

INTISARI

Alfa-amilase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis polisakarida menjadi sakarida sederhana seperti glukosa, maltosa, dan dekstrin. Pengaplikasian enzim alfa-amilase telah dilakukan secara luas pada berbagai industri, termasuk industri pangan pada pembuatan gula pada proses liquifikasi dan pembuatan roti. Proses tersebut membutuhkan kondisi suhu yang tinggi, sehingga enzim alfa-amilase yang diperlukan berupa enzim yang memiliki ketahanan pada suhu yang tinggi. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa isolat *Geobacillus* sp. DS3 dari Kawah Sikidang, Dataran Tinggi Dieng, menunjukkan adanya aktivitas amilase pada media pati cair pada suhu 70 °C. Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan pemurnian dan melakukan karakterisasi alfa-amilase termostabil dari isolat *Geobacillus* sp. DS3.

Enzim alfa-amilase dari isolat *Geobacillus* sp. DS3 diproduksi pada media pati cair untuk diperoleh kondisi waktu dan suhu optimum inkubasi. Ekstrak kasar yang diperoleh dari produksi tersebut selanjutnya dimurnikan dengan metode pengendapan amonium sulfat dan kolom DEAE Sephadex A-25. Enzim parsial murni dikarakterisasi berat molekul dengan metode SDS-PAGE, suhu dan pH optimum, pengaruh kofaktor dan inhibitor. Enzim murni dianalisis nilai K_m dan V_{max} dengan persamaan Lineweaver Burk. Aktivitas enzim dianalisis dengan menggunakan metode 3,5-asam dinitrosalisilat (DNS) dan kadar protein dengan metode Bradford.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Geobacillus* sp. DS3 mampu memproduksi enzim alfa-amilase secara optimal pada suhu 60 °C selama 15 jam. Ekstrak kasar menunjukkan aktivitas tertinggi pada saturasi amonium sulfat 40-60%. Berat molekul enzim diprediksi berukuran 58 kDa. Alfa-amilase termostabil menunjukkan aktivitas optimum pada suhu 50 °C pada buffer fosfat pH 7,0. Penambahan garam $CaCl_2$ dan KCl menunjukkan adanya peningkatan aktivitas sehingga diduga bersifat sebagai kofaktor. Aktivitas alfa-amilase termostabil dihambat oleh inhibitor EDTA, PMSF, 2-merkaptotanol, dan $HgCl_2$. Nilai K_m

dan V_{max} dari enzim murni adalah sebesar 235,43 mM dan 1.428,57 U/mL.

Enzim alfa-amilase termostabil berpotensi digunakan pada industri pembuatan roti.

Kata Kunci: alfa-amilase, alfa-amilase termostabil, *Geobacillus* sp. DS3, termostabil, purifikasi.

ABSTRACT

Alpha-amylase is an enzyme which can hydrolyze polysaccharide to simple saccharide such as glucose, maltose, and dextrin. The application of alpha-amylase has been used in various industry including food industry in sugar production in the liquefaction process. The process requires high temperature, so the alpha-amylase which resistant at high temperature is needed. In the previous study, *Geobacillus* sp. DS3 isolated from Sikidang Crater, Dieng Plateu, showed amylase activity in starch medium at 70 °C. This study aimed to purify and characterize the thermostable alpha-amylase from *Geobacillus* sp. DS3.

Alpha-amylase from *Geobacillus* sp. DS3 produced in starch liquid medium to obtain the optimum condition of incubation. The crude extract then purified using ammonium sulfate precipitation and column DEAE-Sephadex A-25. The partial purified enzyme was characterized using SDS-PAGE to obtain molecular weight, temperature and pH optimum, and the cofactors and inhibitors. Purified enzyme then analyzed the K_m and V_{max} using Lineweaver-Burk equation. The enzyme activity was determined using the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method and the protein concentration using Bradford method.

The results showed that *Geobacillus* sp. DS3 optimally produced the alpha-amylase at 60 °C for 15 h. The alpha-amylase showed good activity at saturation of ammonium sulfate 40 – 60%. The molecular weight of the enzyme was estimated to be 58 kDa. Thermostable alpha-amylase showed activity at the optimum temperature at 50 °C in sodium phosphate buffer pH 7.0. The addition of $CaCl_2$ and KCl showed an increase in enzyme activity so that expected to be as cofactors. The thermostable alpha-amylase activity was inhibited by EDTA, PMSF, 2-mercaptoethanol, and $HgCl_2$. The K_m and V_{max} of the pure enzyme were 235.43 mM and 1428.57 U/mL, respectively. The thermostable alpha-amylase had potential to be used in bakery industry.

Keywords: alpha-amylase, *Geobacillus* sp. DS3, thermostable alpha-amylase, purification.