)

Oleh

**Diah Indah Pratiwi
NPM 1917011054**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

PENGARUH PENAMBAHAN XILITOL TERHADAP KESTABILAN ENZIM α -AMILASE DARI *Aspergillus fumigatus*

Oleh

Diah Indah Pratiwi

Enzim alfa amilase merupakan enzim penghidrolisis pati yang mampu menghasilkan dekstrin, maltosa, oligosakarida, dan D-glukosa yang banyak digunakan dalam proses industri. Ketidakstabilan enzim pada pH yang ekstrim dan suhu yang tinggi merupakan masalah utama dalam industri, oleh sebab itu perlu dilakukan peningkatan kestabilan enzim dengan penambahan zat aditif. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kestabilan enzim α -amilase hasil pemurnian dari *Aspergillus fumigatus* dengan penambahan xilitol. Tahapan penelitian meliputi isolasi, pemurnian dengan fraksinasi ammonium sulfat dan dialisis, penambahan zat aditif dan karakterisasi enzim hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas spesifik enzim hasil pemurnian mengalami peningkatan 9,37 kali. Enzim hasil pemurnian memiliki aktivitas spesifik sebesar 734,356 U/mg sedangkan ekstrak kasar enzim memiliki aktivitas spesifik sebesar 78,358 U/mg. Enzim α -amilase hasil pemurnian bekerja secara optimum pada pH 5,5 dengan suhu optimum 50 °C, $K_M = 2,589$ mg/mL dan $V_{maks} = 796,178$ μ mol/mL.menit. Uji stabilitas termal enzim pada suhu 50 °C selama 100 menit menunjukkan aktivitas sisa sebesar 11,21% dengan nilai $k_i = 0,0176$ menit⁻¹, $t_{1/2} = 39$ menit dan $\Delta G_i = 101,198$ kJ/mol. Enzim α -amilase setelah penambahan xilitol 0,5; 1; dan 1,5 M bekerja secara optimum pada pH 5,5 dengan suhu optimum 60 °C, K_M berturut-turut 3,3428; 3,9139; dan 3,2026 mg/mL dan V_{maks} berturut-turut 695,41; 583,771; dan 739,64 μ mol/mL.menit. Pada uji stabilitas termal enzim α -amilase setelah penambahan xilitol 0,5; 1; dan 1,5 M pada suhu 60 °C selama 100 menit menunjukkan aktivitas sisa sebesar 39,26; 26,66; dan 23,28% dengan nilai $k_i = 0,0141$; 0,012; dan 0,094 menit⁻¹, $t_{1/2} = 49$, 58; dan 73 menit dan $\Delta G_i = 105,08$; 105,052; dan 106,076 kJ/mol. Penambahan xilitol pada enzim α -amilase hasil pemurnian dari *Aspergillus fumigatus* mampu meningkatkan stabilitas enzim α -amilase.

Kata Kunci: zat aditif, xilitol, α -amilase, *Aspergillus fumigatus*, stabilitas enzim.

ABSTRACT

THE EFFECT OF XYLITOL ADDITION TOWARDS STABILITY OF α -AMYLASE ENZYME FROM *Aspergillus fumigatus*

By

Diah Indah Pratiwi

Alpha amylase enzyme is a starch hydrolysis enzyme that capable of producing dextrins, maltose, oligosaccharides, and D-glucose which are widely used in industrial processes. Enzyme instability at the extreme pH and high temperatures is a major problem in industry, therefore it is necessary to increase the stability of enzyme with the addition of additives. This study aims to increase the stability of the purified α -amylase enzyme from *Aspergillus fumigatus* with the addition of xylitol. The stages of research include isolation, purification by fractionation with ammonium sulphate and dialysis, addition of xylitol and characterization of purified enzymes and enzyme with xylitol addition. The results showed that the specific activity of the purified enzyme increased 9.37 times. The specific activity of purified enzyme was 734.356 U/mg while the specific activity of crude extract of enzyme was 78.358 U/mg. Purified α -amylase enzyme works optimally at pH 5.5 with an optimum temperature of 50 °C, $K_M = 2.589$ mg/mL and $V_{max} = 796.178$ $\mu\text{mol} / \text{mL}\cdot\text{min}$. The thermal stability test of the enzyme at 50 °C for 100 min showed residual activity at 11.21% with $k_i = 0.0176 \text{ min}^{-1}$, $t_{1/2} = 39$ min and $\Delta G_i = 101.198$ kJ/mol. α -amylase enzyme with the addition of xylitol 0.5; 1; and 1.5 M work optimally at pH 5.5 with an optimum temperature of 60 °C, $K_M = 3.3428$; 3.9139; and 3.2026 mg/mL and $V_{max} = 695.4$; 583.771; and 739.64 $\mu\text{mol}/\text{mL}\cdot\text{min}$. In the thermal stability test of the enzyme at 60 °C for 100 minutes showed residual activity at 39.26; 24.66; and 23.28% with $k_i = 0.0141$; 0.012; and 0.094 min^{-1} , $t_{1/2} = 49$, 58, and 73 min and $\Delta G_i = 105.08$; 105.052; and 106.076 kJ/mol. Addition of xylitol on the purified α -amylase enzyme from *Aspergillus fumigatus* can increase the stability of the α -amylase enzyme

Key words : additive, xylitol, α -amylase, *Aspergillus fumigatus*, stability of enzyme.

**PENGARUH PENAMBAHAN XILITOL TERHADAP KESTABILAN
ENZIM α -AMILASE DARI *Aspergillus fumigatus***

Oleh

Diah Indah Pratiwi

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Xilitol terhadap Kestabilan Enzim α -Amilase dari *Aspergillus fumigatus*

Nama Mahasiswa : *Diah Indah Pratiwi*

Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011054

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.
NIP. 195609051992031001

Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.
NIP. 195405101988032001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila

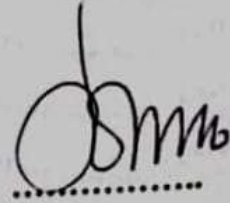
Mulyono, Ph.D.
NIP. 197406112000031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

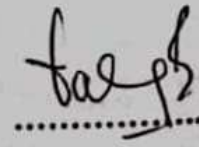
Ketua

: Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.



Sekretaris

: Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.

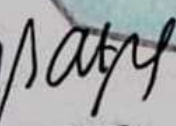


**Penguji
Bukan Pembimbing**

: Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si, M.Sc.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 03 Agustus 2023

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Diah Indah Pratiwi
NPM : 1917011054
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya, bahwa skripsi saya berjudul :

“Pengaruh Penambahan Xilitol terhadap Kestabilan Enzim α -Amilase dari *Aspergillus fumigatus*

Adalah benar karya saya sendiri dan saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Bandar Lampung, 03 Agustus 2023
Yang Menyatakan



Diah Indah Pratiwi
NPM. 1917011054

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Diah Indah Pratiwi, lahir di Jakarta, 29 September 2000. Penulis merupakan anak ketiga dari enam bersaudara yang merupakan putri dari pasangan Bapak Agus Santoso dan Ibu Maryati. Penulis mulai menempuh pendidikan di TK Permata Indah pada tahun 2006–2007, kemudian melanjutkan pendidikan di SDN Pesanggrahan 01 Pagi (2007–2013). Pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 267 Jakarta (2013–2016) dan Sekolah Menengah Atas di SMAN 16 Jakarta (2016–2019).

Pada tahun 2019, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung (FMIPA Unila) melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah mengikuti kegiatan organisasi sebagai Anggota Biro Usaha Mandiri Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) periode 2020 - 2021. Penulis juga pernah menjadi Staf Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA Unila pada tahun 2020. Pada tahun 2020 dan 2022 penulis mendapat penghargaan sebagai Penerima Bantuan Modal Usaha Program Mahasiswa Wirausaha (PMW) Universitas Lampung dengan judul "THEOCHA" dan "Melliflous Perfume".

Perjalanan dalam mengerjakan tugas akhir penulis pernah menjadi asisten praktikum Biokimia pada tahun 2023. Pada awal tahun 2021, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pandeglang selama 40 hari. Pada Desember 2022, penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) yang berjudul "Penentuan Kondisi Optimum *Aspergillus fumigatus* Menghasilkan Enzim α -Amilase Pada Media Pati Kentang (*Solanum tuberosum*)", setelah itu penulis mulai mengerjakan tugas akhir.

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillahirabbil' alamin, atas rahmat Allah SWT kupersembahkan karya ini sebagai wujud bakti dan tanggung jawabku kepada :

*Kedua orang tuaku,
Bapak Agus Santoso dan Ibu Maryati yang telah menyayangi, merawat, mendidik, mengajarkan kebaikan, memberikan motivasi, senantiasa mendukung serta mendo'akan keberhasilanku dalam setiap sujud.*

Untuk kedua kakakku Hafidzudinnur dan Teguh Setyo Wibowo, untuk ketiga adikku Damar Setiawan, M. Soffian dan Azizah Fauziah, serta seluruh keluarga besar yang selalu mendoakan dan menjadi penyemangatku.

*Pembimbing dan penguji penelitianku :
Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.
Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.
Bapak Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc.
Terimakasih atas bimbingan, ilmu, nasihat, dan kesabaran dalam membimbing selama ini.*

Dosen jurusan kimia yang selalu membagi ilmunya untukku

Sahabat dan teman-temanku

*Almamaterku tercinta
Universitas Lampung*

MOTTO

"Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan"

(QS Al-Insyirah: 5-6)

"Hai orang-orang yang beriman, mintalah pertolongan kepada Allah dengan sabar dan salat. Sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar"

(QS Al-Baqarah: 153)

"Keberhasilan itu bukanlah selalu milik orang pintar, namun keberhasilan itu adalah milik orang yang senantiasa berusaha"

(BJ Habibie)

"Sukses berkaitan dengan tindakan. Orang sukses terus melangkah, mereka membuat kesalahan namun tidak menyerah"

(Conrad Hilton)

"Saat banyak orang ragu atau menjatuhkanmu, jadikan itu sebagai motivasi untuk memantapkan langkahmu"

(Putri Tanjung)

SANWACANA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas berkat serta kasih sayang dan karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Penambahan Xilitol Terhadap Kestabilan Enzim α -Amilase dari *Aspergillus fumigatus*”**.

Skripsi ini adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya doa, bimbingan, nasihat serta bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S. selaku Pembimbing I yang telah membimbing, memberikan banyak ilmu pengetahuan, nasihat, arahan, dukungan, saran dan kritik yang sangat berarti bagi penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. selaku Pembimbing II dan Pembimbing Akademik atas semua kritik, saran, bimbingan serta motivasi dan nasihat yang selalu diberikan dengan kesabaran dan keikhlasan kepada penulis selama penelitian.
3. Bapak Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc. selaku Pembahas atas segala arahan, koreksi, saran, dan kritik yang bermanfaat kepada penulis.
4. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam FMIPA Universitas Lampung.
5. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

6. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, pengalaman, dan motivasi selama penulis menjalankan pendidikan di kampus.
7. Seluruh staf administrasi dan pegawai di lingkungan Jurusan Kimia, Dekanat FMIPA, serta Universitas Lampung yang senantiasa membantu dalam sistem akademik, perkuliahan, penelitian, serta penyusunan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
8. Farid Khalilov, *my special someone who always accompanying me when i do my research and always give the best motivation to finish my study.*
9. Tim penelitianku PY'19 yaitu Virginia Nuh Reza Amanda, Neng Wiwit Liawati, dan Ayu Ranja Saputri yang telah memberikan dukungan, semangat, motivasi, nasihat, dan saran untuk menyelesaikan penelitian. Terima kasih untuk segala kebersamaan selama proses penelitian yang telah kita lakukan bersama.
10. Sahabatku Reza Fadhila, Qonita Putri Hafidhoh, dan Sri Riski Mulya Wulanda yang telah memberikan segala bentuk dukungan dan semangat dalam menyelesaikan tugas akhir.
11. Sahabat SMA-ku Atmina Jovanka, Dinda Adya Demona dan Kezia Dameria yang memberikan semangat, motivasi, dan saran.
12. Sahabat SMP-ku Ulan Karina, Nurhaliza, Lusinta, Asyaura Zamila, Asshara Nurlita yang selalu mendoakan dan memberikan semangat.
13. Rahaf Makhmoud Taher Khader, *my long distance bestfriend who always cheer me up and stood me up everytime.*
14. Kakak dan adik seperbimbingan yaitu Kak Eka, Kak Lili, Kak Dwi dan Kak Luthfi, dan Kak Hendri atas segala ilmu, semangat, motivasi, dan saran.
15. Seluruh mahasiswa Jurusan Kimia angkatan 2019, terima kasih atas kebersamaan yang telah dilalui dalam kehidupan perkuliahan. Semoga kita semua diberikan kemudahan dalam segala urusan dan selamat berkarir.
16. Semua pihak yang terlibat membantu dan mendoakan penulis secara tulus dalam proses penyelesaian skripsi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini jauh dari kata sempurna, besar harapan penulis semoga skripsi ini dapat berguna bagi kita semua serta dapat memberikan saran yang membangun bagi penulis untuk lebih baik kedepannya.

Bandar Lampung, 03 Agustus 2023

Penulis

Diah Indah Pratiwi

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Enzim.....	4
2.1.1 Sifat-sifat enzim	5
2.1.2 Klasifikasi Enzim	5
2.1.3 Aktivitas Enzimatik.....	7
2.1.4 Teori Pembentukan Enzim.....	10
2.2 Enzim Amilase	12
2.3 <i>A. fumigatus</i>	14
2.4 Isolasi dan Pemurnian Enzim	15
2.4.1 Sentrifugasi	15
2.4.2 Fraksinasi Menggunakan Ammonium Sulfat.....	15
2.4.3 Dialisis.....	16
2.5 Pengujian Aktivitas α -Amilase dengan Metode Fuwa	16
2.6 Pengujian Aktivitas α -Amilase dengan Metode Mandels	16
2.7 Penentuan Kadar Protein α -Amilase dengan Metode Lowry	17
2.8 Kinetika Reaksi Enzim	17
2.9 Stabilitas Enzim.....	19
2.9.1 Stabilitas Termal Enzim.....	19
2.9.2 Stabilitas pH Enzim.....	19
2.10 Zat Aditif	20
2.11 Xilitol.....	20

III. METODE PENELITIAN	22
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.2 Alat dan Bahan	22
3.3 Prosedur Penelitian.....	23
3.3.1. Pembiakan Isolat <i>A. fumigatus</i>	23
3.3.2. Pembuatan Media Inokulum dan Media Fermentasi, Inokulasi <i>A. fumigatus</i> dan Produksi Enzim α -Amilase.....	24
3.3.3. Isolasi Enzim α -Amilase	25
3.3.4. Pemurnian Enzim α -Amilase	25
3.3.5. Penentuan Aktivitas Enzim α -Amilase	27
3.3.6. Penentuan Kadar Protein Enzim α Amilase dengan Metode Lowry	29
3.3.7. Penambahan Xilitol pada Enzim α -Amilase	30
3.3.8. Karakterisasi Enzim α -Amilase	30
3.3.9. Penentuan Waktu Paruh ($t_{1/2}$), Konstanta Laju Inaktivasi (k_i), dan Perubahan Energi Akibat Denaturasi (ΔG_i)	31
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
4.1 Produksi dan Isolasi Enzim α -Amilase dari <i>A. fumigatus</i>	33
4.2 Pemurnian Enzim α -Amilase dari <i>A. fumigatus</i>	33
4.2.1 Fraksinasi dengan Ammonium Sulfat $[(NH_4)_2SO_4]$	34
4.2.2 Dialisis.....	36
4.3 Karakterisasi Enzim α -Amilase Hasil Pemurnian dan Setelah Penambahan Xilitol.....	37
4.3.1 Penentuan pH Optimum Enzim α -Amilase Hasil Pemurnian dan Setelah Penambahan Xilitol	37
4.3.2 Penentuan Suhu Optimum Enzim α -Amilase Hasil Pemurnian dan Setelah Penambahan Xilitol	38
4.3.3 Penentuan Nilai K_M dan V_{maks} Enzim α -Amilase Hasil Pemurnian dan Setelah Penambahan Xilitol	40
4.3.4 Uji Stabilitas Termal Enzim α -Amilase Hasil Pemurnian dan Setelah Penambahan Xilitol	41
4.4 Penentuan Konstanta Laju Inaktivasi (k_i), Waktu Paruh ($t_{1/2}$) dan Perubahan Energi Akibat Denaturasi (ΔG_i) Enzim α -Amilase Hasil Pemurnian dan Setelah Penambahan Xilitol	43
4.4.1 Konstanta Laju Inaktivasi (k_i).....	44
4.4.2 Waktu Paruh ($t_{1/2}$).....	44
4.4.3 Perubahan Energi Akibat Denaturasi (ΔG_i)	45
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	46
5.1 Simpulan.....	46
5.2 Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Klasifikasi enzim berdasarkan spesifisitas reaksi dan substrat enzim	6
2. Aktivitas enzim α -amilase dalam ekstrak kasar enzim, fraksi 15-85% dan dialisis	36
3. Aktivitas enzim α -amilase dalam ekstrak kasar enzim, fraksi 15-85% dan dialisis	43
4. Hubungan antara kejenuhan ammonium sulfat (0-100)% dengan aktivitas spesifik enzim α -amilase dari <i>A. fumigatus</i>	55
5. Hubungan antara kejenuhan ammonium sulfat 0-15% dan 15-85% dengan aktivitas unit enzim α -amilase dari <i>A. fumigatus</i>	55
6. Hubungan antara pH dan aktivitas unit enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol.....	56
7. Hubungan antara pH dan aktivitas sisa enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol.....	56
8. Hubungan antara suhu dan aktivitas unit enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol.....	57
9. Hubungan antara suhu dan aktivitas sisa enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol.....	57
10. Data penentuan K_M dan V_{maks} enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol	58
11. Hubungan antara waktu inkubasi dan aktivitas unit enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol	59
12. Hubungan antara waktu inkubasi dan aktivitas sisa enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol	59
13. Data $\ln(E_i/E_0)$ untuk penentuan k_i (konstanta laju inaktivasi termal) enzim α -amilase hasil pemurnian selama inaktivasi termal 50 °C.....	60

14. Data $\ln(E_i/E_0)$ untuk penentuan k_i (konstanta laju inaktivasi termal) enzim α -amilase setelah penambahan xilitol 0,5; 1; dan 1,5 M selama inaktivasi termal 60 °C.....	60
15. Absorbansi BSA pada berbagai konsentrasi	65
16. Absorbansi Glukosa pada berbagai konsentrasi.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Hubungan aktivitas enzim terhadap suhu.....	8
2. Hubungan aktivitas enzim terhadap pH.....	8
3. Hubungan konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi	9
4. Teori <i>lock and key</i> (Poshyvailo-Strube, 2015).....	10
5. Teori ketepatan terinduksi enzim.	11
6. Struktur kristal dari α -amilase (Ochiai <i>et al.</i> , 2014).....	13
7. <i>A. fumigatus</i> (Samson dkk., 2007).....	14
8. Diagram Lineweaver-Burk (Murzin and Salmi, 2016).....	18
9. Struktur xilitol	21
10. Skema fraksinasi	26
11. Diagram alir penelitian.....	32
12. Hubungan antara tingkat kejenuhan ammonium sulfat (0-100)% dengan aktivitas spesifik enzim α -amilase dari <i>A. fumigatus</i>	34
13. Hubungan antara tingkat kejenuhan ammonium sulfat terhadap aktivitas enzim α -amilase dari <i>A. fumigatus</i> pada fraksi 0-15% dan 15-85%.....	35
14. Hubungan antara pH optimum terhadap aktivitas sisa (%) enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol 0,5; 1; dan 1,5 M.....	37
15. Hubungan antara suhu optimum dan aktivitas sisa enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol 0,5; 1; dan 1,5 M	39
16. Grafik Lineweaver-Burk enzim hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol 0,5; 1; dan 1,5 M.	40
17. Hubungan antara waktu inkubasi dan aktivitas sisa enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol 0,5; 1; dan 1,5 M	42

18. Hubungan antara Ln enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol 0,5; 1; dan 1,5 M untuk menentukan nilai k_i , waktu paruh dan nilai ΔG_i	44
19. Kurva standar BSA.....	65
20. Kurva standar Glukosa.....	67

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Aktivitas enzim α -amilase pada berbagai tingkat kejenuhan ammonium sulfat.....	55
2. Aktivitas unit dan aktivitas sisa enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol dari berbagai variasi pH	56
3. Aktivitas unit dan aktivitas sisa enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol dari berbagai variasi suhu.....	57
4. Data penentuan K_M dan V_{maks} enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol.....	58
5. Aktivitas unit dan aktivitas sisa enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol dari berbagai variasi waktu inkubasi	59
6. Penentuan nilai k_i enzim α -amilase hasil pemurnian dan setelah penambahan xilitol	60
7. Perhitungan ΔG_i dan $t_{1/2}$ enzim α -amilase hasil pemurnian.....	61
8. Perhitungan ΔG_i dan $t_{1/2}$ enzim α -amilase setelah penambahan xilitol 0,5 M.....	62
9. Perhitungan ΔG_i dan $t_{1/2}$ enzim α -amilase setelah penambahan xilitol 1 M.....	63
10. Perhitungan ΔG_i dan $t_{1/2}$ enzim α -amilase setelah penambahan xilitol 1,5 M.....	64
11. Kurva standar BSA (<i>Bovine Serum Albumin</i>).....	65
12. Persamaan untuk perhitungan kadar protein dengan metode Lowry	67
13. Kurva standar Glukosa.....	68

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim merupakan biokatalisator yang dapat mengurangi dampak pencemaran dan pemborosan energi karena reaksinya diketahui tidak membutuhkan energi tinggi, bersifat spesifik, dan tidak beracun (Aunstrup *et al.*, 1979). Saat ini tercatat lebih dari 4000 enzim telah diisolasi, akan tetapi hanya 200 enzim mikrobial yang diproduksi secara komersial. Rata-rata enzim yang diproduksi secara komersial merupakan golongan enzim hidrolase seperti amilase, protease, paktinase, dan selulase (Li *et al.*, 2012).

Enzim α -amilase merupakan salah satu jenis enzim yang banyak digunakan dalam bidang industri dan memiliki aplikasi yang sangat luas (Irdawati dkk., 2015) seperti industri pangan, industri tekstil, industri farmasi, industri pakan hewan, dan masih banyak lagi. Enzim ini juga mampu mengkatalisis hidrolisis dari alfa-1,4-glikosidik polisakarida untuk menghasilkan dekstrin, oligosakarida, maltosa, dan D-glukosa (Ariandi, 2016).

Enzim α -amilase dapat dihasilkan dengan cara mengisolasi dari berbagai jenis mikroorganisme baik bakteri maupun jamur. Mikroorganisme merupakan sumber enzim yang paling umum digunakan dibandingkan dengan tanaman dan hewan. Mikroorganisme lebih menguntungkan sebagai sumber enzim karena pertumbuhannya yang relatif cepat, dapat tumbuh pada substrat yang cenderung murah, hasilnya lebih mudah ditingkatkan melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik, serta dapat memproduksi enzim dalam kondisi ekstrim (Akhdiya, 2018). Jamur dalam kelompok *Aspergillus*, khususnya memiliki kemampuan dalam proses metabolik perubahan senyawa-senyawa

terutama dalam memproduksi protein dengan baik, sehingga dapat memudahkan proses isolasi dan pemurniannya (Irdawati dkk., 2015). *A. fumigatus* merupakan mikroorganisme yang dapat digunakan dengan baik dalam bidang industri untuk menghasilkan enzim α -amilase yang selanjutnya akan digunakan sebagai katalis industri (Evstatieva *et al.*, 2010).

Pada proses industri diperlukan enzim yang bekerja secara optimum pada suhu yang tinggi serta dapat bekerja pada pH asam maupun basa (Vieille *and* Gregory, 1996). Kondisi tersebut tidak dimiliki oleh enzim, karena umumnya enzim hanya dapat bekerja pada kondisi biasa dan akan mengalami denaturasi serta kehilangan aktivitasnya pada suhu dan pH yang ekstrim (Goddette *et al.*, 1993). Selain itu, enzim memiliki keterbatasan stabilitas enzim pada penyimpanan jangka panjang dan dapat menyebabkan menurunnya fungsi enzim (Lestari dkk., 2011). Enzim yang tidak stabil akan tidak efektif dalam memecahkan substrat dikarenakan penurunan aktivitas (Reddy *et al.*, 2004). Sehingga enzim yang stabil sangat diperlukan agar dapat digunakan dengan efektifitas yang tinggi.

Adapun cara untuk mempertahankan stabilitas enzim termasuk enzim α -amilase adalah dengan teknik imobilisasi dan modifikasi kimia. Selain itu cara yang dapat diterapkan adalah dengan melalui perlakuan penambahan aditif. Menurut Muchtadi dkk (1992), beberapa bahan aditif seperti gliserol, manitol dan sorbitol diketahui dapat mempertahankan stabilitas enzim, meskipun setiap bahan aditif memiliki kemampuan yang berbeda-beda. Walaupun begitu, zat aditif tertentu mempunyai efek denaturasi yang kuat pada batas konsentrasi tertentu (Longo *and* Combes, 1999).

Poliol diketahui mampu mempertahankan kebasahan larutan enzim dan dapat mereduksi aktivitas air, mampu menekan hidrasi protein dan membuat konformasi protein lebih kaku, serta mampu menstabilkan enzim dalam stabilitas enzim (Matsumoto *et al.*, 1997). Polioliol yang baik mengandung gugus hidroksil sebagai gugus fungsional serta bersifat larut dalam air dan dapat mencegah terbukanya rantai polipeptida (Miyake *et al.*, 1999) sehingga mampu menstabilkan enzim α -amilase selama masa penyimpanan. Xilitol termasuk dalam golongan polioliol yang

dapat menimbulkan hidrasi air sehingga konformasi protein terjaga dari kemungkinan *unfolding* (membuka), sehingga xilitol dapat digunakan untuk meningkatkan kestabilan enzim.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Bustos *et al* (1996) tentang peningkatan stabilitas termal enzim tripsin dengan penambaham gliserol, xilitol, sorbitol, maltodekstrin dan sukrosa. Dari hasil penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa peningkatan stabilitas enzim ditandai dengan peningkatan waktu paruh. Pada penelitian ini dilakukan isolasi, pemurnian dan penambahan xilitol ke dalam enzim α -amilase yang diisolasi dari *A. fumigatus* dan diharapkan akan diperoleh peningkatan stabilitas enzim.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Memperoleh enzim α -amilase dari *A. fumigatus* dengan kondisi yang optimum.
2. Meningkatkan kestabilan enzim α -amilase dengan penambahan xilitol.
3. Mengkarakterisasi enzim α -amilase sebelum dan sesudah penambahan xilitol.

1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Dapat mengetahui kondisi optimum enzim α -amilase dari *A. fumigatus*.
2. Mendapatkan informasi mengenai pengaruh penambahan xilitol terhadap kestabilan enzim α -amilase.
3. Dapat mengetahui perbedaan hasil karakterisasi enzim sebelum dan sesudah penambahan xilitol.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Enzim

Enzim merupakan protein yang bertindak sebagai biokatalisator pada reaksi kimia di dalam sistem metabolisme tubuh (Prihatini dan Dewi, 2021) dan umumnya bekerja pada kondisi fisiologis, bekerja selektif dan spesifik, serta tidak membutuhkan energi yang tinggi (Li *et al.*, 2012). Dalam pemanfaatannya enzim telah dimanfaatkan secara luas pada berbagai industri produk pertanian, kimia dan industri obat-obatan (Akhdiya, 2018).

Enzim tersusun atas asam amino dan umumnya berukuran lebih besar daripada substratnya, namun hanya daerah tertentu dari molekul enzim tersebut yang berikatan dengan substrat, yaitu bagian yang dinamakan sisi aktif (Prasetya, 2011). Suatu enzim dapat mempercepat reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat dibandingkan ketika reaksi tersebut tidak menggunakan katalis. Seperti katalis lainnya, enzim juga menurunkan atau memperkecil energi aktivasi suatu reaksi kimia, yaitu energi yang diperlukan untuk mencapai status transisi (suatu bentuk dengan tingkat energi tertinggi) dalam suatu reaksi kimiawi, serta mampu mempercepat reaksi kimiawi secara spesifik tanpa pembentukan hasil samping dan bekerja pada larutan dengan keadaan suhu dan pH tertentu (Poedjiadi dan Supriyanti, 2009).

Enzim dapat diperoleh dari makhluk hidup seperti hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme. Contohnya seperti enzim protease yang diperoleh dari tumbuhan seperti nanas dan pepaya, lisozim yang diperoleh dari putih telur. Walaupun enzim dapat diperoleh dari hewan dan tumbuhan, tetapi

pemanfaatan enzim yang berasal dari mikroorganisme lebih banyak diminati, karena mudahnya produksi enzim dalam skala yang besar, proses produksi dapat dikontrol, waktu yang dibutuhkan untuk produksi singkat, biaya yang dikeluarkan relatif rendah serta kemungkinan terkontaminasi dengan senyawa lain sangat kecil (Thomas, 1989).

2.1.1 Sifat-sifat enzim

Enzim merupakan suatu polimer biologis yang mengkatalisis reaksi kimia yang bersifat esensial untuk merombak nutrisi agar mampu menghasilkan energi dan *chemical building blocks* (Wahyuni, 2017). Aktivitas katalitik enzim bergantung pada integritas strukturnya sebagai protein, walaupun ada beberapa senyawa yang dapat bertindak sebagai katalis. Adapun sifat-sifat khas yang dimiliki enzim adalah sebagai berikut,

1. Enzim dapat meningkatkan laju reaksi pada kondisi fisiologik dari tekanan, suhu, pH.
2. Enzim tidak dapat diubah oleh reaksi yang dikatalisnya.
3. Enzim tidak dapat mengubah kedudukan normal dari keseimbangan kimia.
4. Enzim dapat bekerja secara selektif dan spesifik.
5. Enzim tidak memerlukan energi yang besar.
6. Dapat digunakan secara berulang melalui proses amobilisasi.
7. Bekerja pada pH dan suhu yang tidak terlalu ekstrim.

2.1.2 Klasifikasi Enzim

Terdapat lebih dari 4000 jenis enzim yang telah ditemukan, enzim-enzim tersebut kemudian diklasifikasikan kedalam beberapa kelompok. Sistem klasifikasi dari enzim – enzim tersebut dapat ditentukan berdasarkan spesifisitas reaksi dan substrat dari enzim tersebut, serta berdasarkan cara terbentuknya dan tempat kerjanya.

a) Berdasarkan spesifisitas reaksi dan substrat dari enzim.

Berdasarkan spesifisitas reaksi dan substrat dari enzim, enzim dikelompokkan menjadi 6 kelas utama, di mana masing-masing enzim dimasukkan ke dalam *Enzyme Catalogue*. (Wahyuni, 2017). Klasifikasi enzim berdasarkan spesifisitas reaksi dan substrat dari enzim yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi enzim berdasarkan spesifisitas reaksi dan substrat enzim (Wahyuni, 2017)

Kelas	Nama Enzim	Tipe Reaksi	Contoh
1	Oksidoreduktase	Oksidasi-reduksi (transfer elektron).	$A + B \rightarrow A + B$ Laktat Dehidrogenase (LDH), Alkohol dehidrogenase.
2	Transferase	Transfer gugus fungsional dari suatu molekul ke molekul lain.	$A-B + C \rightarrow A + B-C$ Nukleosida Monofosfat kinase (NMP).
3	Hidrolase	Reaksi hidrolisis (transfer gugus fungsional dari suatu molekul ke molekul air).	$A-B + H_2O \rightarrow A-H + B-OH$ Kimotripsin, tripsin.
4	Liase	Penambahan atau pengurangan gugus untuk membentuk ikatan rangkap (pemutusan ikatan C-C, C-O, C-N dan ikatan lain untuk membentuk ikatan ganda).	$A-B \rightarrow A=B + \begin{array}{c} X-Y \\ \quad \\ X \quad Y \end{array}$ Fumarase, piruvat dekarboksilase.
5	Isomerase	Isomerisasi (perubahan struktur dan geometrik dalam molekul tunggal/substrat dengan tidak merubah komposisi substrat).	$A-B \rightarrow \begin{array}{c} A-B \\ \quad \\ X \quad Y \\ X \quad Y \end{array}$ Triose fosfat isomerase, maleat isomerase.
6	Ligase (Sintase)	Ligasi 2 substrat yang diikuti oleh hidrolisis gugus pirofosfat atau nukleosida trifosfat yang sejenis.	$A + B \rightarrow A-B$ <i>Aminoacyl-tRNA sintetase</i> , piruvat karboksilase.

- b) Berdasarkan cara terbentuknya, enzim dibedakan menjadi dua yaitu;
- 1) Enzim konstitutif
Enzim konstitutif merupakan enzim yang jumlahnya dipengaruhi oleh kadar dari substratnya. Contohnya yaitu enzim amilase.
 - 2) Enzim adaptif
Enzim adaptif merupakan enzim yang pembentukannya dirangsang oleh adanya substrat. Contohnya yaitu enzim β -galaktosidase yang dihasilkan oleh bakteri *E.coli* dan ditumbuhkan dalam medium yang terdapat kandungan laktosa (Lehninger, 2008).
- c) Berdasarkan tempat bekerjanya enzim, dibedakan menjadi dua yaitu;
- 1) Endoenzim
Endoenzim biasa disebut juga sebagai enzim intraseluler, yang dihasilkan di dalam sel pada bagian membran sitoplasma dan melakukan metabolisme di dalam sel.
 - 2) Eksoenzim
Eksoenzim merupakan enzim ekstraseluler yang dihasilkan di luar sel kemudian dikeluarkan melalui dinding sel dan bereaksi memecah bahan organik tanpa tergantung pada sel yang melepaskannya (Soedigdo, 1988).

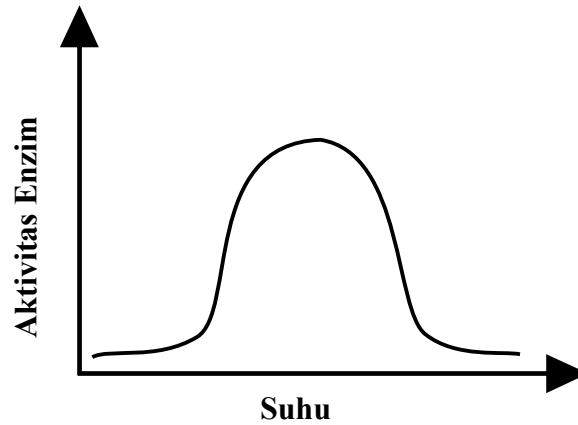
2.1.3 Aktivitas Enzimatik

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain ;

- a) Suhu

Pada umumnya semakin tinggi suhu, maka akan semakin naik laju reaksinya, baik yang dikatalis oleh enzim maupun yang tidak dikatalis oleh enzim. Akan tetapi apabila suhu semakin meningkat, proses inaktivasi enzim juga akan semakin meningkat. Pada suhu yang terlalu tinggi, enzim akan mengalami pemecahan atau perusakan dengan cepat, akan tetapi apabila suhu semakin tinggi (dalam batas tertentu) maka enzim akan semakin aktif bereaksi.

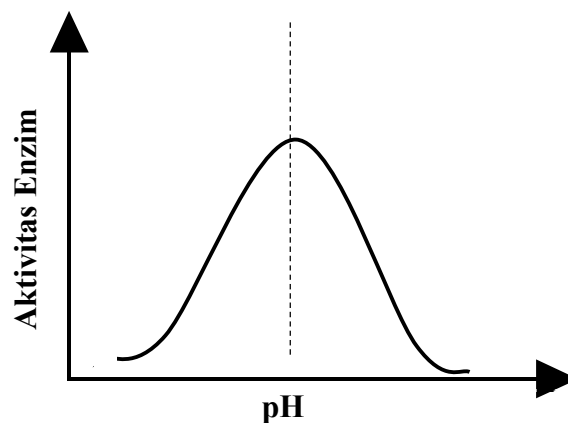
Sedangkan, pada suhu rendah, laju inaktivasi enzim akan melambat dan menjadi sangat kecil (Winarno, 1995). Berikut merupakan grafik hubungan aktivitas enzim terhadap suhu yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hubungan aktivitas enzim terhadap suhu

b) pH

Derajat keasaman (pH) menjadi faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim (Purkan dkk., 2016). Enzim menunjukkan aktivitas maksimum pada suatu kisaran pH yang disebut pH optimum, yang umumnya antara 4,5 sampai 8,0 (Winarno, 1995). pH optimum tidak perlu sama dengan pH lingkungan normalnya. Pada pH optimum, struktur tiga dimensi enzim paling kondusif untuk mengikat substrat. Berikut merupakan grafik hubungan aktivitas enzim terhadap pH yang ditunjukkan pada Gambar 2.



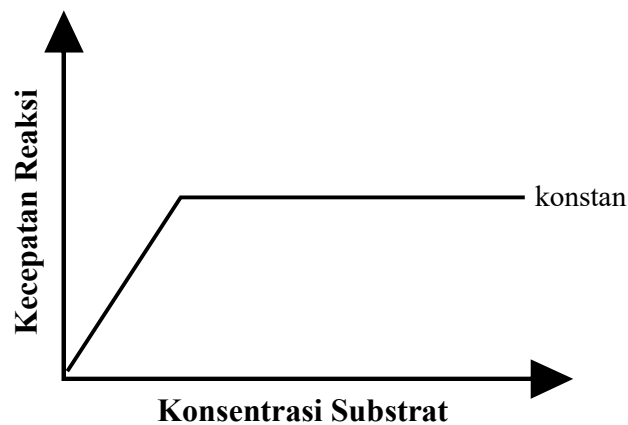
Gambar 2. Hubungan aktivitas enzim terhadap pH

c) Konsentrasi enzim

Kecepatan suatu reaksi dapat dipengaruhi oleh konsentrasi dari enzim yang digunakan sebagai katalisator. Kecepatan reaksi akan semakin bertambah seiring dengan penambahan konsentrasi enzim hingga batas tertentu (Poedjiadi dan Supriyanti, 2009).

d) Konsentrasi substrat

Aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi substrat yang digunakan, maka semakin tinggi aktivitas enzim atau semakin tinggi kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim tersebut. Akan tetapi pada titik tertentu, yaitu kecepatan maksimum (V_{maks}), penambahan konsentrasi substrat dalam jumlah tertentu tidak akan dapat meningkatkan kecepatan reaksi enzim, melainkan dapat menurunkan aktivitas enzim atau kecepatan reaksi (Noviendri dkk., 2008). Berikut merupakan grafik hubungan antara konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi enzimatik yang ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Hubungan konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi

e) Aktivator dan inhibitor

Aktivitas enzim diperbesar dengan adanya aktivator yang berfungsi untuk mengaktifkan enzim. Aktivator enzim dapat berupa logam ataupun non logam yang merupakan zat non spesifik yang mampu menguatkan proses enzimatik. Inhibitor merupakan faktor penghambat kerja enzim. Inhibitor kompetitif merupakan inhibitor yang bersaing dengan substrat dalam berikatan dengan

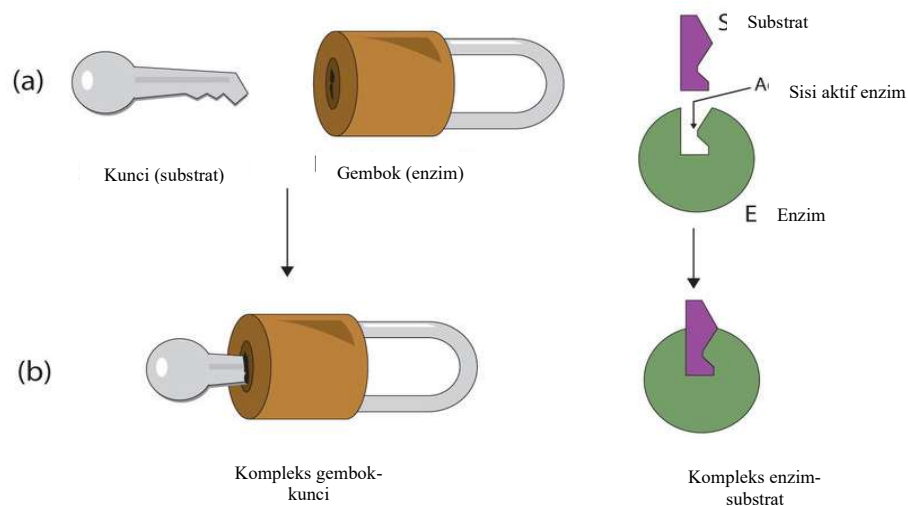
enzim. Sedangkan, inhibitor non-kompetitif berikatan pada sisi enzim dimana substrat enzim tidak berikatan, mengubah konformasi enzim sehingga mengakibatkan inaktivasi balik sisi katalitik (Lehninger, 2008).

2.1.4 Teori Pembentukan Enzim

Enzim mampu mengkatalisis suatu reaksi dengan cara meningkatkan laju reaksi, yaitu dengan menurunkan energi aktivasi dari suatu reaksi. Penurunan energi aktivasi ini dapat dilakukan dengan membentuk kompleks dengan substrat hingga dihasilkan produk, lalu enzim dilepaskan agar dapat membentuk kompleks yang baru dengan substrat yang lain. Adapun mekanisme pembentukan ini dijelaskan dalam dua teori, yaitu teori gembok dan kunci (*lock and key theory*) serta teori ketepatan terinduksi (*induced fit theory*).

a. Teori gembok dan kunci (*lock and key theory*)

Pada teori ini, menjelaskan bahwa enzim dan substrat bergabung membentuk kompleks seperti sebuah kunci dan gembok. Berikut merupakan ilustrasi dari teori gembok kunci yang ditunjukkan pada Gambar 4.



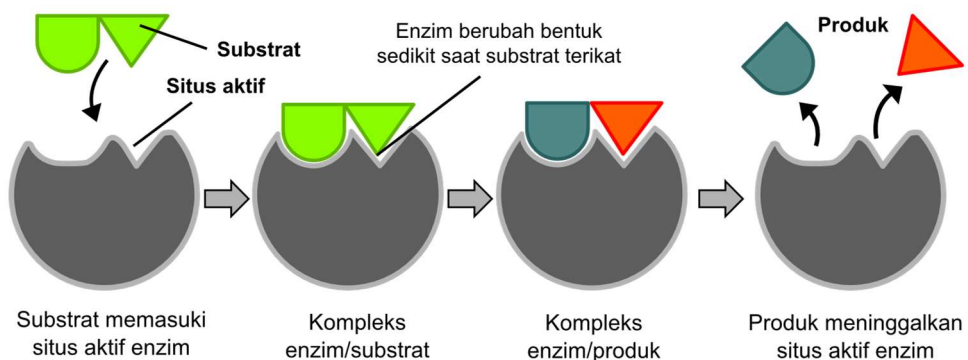
Gambar 4. Teori *lock and key* (Poshyvailo-Strube, 2015).

Substrat bereaksi dengan energi aktivasi yang rendah di dalam kompleks, lalu kompleks terurai dan melepaskan produk dan juga membebaskan enzim. Menurut teori ini, enzim tidak akan menerima substrat yang strukturnya berbeda dengan sifat katalitiknya.

b. Teori ketepatan terinduksi (*induced fit theory*)

Teori ketepatan terinduksi pertama dikenalkan oleh Koshland pada tahun 1958 untuk menjelaskan perubahan konformasi protein dalam proses pengikatan. Teori ini menjelaskan bahwa suatu enzim ketika berikatan dengan substratnya dapat mengoptimalkan ikatan melalui interaksi fisik untuk membentuk struktur kompleks akhir (Yan *and* Zou, 2017).

Berbeda dengan teori gembok dan kunci, pada model ini sisi aktif enzim bersifat fleksibel, yaitu dapat berubah bentuk sesuai dengan bentuk substratnya. Pada saat substrat memasuki sisi aktif enzim, bentuk sisi aktif enzim akan langsung termodifikasi membentuk kompleks yang sesuai, dan ketika produk sudah terlepas dari kompleks, enzim akan kembali ke bentuk awal agar dapat bereaksi dengan substrat yang lain. Berikut merupakan ilustrasi teori ketepatan induksi yang ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Teori ketepatan terinduksi enzim.

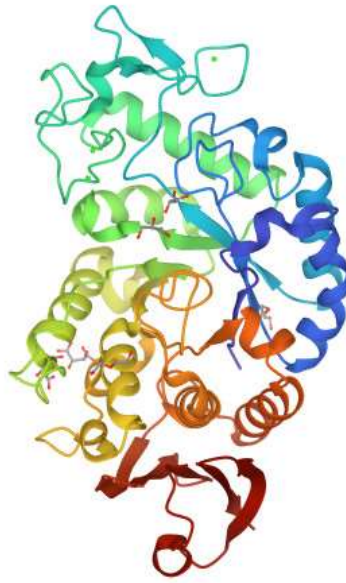
2.2 Enzim Amilase

Enzim amilase merupakan enzim karbohidrase yang dapat menguraikan amilum menjadi maltosa (Dwidjoseputro, 2005). Enzim amilase mampu mengkatalisis proses hidrolisis ikatan (α -1,4) glikosida pada senyawa polimer karbohidrat dengan rumus umum $(C_6H_{10}O_5)_n$. Enzim ini dapat digunakan untuk mengkonversi bahan-bahan berpati menjadi monomer sederhana dalam bentuk glukosa, dektrosa, fruktosa ataupun maltosa (de Carvalho *et al.*, 2008). Enzim amilase terbagi menjadi tiga macam enzim antara lain, enzim α -amilase, enzim β -amilase dan γ -amilase (glukoamilase).

a. Enzim α -amilase

Enzim α -amilase merupakan enzim yang menghidrolisis pati secara acak dari tengah atau dari bagian molekul, karena itu disebut juga sebagai enzim endo amilase. Enzim α -amilase dapat dihasilkan dengan mengisolasi dari berbagai jenis mikroorganisme baik bakteri maupun jamur (Fogarty and Kelly, 1979). Enzim α -amilase (α -1,4 glukon-4-glukan hidrolase) dapat diperoleh dari *malt* (barley), ludah manusia, pankreas, dan diisolasi dari *Aspergillus oryzae* dan *Bacillus subtilis* (pada suhu 70 – 90 °C dan pH 6-10), *Bacillus licheniformis* (pada suhu 60 °C dan pH 6) (Winarno, 1992).

Golongan α -amilase yang tahan pada suhu tinggi umumnya digunakan pada proses likuifikasi, sedangkan enzim yang bersifat labil biasanya digunakan dalam proses sakarifikasi pada pembuatan gula cair (Rosmimik dkk., 2001). Berikut merupakan struktur kristal dari enzim α -amilase yang ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur kristal dari α -amilase (Ochiai *et al.*, 2014)

b. Enzim β -amilase

Enzim β -amilase menghasilkan maltosa dari pati dengan menghidrolisis ikatan glikan- α -1,4 (Suriya *et al.*, 2016). Enzim ini merupakan bentuk lain dari amilase yang disintesis oleh bakteri, jamur dan tanaman. Enzim ini mengkatalisis hidrolisis ikatan glikosidik kedua α -(1,4), dan bekerja membentuk ujung *non reducing*, lalu memecah maltosa menjadi dua unit glukosa dalam satu waktu (Ompusunggu dkk., 2013).

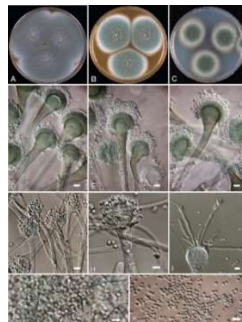
c. Glukoamilase

Glukoamilase atau dikenal sebagai amiloglukosidase mampu memecah ikatan glikosidik α -1,4 dan juga ikatan glikosidik α -1,6 menghasilkan glukosa (Suriya *et al.*, 2016). Enzim ini dapat diproduksi dari jamur *Aspergillus spp*, *Saccharomyces diasticus*, dan bakteri *Clostridium acetobutylicum* (Reilly, 2003). Glukoamilase ini biasa ditemukan pada hati. Dalam pengaplikasiannya, digunakan untuk pembuatan sirup glukosa dari maltodektrin yang diproduksi oleh α -amilase (Rahmawati dan Sutrisno, 2015).

2.3 *A. fumigatus*

Aspergillus merupakan jamur yang dapat hidup pada media yang memiliki derajat keasaman dan kandungan gula yang tinggi (Praja dan Yudhana, 2017). Jamur ini memiliki sifat kosmopolitan, memiliki spora berukuran sangat kecil dan ringan dan mudah menyebar di udara sehingga memiliki peran besar dalam mencemari bahan-bahan yang lain (Alvarez *et al.*, 2010).

A. fumigatus merupakan jamur saprofit yang dapat beradaptasi dengan baik, mampu menghasilkan spora kecil di udara dalam jumlah besar, serta dapat bertahan hidup dalam berbagai kondisi lingkungan, sehingga jamur sangat mudah ditemukan di tanah dan bahan-bahan organik yang membusuk (Abad *et al.*, 2010). Pada umumnya, jamur ini dianggap sebagai spesies tunggal yang homogen, dan jamur ini memiliki *strain* yang dapat bervariasi sebagai karakteristik budaya mereka. Seperti kebanyakan spesies *Aspergillus*, *A. fumigatus* bereproduksi secara aseksual (Steinbach and Latgé, 2009). Berikut merupakan jamur *A. fumigatus* yang ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. *A. fumigatus* (Samson dkk., 2007)

Klasifikasi *A. fumigatus*

Kingdom : Fungi
 Filum : Ascomycota
 Kelas : Eurotiomycetes
 Ordo : Eurotiales
 Famili : Trichomaceae
 Genus : *Aspergillus*
 Spesies : *Aspergillus fumigatus*

2.4 Isolasi dan Pemurnian Enzim

Isolasi dan pemurnian enzim adalah suatu proses yang melibatkan beberapa tahap, yaitu ekstraksi, pengendapan protein, sentrifus, dialisis dan pemisahan kromatografi kolom (Brockerhoff *and* Jensen, 1974). Berikut merupakan metode-metode isolasi dan pemurnian enzim.

2.4.1 Sentrifugasi

Sentrifugasi merupakan langkah pertama pada hampir semua prosedur fraksinasi atau penguraian sel yang digunakan untuk memisahkan endapan dari suatu suspensi dengan ukuran yang jauh berbeda (Brassard *et al.*, 2018). Sentrifugasi merupakan metode isolasi enzim dengan tujuan untuk memisahkan larutan berdasarkan berat molekul protein penyusun organel sel. Pada proses sentrifugasi akan dihasilkan ekstrak kasar enzim yang berada dibagian atas (supernatan) dan organel-organel sel yang mengendap dibagian bawah (Tazkiah dkk., 2019).

2.4.2 Fraksinasi menggunakan Ammonium Sulfat

Pemurnian enzim menggunakan ammonium sulfat bertujuan untuk memisahkan enzim dari protein lain dengan cara mengendapkan protein (enzim) dengan penambahan garam ammonium sulfat (Yandri dkk., 2020). Garam yang paling umum digunakan untuk pemurnian enzim adalah garam yang dapat meningkatkan hidrasi daerah hidrofil dan dehidrasi daerah hidrofob pada protein (Scopes, 1982).

Dengan penambahan ammonium sulfat, ion-ion garam akan bersaing dengan protein untuk berikatan dengan molekul air sehingga protein-protein enzim banyak yang terendapkan (*salting out*). Penggunaan garam ammonium sulfat sebagai *salting out* adalah karena garam ini mampu merusak mantel air yang berada disekitar enzim (protein) sehingga protein akan membentuk koagulan. Dan ammonium sulfat memiliki tingkat kelarutan yang cukup tinggi serta tidak mengandung zat-zat yang toksik terhadap enzim (Lehninger, 2008).

2.4.3 Dialisis

Dialisis merupakan suatu metode pemurnian enzim yang bertujuan untuk menghilangkan kadar garam ammonium sulfat yang ditambahkan pada proses fraksinasi. Dialisis dilakukan dengan menggunakan membran selofan yang dapat dilalui oleh partikel-partikel kecil, seperti ion-ion garam (Tazkiah dkk., 2019). Proses dialisis dilakukan dengan merendam membran selofan yang telah diisi larutan enzim hasil fraksi dengan buffer fosfat pH 6 dengan konsentrasi 0,01 M selama 24 jam, sambil diaduk dengan *magnetic stirrer* pada suhu 4–8 °C. Larutan buffer fosfat diganti setiap 4–6 jam sekali, agar ion-ion garam yang sudah melewati membran selofan tidak kembali masuk ke dalam membran (Fessenden and Fessenden, 1994).

2.5 Pengujian Aktivitas α -amilase dengan Metode Fuwa

Uji aktivitas enzim α -amilase dengan metode Fuwa didasarkan pada pengurangan jumlah substrat pati yang terhidrolisis. Pada uji ini, akan dihasilkan warna biru setelah dilakukan penambahan iodine, warna ini akan menyerap cahaya monokromatis pada λ_{maks} 600 nm. Pengujian aktivitas enzim dengan metode Fuwa merupakan uji yang paling spesifik untuk mengidentifikasi aktivitas enzim amilase, dikarenakan singkatnya waktu reaksi yang dibutuhkan yaitu 10 menit inkubasi dan pati sebagai substrat. Satu unit/mL aktivitas α -amilase adalah jumlah α -amilase yang menyebabkan penurunan intensitas warna biru kompleks iodine-amilosa sebesar 10% pada kondisi uji (Fuwa, 1954).

2.6 Pengujian Aktivitas α -amilase dengan Metode Mandels

Pengujian aktivitas enzim α -amilase dengan metode Mandels didasarkan pada pembentukan glukosa dari substrat pati oleh enzim amilase yang akan dideteksi dengan penambahan pereaksi DNS (*dinitrosalisilic acid*) ke dalam larutan uji serta proses pemanasan, sehingga dihasilkan larutan berwarna kuning hingga

merah pekat. Semakin pekat warna larutan sampel dibandingkan dengan warna larutan kontrolnya, maka semakin tinggi aktivitasnya (Eveleigh *et al.*, 2009)

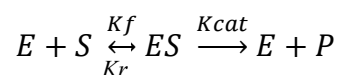
2.7 Penentuan Kadar Protein α -amilase dengan Metode Lowry

Penentuan kadar protein pada metode Lowry bertujuan untuk mengetahui kandungan protein enzim pada setiap fraksi pemurnian dalam aktivitas yang baik. Metode Lowry bekerja pada kondisi alkali dan ion tembaga (II) yang akan membentuk kompleks dengan protein. Ketika reagen *folin ciocelteau* ditambahkan, maka reagen ini akan mengikat protein dan secara perlahan reagen *folin ciocelteau* akan tereduksi menjadi heteromolibdenum dan terjadi perubahan warna dari kuning ke biru.

Pengujian kadar protein menggunakan metode Lowry didasarkan pada pembentukan kompleks Cu^{2+} dengan ikatan peptida yang nantinya akan tereduksi menjadi Cu^+ dalam kondisi basa. Metode ini sangat sederhana dan biaya yang dikeluarkan relatif murah. Kekurangan dalam menggunakan metode Lowry ini adalah sensitifitas terhadap perubahan konsentrasi dan pH sangat rendah (Lowry *et al.*, 1951).

2.8 Kinetika Reaksi Enzim

Parameter dalam kinetika reaksi enzim adalah konstanta *Michaelis-Menten* (KM). Secara sederhana, hipotesis *Michaelis-Menten* dapat dituliskan sebagai berikut.



Keterangan :

E : enzim bebas

S : substrat

ES : kompleks enzim substrat

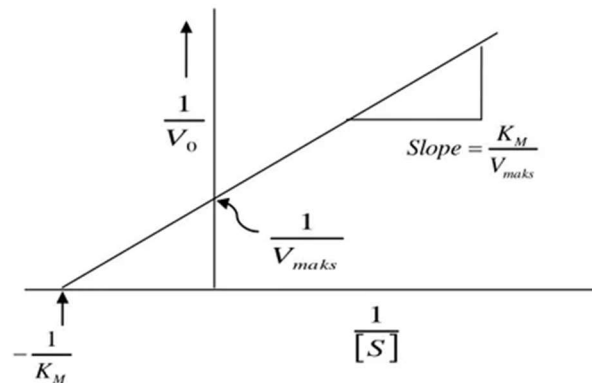
P : produk/hasil

K_f : tetapan kesetimbangan reaksi pembentukan ES

K_r : tetapan kesetimbangan reaksi penguraian ES

K_{cat} : tetapan kesetimbangan reaksi katalitik

Konsentrasi substrat mempengaruhi kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim. Pada konsentrasi substrat yang amat rendah, kecepatan reaksi pun sangat rendah, tetapi kecepatan ini akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat (Puspitasari dan Atikah, 2019). Nilai K_m dapat digunakan dalam menentukan ukuran afinitas enzim-substrat (E-S), yang merupakan suatu indikator kekuatan ikatan kompleks E-S atau suatu tetapan keseimbangan untuk disosiasi kompleks E-S menjadi E dan S (Putra, 2009). Nilai K_M dapat ditentukan dengan mengekstrapolasikan data eksperimental ke dalam grafik persamaan Lineweaver-Burk, seperti pada Gambar 8.



Gambar 8. Diagram Lineweaver-Burk (Murzin and Salmi, 2016)

Persamaan Lineweaver-Burk adalah persamaan kebalikan berganda yang linier dari persamaan Michaelis-Menten.

Persamaan Michaelis-Menten,

$$v_0 = \frac{V_{max}[S]}{[S] + K_s}$$

Persamaan Lineweaver-Burk,

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_m}{V_{max}} \times \frac{1}{[S_0]} + \frac{1}{V_{max}}$$

(Palmer and Bonner, 2007)

2.9 Stabilitas Enzim

Stabilitas enzim dapat diartikan sebagai kestabilan aktivitas enzim selama penyimpanan dan penggunaan enzim, serta terhadap senyawa yang bersifat merusak seperti pelarut tertentu (asam atau basa), oleh pengaruh suhu dan kondisi-kondisi non fisiologis lainnya (Kazan *et al.*, 1997). Stabilitas enzim merupakan sifat penting yang harus dimiliki enzim sebagai biokatalis. Banyak faktor yang mempengaruhi stabilitas enzim, seperti pH, suhu, kofaktor dan kehadiran surfaktan (Eijsink *et al.*, 2005). Berikut merupakan faktor yang dapat mempengaruhi kestabilan enzim

2.9.1 Stabilitas termal enzim

Stabilitas termal pada enzim dipengaruhi oleh berbagai macam faktor, yaitu urutan asam amino, struktur tiga dimensi, kofaktor dan pH (Ichishima, 2012). Pada suhu yang terlalu rendah, maka kemantapan enzim tinggi, tetapi aktivitasnya rendah. Pada suhu yang terlalu tinggi kemantapan enzim rendah, tetapi aktivitasnya tinggi (Wirahadikusumah, 2001). Di Indonesia, suhu optimum untuk proses enzimatik dapat dilakukan pada suhu kamar. Umumnya, enzim memiliki aktivitas optimum pada suhu sekitar 30 °C dan mulai mengalami denaturasi pada suhu 45 °C (Winarno, 1992).

2.9.2 Stabilitas pH enzim

Diperkirakan perubahan kereaktifan pH lingkungan disebabkan oleh terjadinya perubahan ionisasi enzim, substrat atau kompleks enzim-substrat. Enzim menunjukkan aktivitas maksimum pada kisaran pH optimum enzim dengan stabilitas yang tinggi (Winarno, 1992). Pada reaksi enzimatik, sebagian besar enzim akan kehilangan aktivitas katalitiknya secara cepat dan *irreversible* pada pH yang jauh dari rentang pH optimum untuk reaksi enzimatik. Inaktivasi ini

terjadi karena *unfolding* molekul sebagai hasil dari perubahan kesetimbangan elektrostatik dan ikatan hidrogen (Kazan *et al.*, 1997).

2.10 Zat Aditif

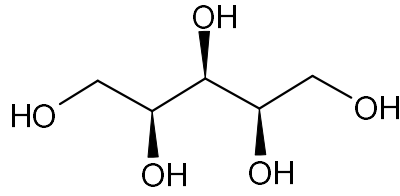
Bahan aditif dibagi menjadi beberapa kelompok, antara lain substrat atau koenzim, ion logam, garam dan anion, polimer, gula dan glikol dan lain sebagainya. Beberapa aditif yang telah diketahui mampu mempertahankan stabilitas enzim adalah gula (sukrosa dan laktosa), alkohol polihidrat atau poliol (gliserol, sorbitol, dan manitol), garam-garam (ammonium disulfida) dan macam-macam polimer (Costa *et al.*, 2002).

Zat aditif sebagai penstabil yang mudah untuk digunakan adalah poliol (alkohol polihidrat). Penggunaan golongan alkohol sebagai zat aditif penstabil memiliki beberapa kelebihan, yaitu meningkatkan stabilitas enzim dan lama waktu simpan enzim, sifat hidrofilik dari gugus hidroksilnya dapat menurunkan aktivitas air dan dapat meningkatkan interaksi hidrofobik diantara molekul protein enzim, serta dapat bekerja sebagai penangkap ataupun pengikat senyawa radikal bebas sehingga dapat mengurangi kemungkinan terjadinya oksidasi enzim (Suhartono, 1989).

2.11 Xilitol

Xilitol merupakan gula alkohol lima karbon yang memiliki kekuatan yang sama seperti pemanis sukrosa. Xilitol dapat diproduksi dari hidrogenasi katalitik xilosa atau xilosa yang kaya akan hidrosilat hemiselulosa (Rodrigues *et al.*, 1998). Xilitol terbentuk secara alami dengan rumus molekul $C_5H_{12}O_5$, memiliki bentuk kristal putih, dan biasa digunakan secara komersial sebagai pemanis buatan dalam industri makanan dan farmasi. Xilitol memiliki nilai kalori yang cukup rendah dibandingkan sukrosa, yaitu sebesar 2,4 kal/g, akan tetapi rasa manisnya relatif sama dengan sukrosa (Umai *et al.*, 2022). Xilitol banyak digunakan untuk pasta

gigi karena mampu menguatkan gigi dan bersifat anti caries (Beg *et al.*, 2001). Berikut merupakan struktur xilitol yang ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Struktur xilitol

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2022 – Mei 2023 di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: alat-alat gelas, *laminar air flow* CRUMA model 9005-FL, spektrofotometer *UV-VIS Cary Win UV 32*, *autoclave* model S-90N, mikropipet *Eppendroff*, *shaker* inkubator, *waterbath*, neraca analitik, lemari pendingin, oven, inkubator, jarum ose, sentrifuga, jarum ose, tabung sentrifuga, pH meter, *magnetic stirrer*, pembakar spiritus, botol film dan botol plastik.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain: PDA (*Potato Dextrose Agar*) (Himedia), KH_2PO_4 (Merck), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck), CaCl_2 , HCl 1 N, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Merck), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Na_2HPO_4 (Merck), NaH_2PO_4 (Merck), KI, CoCl_2 , I_2 , NaOH 1 N, Na_2CO_3 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Na/K tartrat, BSA (*Bovine Serum Albumin*), *folin ciocelteau*, pepton, urea, pati terlarut, akuades, kantong selofan, kapas sumbat, kasa, kertas, karet, tisu, *aluminium foil*, *hand sanitizer*, kertas saring, es batu, dan xilitol.

Mikroorganisme penghasil enzim α -amilase yang digunakan pada penelitian ini adalah *A. fumigatus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Universitas Lampung.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1. Pemiakan Isolat *A. fumigatus*

a) Pembuatan media agar miring

Sebanyak 3,9 gram PDA (*Potato Dextrose Agar*) dilarutkan kedalam 100 mL akuades, lalu diaduk sambil dipanaskan hingga larut. Setelah homogen, media dituang kedalam tabung reaksi sebanyak 5 mL dan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C dan pada tekanan sebesar 1 atm selama 15 menit, lalu tabung reaksi disimpan pada suhu ruangan dalam posisi miring, hingga media tersebut mengeras dan siap untuk digunakan.

b) Pemiakan *A. fumigatus*

Pemiakan *A. fumigatus* dilakukan dalam keadaan steril di dalam *laminar air flow*, lalu setelah itu disiapkan media yang akan digunakan dan biakan murni dari *A. fumigatus*. Kemudian, media dan biakan murni disterilisasi dengan pemijaran dengan Bunsen dan diambil satu tarikan ose biakan murni dari *A. fumigatus*, kemudian jarum ose ditusukkan ke permukaan media agar miring secara hati-hati. Setelah itu, media diinkubasi di dalam inkubator selama beberapa hari pada suhu 37 °C. Pengecekan dilakukan secara berkala, untuk melihat perkembangan dari jamur yang sedang diproduksi.

3.3.2. Pembuatan media inokulum dan media fermentasi, inokulasi *A. fumigatus* dan produksi enzim α -amilase

a) Pembuatan media inokulum dan media fermentasi

Media inokulum dan media fermentasi memiliki komposisi yang sama yaitu terdiri dari 5 gram KH_2PO_4 , 3,5 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1,875 gram pepton, 1,875 gram pati terlarut, 0,75 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,75 gram urea, 0,75 gram CaCl_2 , 0,0125 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,0035 gram $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 0,005 gram CoCl_2 . Setelah itu, semua bahan dilarutkan dalam akuades 100 mL dalam labu Erlenmeyer 250 mL dan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

b) Inokulasi *A. fumigatus*

Pindahkan *A. fumigatus* sebanyak 3 kali ose dari media agar miring ke dalam 100 mL media inokulum secara aseptis, kemudian dikocok dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Sedangkan, media fermentasi tetap berada di dalam LAF (*Laminar Air Flow*).

c) Produksi enzim α -amilase

Produksi enzim α -amilase dilakukan dengan cara memindahkan media inokulum sebanyak 2% dari jumlah media fermentasi ke dalam media fermentasi secara aseptis, kemudian di letakkan pada *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm selama 114 jam. Hasil dari fermentasi lalu disentrifugasi untuk mendapatkan ekstrak kasar enzim α -amilase selama 15–20 menit (Yandri dkk., 2010).

3.3.3. Isolasi enzim α -amilase

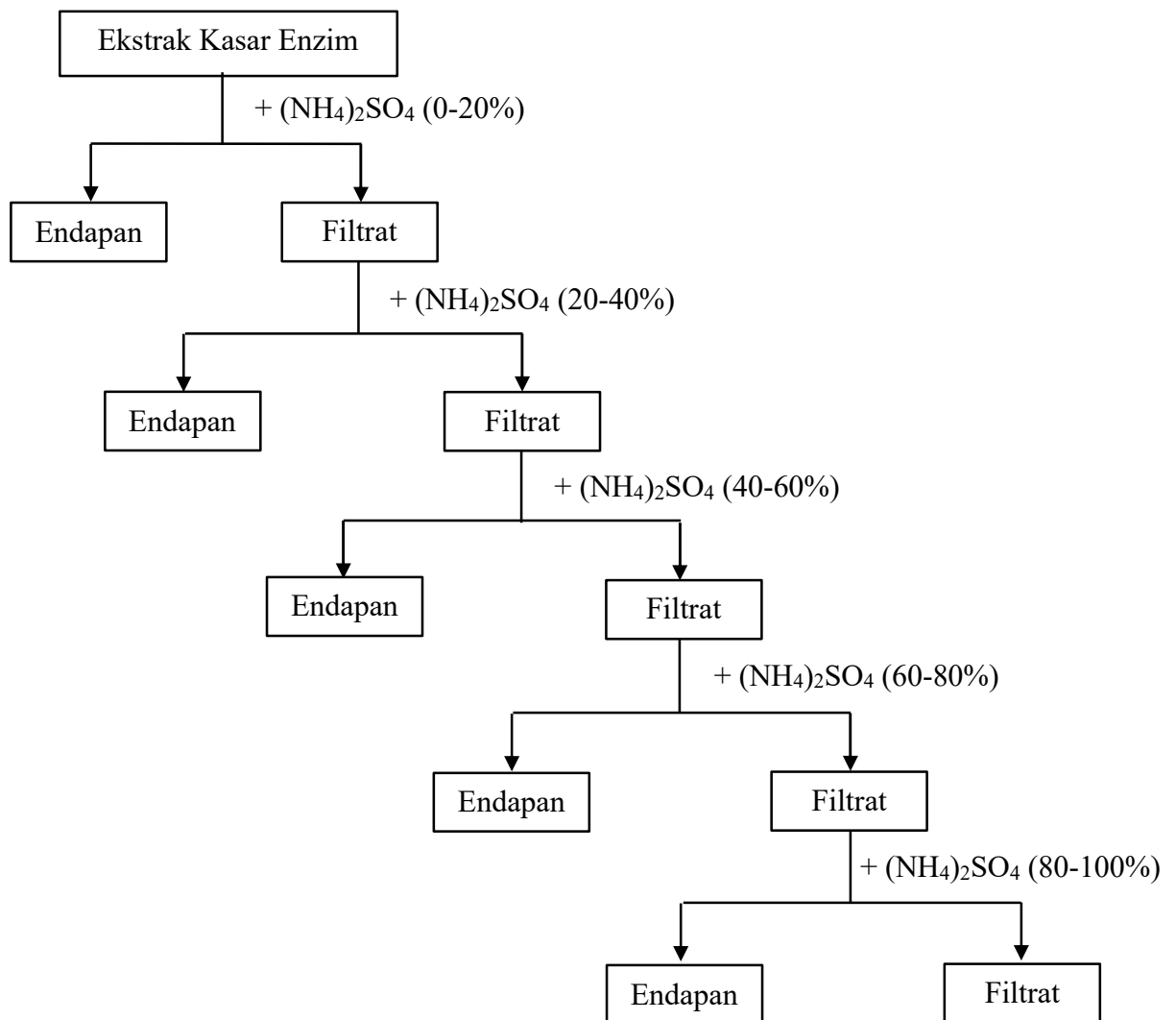
Isolasi enzim α -amilase dilakukan dengan menggunakan metode sentrifugasi. Prinsip sentrifugasi yaitu didasarkan pada kecepatan sedimentasi dengan cara pemusingan. Sentrifugasi berfungsi untuk memindahkan enzim ekstraseluler dari sisa-sisa sel. Sentrifugasi dilakukan pada suhu yang rendah (di bawah suhu kamar), hal ini dilakukan untuk menjaga hilangnya aktivitas enzim (Suhartono dkk., 1992). Untuk memisahkan enzim dengan komponen sel lainnya digunakan sentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, lalu disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat dimasukkan ke dalam botol sampel, filtrat ini merupakan ekstrak kasar enzim yang selanjutnya dapat diuji aktivitasnya dengan Spektrofotometer *UV-Vis* dengan menggunakan metode Fuwa dan diukur kadar proteinnya dengan menggunakan metode Lowry.

3.3.4. Pemurnian enzim α -amilase

Setelah enzim α -amilase selesai diisolasi, enzim tersebut lalu dimurnikan dengan menggunakan metode fraksinasi dengan menggunakan ammonium sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan dialisis.

a) Fraksinasi dengan Ammonium sulfat $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$

Ekstrak kasar enzim yang diperoleh dimurnikan dengan cara fraksinasi menggunakan garam ammonium sulfat pada berbagai derajat kejenuhan yaitu (0-20)% ; (20-40)% ; (40-60)% ; (60-80)% ; dan (80-100)% agar dapat mengetahui pada fraksi mana enzim α -amilase dapat terendapkan. Berikut merupakan skema fraksinasi dengan ammonium sulfat yang ditunjukkan dalam Gambar 10.



Gambar 10. Skema fraksinasi

Ekstrak kasar enzim ditambahkan dengan garam ammonium sulfat secara perlahan sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Endapan protein enzim yang didapatkan pada tiap fraksi kejenuhan ammonium sulfat dipisahkan dari filtratnya dengan sentrifugasi dingin pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Selanjutnya, endapan yang diperoleh dilarutkan dengan *buffer* fosfat 0,025 M pH 6, lalu diuji aktivitasnya dengan metode Fuwa serta diukur kadar proteinnya dengan metode Lowry.

b) Dialisis

Enzim hasil fraksinasi dimasukkan ke dalam kantong selofan dan didialisis dengan *buffer* fosfat 0,01 M pH 6 selama 24 jam pada suhu dingin. Selama proses dialisis, dilakukan pergantian *buffer* setiap 4–6 jam agar konsentrasi ion-ion di dalam selofan dapat dikurangi. Proses ini dilakukan secara kontinu sampai ion-ion di dalam selofan dapat diabaikan. Untuk mengetahui bahwa sudah tidak ada lagi kandungan garam di dalam selofan, maka diuji dengan menambahkan $\text{Ba}(\text{OH})_2$ atau BaCl_2 di luar selofan. Bila terbentuk endapan putih BaSO_4 di luar selofan, maka ion sulfat telah berhasil dikeluarkan dari dalam selofan. Kemudian, dilakukan uji aktivitas dengan menggunakan metode Fuwa dan diukur kadar proteinnya dengan metode Lowry.

3.3.5. Penentuan aktivitas enzim α -amilase

a) Pengujian aktivitas enzim α -amilase dengan metode Fuwa (Fuwa, 1954).

1. Pembuatan pereaksi untuk pengukuran aktivitas enzim α -amilase dengan metode Fuwa
 - Pereaksi iodin : KI dimasukkan sebanyak 2 gram ke dalam labu takar 100 mL lalu dilarutkan dalam akuades 10 mL, selanjutnya dimasukkan I_2 sebanyak 0,2 gram, dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.
 - Larutan pati : 0,1 gram pati dilarutkan ke dalam akuades 100 mL dan dipanaskan hingga larut.
 - Larutan HCl 1N : HCl pekat diencerkan dari konsentrasi 12 N menjadi 1 N. Sebanyak 8,3 mL HCl pekat 1 N dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

2. Pengujian aktivitas enzim α -amilase dengan metode Fuwa

Aktivitas enzim α -amilase dapat ditentukan dengan menggunakan metode iodine, yang didasarkan pada pengurangan jumlah substrat (pati) yang terdeteksi dengan penambahan iodine. Sebanyak 0,25 mL enzim dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 0,25 mL larutan pati 0,1%. Kemudian, diinkubasi pada suhu 60 °C selama 10 menit. Setelah itu dilakukan penambahan 0,25 mL HCl 1 N, 0,25 mL pereaksi iodine, dan 4 mL akuades. Lalu campuran tersebut diaduk rata dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometri *UV-Vis* pada λ 600 nm. Kontrol dibuat dengan cara yang sama, yaitu dengan menggunakan 0,25 mL enzim yang sudah diinaktivasi menggunakan HCl 1 N sebanyak 0,25 mL, lalu diinkubasi pada suhu 60 °C selama 10 menit dan diberikan penambahan 0,25 mL larutan pati 1% serta 0,25 mL pereaksi iodine.

b) Pengujian aktivitas enzim α -amilase dengan metode Mandels (Eveleigh *et al.*, 2009)

1. Pembuatan pereaksi untuk pengukuran aktivitas enzim α -amilase dengan metode Mandels

Sebanyak 1 gram DNS (*dinitrosalisilic Acid*) dimasukkan ke dalam labu takar, lalu ditambahkan 1 gram NaOH dan dikocok hingga larut. Kemudian ditambahkan 0,2 gram fenol dan 0,05 gram Na₂S₂O₃ dan 0,4 gram Na(K)-tartarat dan dilarutkan dalam dengan menggunakan akuades hingga tanda batas tera.

2. Pengujian aktivitas enzim α -amilase dengan metode Mandels

Pengujian aktivitas enzim dengan metode Mandels ini berdasar pada glukosa yang terbentuk. Sebanyak 0,25 mL enzim dan 0,25 mL larutan pati dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 60 °C selama 30 menit dalam penangas air. Lalu, dilakukan penambahan 1 mL DNS (*dinitrosalisilic acid*), kemudian dididihkan selama 10 menit dan didinginkan. Selanjutnya, ditambahkan akuades sebanyak 1,5 mL ke

dalam tabung reaksi dan diuji menggunakan Spektrofotometer *UV-Vis* dengan panjang gelombang 600 nm.

3.3.6. Penentuan kadar protein enzim α -amilase dengan metode Lowry

- a) Pembuatan pereaksi untuk penentuan kadar protein enzim α -amilase dengan metode Lowry (Lowry *et al.*, 1951).

Uji kadar protein enzim α -amilase menggunakan metode Lowry diawali dengan pembuatan pereaksi

1. Pereaksi A : 2 gram Na_2CO_3 dilarutkan dalam 100 mL NaOH 0,1 N.
2. Pereaksi B : 5 mL larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% ditambahkan ke dalam 5 mL larutan Na(K)-tartarat 1%.
3. Pereaksi C : 2 mL pereaksi B ditambah 100 mL pereaksi A.
4. Pereaksi D : reagen *folin ciocalteau* diencerkan dengan akuades 1:1
5. Larutan BSA : larutan BSA (*Bovine Serum Albumin*) dengan kadar 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, dan 140 ppm.

- b) Penentuan kadar protein enzim α -amilase dengan metode Lowry (Lowry *et al.*, 1951)

Penentuan kadar protein enzim α -amilase dilakukan dengan menggunakan metode Lowry. Sebanyak 0,1 mL larutan enzim dilarutkan dengan 0,9 mL akuades, lalu direaksikan dengan 5 mL pereaksi C dan dibiarkan selama 10 menit pada suhu ruang. Kemudian, ditambahkan dengan cepat 0,5 mL pereaksi D dan diaduk dengan sempurna lalu didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Untuk kontrol, 0,1 mL enzim digantikan dengan 0,1 mL akuades dan selanjutnya dilakukan perlakuan yang sama seperti sampel. Kemudian, serapannya diukur menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada λ 750 nm. Untuk menentukan kadar protein enzim digunakan kurva standar BSA (*Bovine Serum Albumin*) dan perhitungan metode Lowry.

3.3.7. Penambahan xilitol pada enzim α -amilase

Larutan xilitol dengan konsentrasi 0,5 ; 1; dan 1,5 M masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan enzim hasil pemurnian dengan perbandingan 1:1 (enzim : xilitol), menghasilkan enzim hasil pemurnian dan xilitol 0,5 M; enzim hasil pemurnian dan xilitol 1 M; dan enzim hasil pemurnian dan xilitol 1,5 M. Setelah dilakukan penambahan, enzim hasil penambahan akan dikarakterisasi dengan beberapa tahapan.

3.3.8. Karakterisasi enzim α -amilase

1. Penentuan pH optimum

Untuk mengetahui pH optimum enzim sebelum dan setelah dilakukan penambahan xilitol, digunakan *buffer* fosfat 0,01 M dengan variasi pH antara lain : 4,5 ; 5,0 ; 5,5 ; 6,0 ; 6,5 ; 7,0 ; 7,5 ; dan 8,0. Suhu dijaga agar tetap 60°C, dan dilanjutkan dengan pengukuran aktivitas enzim menggunakan metode Mandels.

2. Penentuan suhu optimum

Untuk mengetahui suhu optimum kerja enzim dilakukan dengan memvariasikan suhu saat inkubasi dengan variasi suhu 45; 50; 55; 60; 65; 70; 75; dan 80. Selanjutnya aktivitas enzim diukur dengan metode Mandels.

3. Penentuan K_M dan V_{maks}

Konstanta *Michaelis-Menten* (K_M) dan laju reaksi maksimum (V_{maks}) enzim sebelum dan setelah penambahan Xilitol ditentukan dari kurva *Lineweaver-Burk*. Kurva *Lineweaver-Burk* diplotkan dengan cara menguji aktivitas enzim α -amilase dengan variasi konsentrasi substrat 0,25% ; 0,5% ; 0,75% ; 1% ; 1,25%; dan 1,5% dalam *buffer* fosfat pH 6,5 pada suhu 60 °C selama 30 menit.

4. Uji stabilitas termal enzim

Uji stabilitas termal enzim sebelum dan sesudah penambahan xilitol dilakukan dengan mengukur aktivitas sisa enzim setelah dilakukan inkubasi selama 0; 10; 20; 30; 40; 50; 60; 70; 80; 90; dan 100 menit pada pH dan suhu optimumnya (Virdianingsih, 2002).

$$\text{Aktivitas sisa} = \frac{\text{Aktivitas enzim setelah perlakuan}}{\text{Aktivitas enzim awal (tanpa perlakuan)}} \times 100\%$$

3.3.9. Penentuan waktu paruh ($t_{1/2}$), konstanta laju inaktivasi (k_i), dan perubahan energi akibat denaturasi (ΔG_i)

Penentuan waktu paruh dapat dihitung dari persamaan laju reaksi inaktivasi enzim orde satu, seperti berikut:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_i} = \frac{0,693}{k_i}$$

Penentuan nilai k_i (konstanta laju inaktivasi termal) enzim α -amilase hasil pemurnian dan hasil penambahan dilakukan dengan menggunakan persamaan kinetika inaktivasi orde 1 (Kazan *et al.*, 1997). Dengan persamaan sebagai berikut,

$$\ln (E_i / E_0) = -k_i \cdot t$$

Adapun penentuan perubahan energi akibat denaturasi (ΔG_i) enzim hasil pemurnian dan enzim hasil penambahan diturunkan dari persamaan :

$$\Delta G_i = -RT \ln(k_i h / k_B T)$$

Keterangan :

R = konstanta gas ($8,315 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)

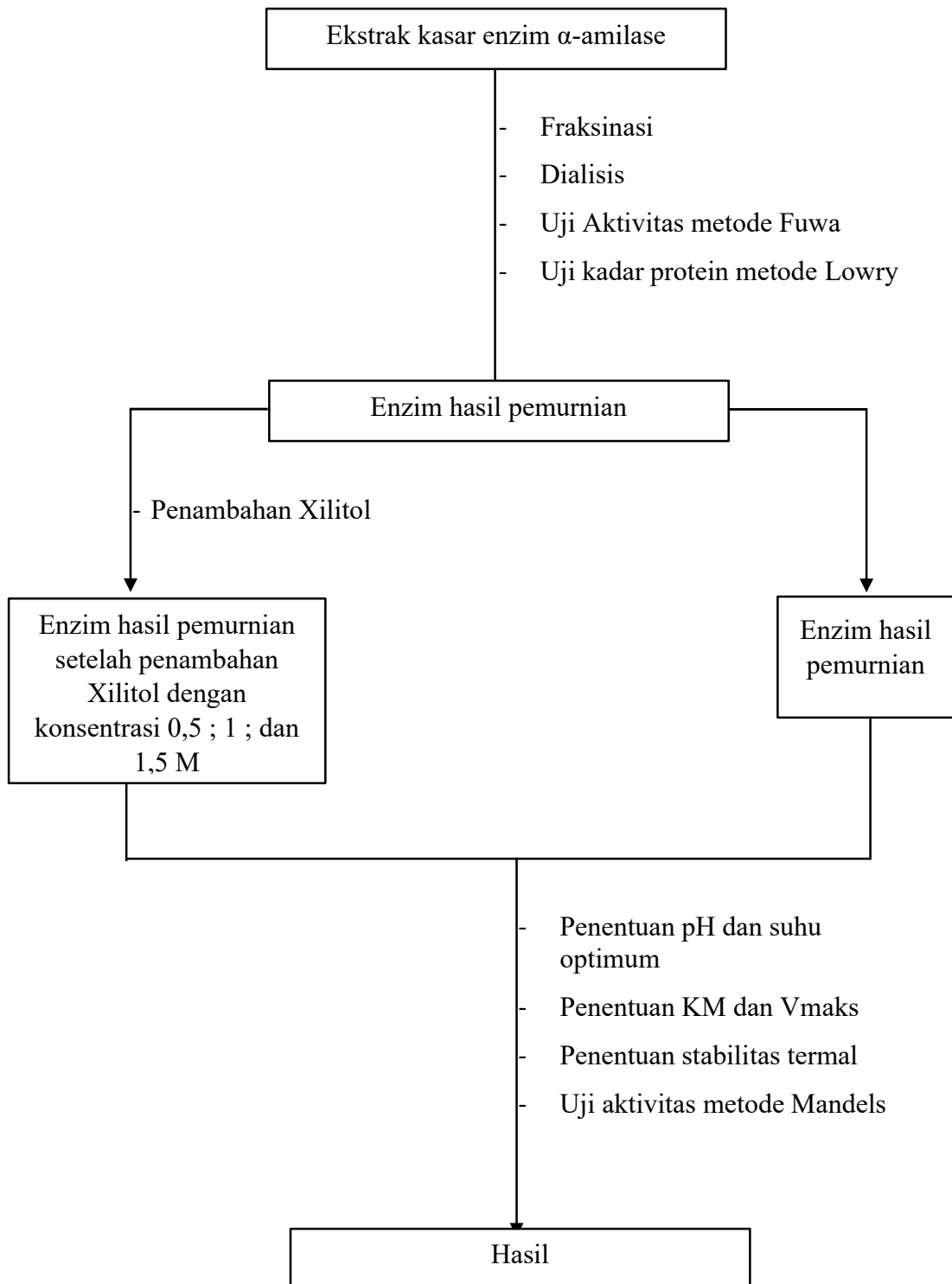
T = suhu absolut (K)

k_i = konstanta laju inaktivasi termal

h = konstanta Planck ($6,63 \times 10^{-34} \text{ J det}$)

k_B = konstanta Boltzmann ($1,381 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$)

Adapun diagram alir penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 11.



Gambar 11. Diagram Alir Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Aktivitas spesifik enzim α -amilase mengalami peningkatan 9,37 kali setelah dilakukan pemurnian enzim dari sebesar 78,358 U/mg menjadi 734,356 U/mg.
2. Enzim α -amilase hasil pemurnian bekerja secara optimum pada pH 5,5 dengan suhu optimum 50 °C dan memiliki nilai $K_M = 2,589$ mg/mL dan $V_{maks} = 796,178$ μ mol/mL.menit. Pada uji stabilitas termal enzim pada suhu 50 °C selama 100 menit menunjukkan aktivitas sisa sebesar 11,21% dengan nilai $k_i = 0,0176$ menit⁻¹, $t_{1/2} = 39$ menit dan $\Delta G_i = 101,198$ kJ/mol.
3. Enzim α -amilase setelah penambahan xilitol dengan konsentrasi 0,5; 1; dan 1,5 M bekerja secara optimum pada pH 5,5 dengan suhu optimum 60 °C dan memiliki nilai K_M berturut-turut 3,3428; 3,9139; dan 3,2026 mg/mL serta nilai V_{maks} berturut-turut 695,41; 583,771; dan 739,64 μ mol/mL.menit.
4. Pada uji stabilitas termal enzim α -amilase setelah penambahan xilitol dengan konsentrasi 0,5; 1; dan 1,5 M pada suhu 60 °C selama 100 menit menunjukkan aktivitas sisa sebesar 26,28; 24,66; dan 39,26% dengan nilai $k_i = 0,0141$; 0,012; dan 0,094 menit⁻¹, $t_{1/2} = 49, 58, dan 73$ menit dan $\Delta G_i = 105,08$; 105,052; dan 106,076 kJ/mol.

5. Pengaruh penambahan xilitol pada enzim α -amilase hasil pemurnian dari *A. fumigatus* mampu meningkatkan aktivitas enzim α -amilase, suhu dan stabilitas enzim α -amilase. Adanya penurunan nilai k_i , peningkatan waktu paruh dan ΔG_i menandakan bahwa enzim α -amilase setelah penambahan xilitol lebih stabil dibandingkan enzim hasil pemurnian dengan tingkat stabilitas terbaik pada penambahan xilitol 1,5 M.

5.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, maka disarankan untuk penelitian selanjutnya menambahkan metode pemurnian lain seperti metode kromatografi, melakukan penambahan xilitol pada variasi enzim yang lain seperti enzim protease dan enzim selulase, melakukan amobilisasi terhadap enzim α -amilase dari *A. fumigatus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abad, A., Victoria Fernández-Molina, J., Bikandi, J., Ramírez, A., Margareto, J., Sendino, J., Luis Hernando, F., Pontón, J., Garaizar, J., and Rementeria, A. 2010. What makes *Aspergillus fumigatus* a successful pathogen? Genes and molecules involved in invasive aspergillosis. *Reviberoammicol.* **27**(4) : 155–182.
- Akhdiya, A. 2018. Isolasi bakteri penghasil enzim protease alkalin termostabil. *Buletin Plasma Nutfah.* **9**(2) : 38–44.
- Alvarez, P. S., Mateos, A., Dominguez, L., Martinez-Nevado, E., Blanco, J. L., and Garcia, M. E. 2010. Polyclonal *Aspergillus fumigatus* infection in captive penguins. *Vet. Microbiol.* **144**(3–4) : 444–449.
- Ariandi. 2016. Pengenalan enzim amilase (alpha-amylase) dan reaksi enzimatisnya menghidrolisis amilosa pati menjadi glukosa. *Dinamika.* **7**(1) : 274–282.
- Aunstrup, K., Andressen, E., Falch, and Nielsen, T. 1979. *Production Of Microbial Enzymes.* Academic Press. New York.
- Beg, Q. K., Kapoor, M., Mahajan, L., and Hoondal, G. S. 2001. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **56**(3–4) : 326–338.
- Brassard, D., Clime, L., Daoud, J., Geissler, M., Malic, L., Charlebois, D., Buckley, N., and Veres, T. 2018. Microfluidic-Based Platform for Universal Sample Preparation and Biological Assays Automation for Life-Sciences Research and Remote Medical Applications. *DSG-Science Workshop.* **2063** : 2–3.
- Brockerhoff, H. and Jensen, R. G. 1974. *Lipolytic Enzymes.* Academic Press. New York.

- Bustos, R. O., Romo, C. R., and Healy, M. G. 1996. Stabilisation of trypsin-like enzymes from antarctic krill: effect of polyols, polysaccharides and proteins. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **65**(2) :193–199.
- Costa, S. A., Tzanov, T., Filipa Carneiro, A., Paar, A., Gübitz, G. M., and Cavaco-Paulo, A. (2002). Studies of stabilization of native catalase using additives. *Enzyme Microb. Technol.* **30**(3), 387–391
- de Carvalho, R. V., Côrrea, T. L. R., da Silva, J. C. M., de Oliveira Mansur, L. R. C., and Martins, M. L. L. 2008. Properties of an amylase from thermophilic *Bacillus SP.* *Braz. J. Microbiol.* **39**(1) : 102–107.
- Dwidjoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- Eijsink, V. G. H., Gåseidnes, S., Borchert, T. V, and van den Burg, B. 2005. Directed evolution of enzyme stability. *Biomol. Eng.* **22**(1–3) : 21–30.
- Eveleigh, D. E., Mandels, M., Andreotti, R., and Roche, C. 2009. Measurement of saccharifying cellulase. *Biotechnol. Biofuels.* **2** : 21.
- Evstatieva, Y., Nikolova, D., Ilieva, S., Getov, L., and Savov, V. 2010. Identification and characterization of α -amylase and endoxylanase, produced by aspergillus mutant strains. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* **24** : 613–617.
- Farkade, V. D., Harrison, S., and Pandit, A. B. 2005. Heat induced translocation of proteins and enzymes within the cell: an effective way to optimize the microbial cell disruption process. *Biochem. Eng.* **23** : 247–257.
- Fauziah, N. S., Herasari, D., dan Laila, A. 2012. Studi pengaruh penambahan gliserol dan sorbitol terhadap aktivitas enzim protease dari *Actinomycetes* ANL4 2b-3. *Prosiding SNSMAIP III.* 3.
- Fessenden, R. J., and Fessenden, J. S. 1994. *Kimia Organik Jilid I*. Erlangga. Jakarta.
- Fogarty, W. M. and Kelly, C. 1979. *Enzyme and Fermentation Biotechnology*. Ellis Horwood Limited. West Sussex.
- Fuwa, H. 1954. A new method for microdetermination of amylase activity by the use of amylose as the substrate. *J. Biochem.* **41**(5): 583–603.
- Goddette, D. W., Christianson, T., Ladin, B. F., Lau, M., Mielenz, J. R., Paech, C., Reynolds, R. B., Yang, S. S., and Ron Wilson, C. 1993. Strategy and implementation of a system for protein engineering. *J. Biotechnol.* **28**(1) : 41–54.

- Ichishima, E. 2012. Unique Enzymes Of Aspergillus Fungi Used In Japanese Bioindustries. Nova Science Publishers. New York.
- Irdawati, Fifendy, M., and Yenti, N. 2015. Penapisan bakteri termofilik penghasil enzim amilase dari sumber air panas sapan sungai aro kabupaten Solok Selatan. *Eksakta*. **1** : 73–81.
- Kazan, D., Ertan, H., and Erarslan, A. 1997. Stabilization of *Escherichia coli penicillin G acylase* against thermal inactivation by cross-linking with dextran dialdehyde polymers. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **48**(2) : 191–197.
- Lehninger, A. L. 2008. *Dasar-Dasar Biokimia* (Maggy Thenawidjaja (ed.); Terjemahan). Erlangga. Jakarta.
- Lemos, W. Y., Richard, G., and John, F. 2000. *Enzyme Stabilization*. Academia Press. California.
- Lestari, P., Richana, N., dan Rosmimik, R. 2011. Karakterisasi dan studi stabilisasi α -amilase *Bacillus licheniformis* TVII.6 menggunakan bahan aditif. *J. Biota*. **10**(5) : 581–588.
- Li, S., Yang, X., Yang, S., Zhu, M., and Wang, X. 2012. Technology prospecting on enzymes: Application, marketing and engineering. *Comput. Struct. Biotechnol.* **2**(3) : 1-2
- Longo, M. A. and Combes, D. 1999. Thermostability of modified enzymes: a detailed study. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **74**(1) : 25–32.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**(1) : 265–275.
- Mahdiyah, D. 2015. Isolasi bakteri dari tanah gambut penghasil enzim protease. *J. Pharma. Sci.* **2**(2) : 73.
- Matsumoto, M., Kida, K., and Kondo, K. 1997. Effects of polyols and organic solvents on thermostability of lipase. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **70**(2) : 188–192.
- Miyake, N., Kim, M., and Kurata, T. 1999. Stabilization of L-ascorbic acid by superoxide dismutase and catalase. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **63**(1) : 54–57.
- Muchtadi, D., Nurheri, S., dan Made, A. 1992. *Enzim dalam Industri Pangan*. IPB Press. Bogor.
- Murray, R. K., Granner, D. K., and Rodwell, V. W. 2009. *Biokimia Harper*. EGC. Jakarta.

- Murzin, D. Y. and Salmi, T. 2016. *Catalytic Kinetics: Chemistry and Engineering*. Elsevier Science. Amsterdam.
- Noviendri, D., Fawzya, Y. N., dan Chasanah, E. 2008. Karakteristik dan sifat kinetika enzim kitinase dari isolat bakteri t5a1 asal terasi. *JPBKP*. **3**(2) : 123.
- Ochiai, A., Sugai, H., Harada, K., Tanaka, S., Ishiyama, Y., Ito, K., Tanaka, T., Uchiumi, T., Taniguchi, M., and Mitsui, T. 2014. Bioscience, biotechnology, and biochemistry crystal structure of α -amylase from *Oryza sativa*: molecular insights into enzyme activity and thermostability. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **78**(6) : 989–997.
- Ompusunggu, H. E. S., Juwita, dan Silaban, R. 2013. *Kajian Biomedik Enzim Amilase dan Pemanfaatannya dalam Industri*. Digilib Unimed. Medan.
- Palmer, T. and Bonner, P. 2007. *Enzymes: Biochemistry, Biotechnology, Clinical Chemistry: Second Edition*. Horwood Publishing Limited. Cambridge.
- Poedjiadi, A. dan Supriyanti, T. F. 2009. *Dasar-Dasar Biokimia*. UI Press. Jakarta.
- Poshyvailo-Strube, L. 2015. *Modelling and simulations of enzyme-catalyzed reactions*. Thesis. National University of “Kyiv-Mohyla Academy.
- Praja, R. N. dan Yudhana, A. 2017. Isolasi dan identifikasi *Aspergillus Sp.* pada paru-paru ayam. *J. Med. Vet.* **1**(1) : 6–11.
- Prasetya, A. 2011. *Sejuta Manfaat Kehebatan Enzim Menjadikan Hidup Anti Sakit dan Panjang Umur Tanpa Obat*. Sinar Kejora. Yogyakarta.
- Prihatini, I. dan Dewi, R. K. 2021. Kandungan enzim papain pada pepaya (carica papaya l) terhadap metabolisme tubuh. *Tadris*. **1**(3) : 449–458.
- Purkan, P., Baktir, A., dan Sayyidah, A. R. 2016. Produksi enzim kitinase dari *Aspergillus niger* menggunakan limbah cangkang rajungan sebagai induser. *Kimia Riset*. **1**(1) : 34–41.
- Puspitasari, G. dan Atikah, W. S. 2019. Studi kinetika reaksi dari enzim α -amilase pada proses penghilangan kanji kain kapas. *Arena Tekstil*. **34**(1) : 1–6.
- Putra, G. G. 2009. Penentuan kinetika enzim poligalakturonase (pg) endogenous dari pulp biji kakao. *Biologi Udayana*. **13**(1) : 21–24.
- Rahmawati, A. Y. dan Sutrisno, A. 2015. Hidrolisis tepung ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) secara enzimatik menjadi sirup glukosa fungsional: kajian pustaka. *J. Pangan dan Agroindustri*. **3**(3) : 1152–1159.

- Reddy, N., Nimmagadda, A., and Sambasiva Rao, K. R. S. 2004. An overview of the microbial -amylase family. *African J. Biotechnol.* **2**(12) : 645-648.
- Reilly, R. 2003. *Handbook of Food Enzymology*. Marcell Dekker. New York.
- Rodrigues, D. C., Silva, S. S., Prata, A. M. and Felipe, M. G. 1998. Biotechnological production of xylitol from agroindustrial residues. Evaluation of bioprocesses. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **70**(72) : 869–875.
- Rosmimik, Richana, N., Lestari, P., dan Damardjati, D. S. 2001. Studi penambahan ion kalsium terhadap aktivitas dan stabilitas alfa-amilase *Bacillus stearothermophilus* TII 12. *PERMI.* **6**(I) : 12–14.
- Samson, R. A., Hong, S., Peterson, S. W., Frisvad, J. C., and Varga, J. 2007. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section Fumigati and its teleomorph Neosartorya. *Stud. Mycol.* **59** : 147–203.
- Scopes. 1982. *Protein Purification*. Springer Verlag. Berlin.
- Soedigdo, P. 1988. *Isolasi dan Pemurnian Enzim*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Soemitro, S. 2005. Pengaruh modifikasi kimiawi selektif terhadap kestabilan α -amilase dari *Saccharomycopsis fibuligera*. *J. Bionatura.* **7**(3) : 259–273.
- Steinbach, W. J. and Latgé, J.-P. 2009. *Aspergillus fumigatus and Aspergillosis*. ASM Press. Washington DC.
- Suhartono, M. 1989. *Enzim dan Bioteknologi*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Suhartono, M., Suswanto, A., dan Widjaja, H. 1992. *Diktat Struktur dan Biokimia Protein PA*. IPB Press. Bogor.
- Suriya, J., Bharathiraja, S., Krishnan, M., Manivasagan, P., and Kim, S.-K. 2016. Marine microbial amylases: properties and applications. *Adv. Food Nutr. Res.* **79** : 161–177.
- Tazkiah, N. P., Rosahdi, T. D., dan Supriadin, A. 2019. Isolasi dan karakterisasi enzim amilase dari biji nangka (*Artocarpus heterophyllus*). *Al-Kimiya.* **4**(1) : 17–22.
- Thomas, D. B. 1989. *A Textbook of Industrial Microbiology*. Sinauer Associates. Massachussets.

- Umai, D., Kayalvizhi, R., Kumar, V., and Jacob, S. 2022. Xylitol: bioproduction and applications-a review. *Sustainability*. **3** : 1–16.
- Vieille, C. and Gregory Zeikus, J. 1996. Thermozyms: Identifying molecular determinants of protein structural and functional stability. *Trends Biotechnol.* **14(6)** : 183–190.
- Virdianingsih, R. 2002. *Mempelajari Stabilitas Termal dari Bacillus pumilusyl dalam Pelarut Heksana, Toluena, dan Benzena*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wahyuni, S. 2017. *Biokimia Enzim dan Karbohidrat*. Unimal Press. Lhokseumawe.
- Winarno. 1995. *Enzim Pangan*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Winarno, F. G. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pusat. Jakarta.
- Wirahadikusumah, M. 2001. *Biokimia : Protein Enzim dan Asam Nukleat*. ITB Press. Bandung.
- Yan, C. and Zou, X. 2017. *Modeling Protein Flexibility in Molecular Docking*. Elsevier. Amsterdam.
- Yandri, A. S., Suhartati, T., dan Hadi, S. 2010. Purification and characterization of extracellular α -amilase enzyme from locale bacteria isolate *Bacillus Subtilis* ITBCCB148. *Eur. J. Res.* **39(1)** : 64–74.
- Yandri, A. S. dan Suhartati, T. 2018. *Peningkatan kestabilan enzim*. Aura. Bandar Lampung.
- Yandri, A. S., Tiarsa, E. R., Suhartati, T., Satria, H., Irawan, B., and Hadi, S . 2022. The Stability Improvement of α -amylase enzyme from *Aspergillus fumigatus* by Immobilization on a Bentonite Matrix. *Hindawi* . **2022** : 1–7.
- Yandri, A. S., Tiarsa, E. R., Suhartati, T., Satria, H., Irawan, B., and Hadi, S . 2023. Immobilization and stabilization of *Aspergillus fumigatus* α -amilase by adsorption on a chitin. *Emerg. Sci. J.* **7(1)** : 1–7.
- Yandri, A. S., Wahyuningsih, F., Suhartati, T., Satria, H., dan Hadi, S. 2020. Peningkatan kestabilan enzim α -amilase dengan penambahan sorbitol. *Prosiding SNK* . 232–241.