

FRACTIONATION AND CHARACTERIZATION EXTRACELLULAR α -AMYLASE FROM

Paenibacillus pinisoli

Dharma Vincentlau

18/430295/PA/18808

ABSTRACT

The fractionation and characterization of extracellular α -amylase from *Paenibacillus pinisoli* have been conducted. The purpose of this research was to isolate and fractionate the α -amylase from *Paenibacillus pinisoli* to obtain the highest alpha-amylase specific activity and compare against the crude. The α -amylase profile including pH, temperature, metal ion effect, K_M and V_{max} value, and molecular weight was conducted.

The research began by identifying the bacteria using the 16S rRNA sequence technique. Crude enzyme was extracted by centrifugation of the cultured media. Fractionation was done by adding ammonium sulfate into the crude enzyme. The highest specific activity of the fraction was characterized for its optimum pH and temperature. Furthermore, EDTA and metal ion addition effect, kinetic parameters, and molecular weight were also conducted.

The 16s rRNA sequence analysis showed that this strain was a genus of *Paenibacillus* and belongs to the *Paenibacillus pinisoli*. The result showed that the extracellular α -amylase from *Paenibacillus pinisoli* was successfully fractionated and characterized. The highest specific activity fraction was at 40% concentration resulted specific activity of 34.89 U/mg. The α -amylase showed optimum condition at pH 5.0 in 50 mM acetic buffer at 50°C. Pre-incubation with Ca^{2+} and Na^+ cations for 15 min enhanced the enzyme activity, while EDTA, K^+ , Co^{2+} , and Al^{3+} inhibited the activity. The K_M and V_{max} values were 2.22 mg/mL and 2.42 μ mol/min. The molecular weight of the α -amylase was determined by SDS-PAGE. The distinct one was 68.38 kDa and the rest is 51.76 kDa, 45.42 kDa, and 38.49 kDa.

Keywords: Characterization, extracellular α -amylase, fractionation, *Paenibacillus pinisoli*

FRAKSINASI DAN KARAKTERISASI α -AMILASE EKSTRASELULER DARI

Paenibacillus pinisoli

Dharma Vincentlau

18/430295/PA/18808

INTISARI

Fraksinasi dan karakterisasi α -amilase ekstraseluler dari *Paenibacillus pinisoli* telah dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi dan mefraksinasi α -amilase dari *Paenibacillus pinisoli* untuk mendapatkan aktivitas spesifik tertinggi dan dibandingkan terhadap ekstrak kasarnya. Selain itu juga dilakukan karakterisasi α -amilase seperti pH, temperatur, efek EDTA dan ion logam, nilai K_M , nilai V_{max} , dan berat molekul.

Penelitian diawali dengan mengidentifikasi bakteri menggunakan metode sekuen 16S rRNA. Ekstrak enzim kasar diperoleh dengan mensentrifugasi media terkultur dan difraksinasi menggunakan amonium sulfat. Fraksi dengan aktivitas spesifik tertinggi dikarakterisasi pH dan suhu optimumnya. Selain itu, efek penambahan EDTA dan ion logam, kinetika enzim, dan berat molekul juga dilakukan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa α -amilase ekstraseluler dari *Paenibacillus pinisoli* berhasil difraksinasi dan dikarakterisasi. Fraksi aktivitas spesifik tertinggi berada pada konsentrasi garam 40%, dengan aktivitas spesifik sebesar 34,89 U/mg. Fraksi ini memiliki faktor pemurnian 7,65. Setelah dikarakterisasi, α -amilase menunjukkan kondisi optimum pada pH 5,0 dalam buffer asetat 50 mM pada suhu 50°C. Pra-inkubasi dengan kation Ca^{2+} dan Na^+ selama 15 menit meningkatkan aktivitas enzim, sedangkan EDTA, K^+ , Co^{2+} , dan Al^{3+} menghambat aktivitas tersebut. Nilai K_M dan V_{max} adalah 2,22 mg/mL dan 2,42 μ mol/min. Berat molekul α -amilase dengan SDS-PAGE, yang berbeda adalah 68,38 kDa dan sisanya adalah 51,76 kDa, 45,42 kDa, dan 38,49 kDa.

Kata kunci: ekstraseluler α -amilase, fraksinasi, karakterisasi, *Paenibacillus pinisoli*