

Karakterisasi Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M Larva Kumbang Sagu dari Luwu Utara

Maswati Baharuddin*, Nur Alfina, Amalyah Febryanti, Fitria Azis, Wulan Wahyuningsih

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

*Penulis korespondensi: bmaswati@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v10.n2.37334>

Abstrak: Karakterisasi ekstrak kasar enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim amilase pada suhu, pH, dan konsentrasi substrat optimum terhadap substrat amilum murni dan amilum dari kulit singkong. Penentuan aktivitas enzim amilase menggunakan metode asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) yang diukur dengan spektrofotometer visible pada panjang gelombang (λ) 540 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim amilase isolat bakteri R₂M larva kumbang sagu yang direaksikan dengan substrat amilum optimum pada suhu 70°C, pH 4, dan konsentrasi substrat 1,25% dengan aktivitas enzim masing-masing sebesar 0,116 U/mL; 0,049 U/mL; dan 0,044 U/mL. Aktivitas enzim amilase isolat bakteri R₂M larva kumbang sagu yang direaksikan dengan substrat pati kulit singkong pada kondisi optimum (pH 4, suhu 70 °C, dan 1,25% amilum) sebesar 0,077 U/mL. Dengan demikian, enzim amilase isolate R₂M yang diisolasi dari larva kumbang sagu mampu bekerja optimum pada konsentrasi substrat 1,25%; suhu 70°C, dan pH 4.

Kata kunci: karakterisasi, amilase, larva kumbang sagu, bakteri amilolitik

Abstract: Characterization of amylase from crude extract of R₂M bacterial isolates from sago beetle larvae has been investigated. This study aims to determine the amylase activity of R₂M bacterial isolates from sago beetle larvae at optimum temperature, pH and, concentration of pure starch and cassava peel starch. The determination of amylase enzyme activity using the method of 3,5 dinitrosalicylic acid (DNS) as measured by a visible spectrophotometer at a wavelength (λ) of 540 nm. The results of this study showed that the amylase enzyme isolates R₂M bacteria from sago beetle larvae reacted with optimum starch substrate at a temperature of 70°C, pH 4, and a substrate concentration of 1.25% with enzyme activity of 0.116 U/mL; 0.049 U/mL; and 0.044 U/mL. Amylase enzyme activity of R₂M bacterial isolate of sago beetle larvae reacted with cassava peel starch substrate at optimum conditions of 0.077 U/mL. Therefore, the amylase isolate R₂M enzyme isolated from sago beetle larvae was able to work optimally at a substrate concentration of 1.25%; temperature 70 °C, and pH 4.

Keywords: characterization, amylase, sago beetle larvae, amylolytic bacteria

PENDAHULUAN

Pemanfaatan enzim semakin meningkat dari tahun ke tahun. Enzim digunakan di bidang industri, seperti industri makanan, kimia, medis, dan pembuatan bahan bakar bioetanol. Enzim dijadikan salah satu bahan produksi di industri karena mudah diperoleh dan ekonomis serta sumbernya melimpah. Enzim dapat diperoleh dari mikroorganisme yang hidup di berbagai tumbuhan, salah satu di antaranya adalah kelapa sawit termasuk limbahnya (Baharuddin *et al.* 2021). Selain itu, pohon sagu juga sering ditumbuhi oleh mikroorganisme. Propinsi Sulawesi Selatan termasuk salah satu penghasil sagu paling besar, yaitu daerah Luwu dan Luwu timur (Hamdani 2019). Pati dari pohon sagu dimanfaatkan sebagai bahan pangan. Ampas sagu diketahui mengandung

pati sekitar 65,7% dan sisanya berupa protein kasar, serat kasar, abu, dan lemak (Kiat 2006). Pengolahan sagu menyisakan pohon sagu yang akan membusuk dan menjadi tempat hidupnya mikroorganisme ulat sagu.

Larva ulat sagu bertahan hidup dengan memakan pati dari sisa proses pengolahan tepung sagu dan akan tumbuh menjadi kumbang merah dewasa (Makapagal & Lumanauw 2019). Jumlah ulat sagu berbanding lurus dengan banyaknya limbah pengolahan sagu. Ulat sagu dapat dijadikan pengganti makanan berprotein tinggi. Menurut Ariani dkk. (2018), 100 g tepung ulat sagu mengandung protein sebesar 33,68%; karbohidrat 8,69%; serat 40,3%; lemak 18,09%; dan antioksidan 78,6%. Kandungan larva ulat sagu tersebut dapat digunakan untuk

memproduksi berbagai enzim seperti enzim amilase yang berasal dari bakteri amilolitik yang terdapat dalam larva.

Bakteri amilolitik memiliki kemampuan untuk menghidrolisis pati. Choirunnisa dkk. (2017) melaporkan bahwa bakteri amilolitik *Micrococcus varians* memiliki indeks hidrolisis amilum sebesar 7,23 dengan diameter zona bening sebesar 1,50 cm. Sebagian bakteri amilolitik termasuk bakteri termofilik, yaitu mikroorganisme yang mampu bertahan hidup dan berkembang pada suhu yang tinggi. Bakteri termofilik dapat menghasilkan enzim yang cukup stabil salah satunya enzim amilase (Zuraidah dkk 2020).

Enzim amilase dapat diperoleh dari usus larva ulat sagu dengan mengisolasi bakteri amilolitik tersebut dari ususnya. Menurut Muliani (2020), enzim amilase dapat diperoleh dari usus larva kumbang sagu dengan cara isolasi bakteri. Penelitian tersebut menghasilkan isolat bakteri R₂M, R₃M, R₄M, R₅M, dan R₉M dengan aktivitas enzim amilase tertinggi terdapat pada isolat R₂M sebesar 0,066 U/mL.

Beberapa penelitian terdahulu terkait dengan isolasi bakteri amilolitik dari berbagai jenis larva juga telah dilaporkan. (Kresnawaty dkk. 2019) melaporkan, bakteri amilolitik dapat diisolasi dari larva black soldier fly (*Hermetia illucens*). Abd El-latif (2020) mengisolasi enzim amilase dari larva kumbang palem merah (*Rhychophorus ferrugineus*). Menurut Aryati dkk. (2017), bakteri amilolitik *Bacillus subtilis* dapat diisolasi dari usus larva *Oryctes rhinoceros* dengan aktivitas enzim sebesar 0,1447 U/mg. Penggunaan mikroorganisme untuk produksi enzim harus memperhatikan faktor lingkungan seperti suhu, pH, sumber karbon, dan nitrogen. Kondisi tersebut berperan dalam laju produksi enzim (Istia'nah dkk. 2020).

Karakterisasi enzim digunakan untuk mencari suhu, pH, dan konsentrasi substrat optimum untuk aktivitas enzim. Suhu menjadi faktor penting kinerja enzim. Pada suhu optimum reaksi antara substrat dan enzim sangat efektif sehingga akan meningkatkan nilai produk (Istia'nah dkk. 2020). Kresnawaty dkk. (2019) mengatakan bahwa enzim amilase yang diperoleh dari larva black soldier fly (*Hermetia illucens*) bekerja secara optimum pada suhu 70°C dengan aktivitas enzim sebesar 0.034 U/mg. Menurut Abd El-latif (2020), suhu optimum enzim amilase dari larva kumbang palem merah (*Rhychophorus ferrugineus*) yaitu 40°C dengan aktivitas enzim sebesar 0.162 U/mg.

Faktor lain yang mempengaruhi kinerja enzim adalah pH. Pada pH optimum enzim dapat mengikat substrat dengan lebih mudah (Tazkiah dkk. 2017). Menurut Kresnawaty dkk. (2019), pH optimum enzim amilase dari larva black soldier fly (*Hermetia illucens*) adalah pH 4 dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0.034 U/mg. Penelitian lainnya menyebutkan bahwa enzim amilase dari usus larva *Oryctes*

rhinoceros yang mengandung isolat bakteri *Bacillus subtilis* optimum pada pH 7 dengan aktivitas 0.1447 U/mg (Aryati dkk. 2017).

Enzim amilase diproduksi oleh mikroorganisme yang memanfaatkan amilum sebagai sumber karbon. Menurut Putri (2016), enzim pada konsentrasi substrat optimum dapat bekerja dengan baik membentuk kompleks substrat enzim sehingga menghasilkan nilai aktivitas yang tinggi. Istia'nah dkk. (2020) memperoleh konsentrasi substrat optimum enzim amilase dari bakteri *Bacillus megaterium* adalah 1,5% dengan aktivitas enzim 0,548 U/mL. Jenis substrat pada media produksi dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Proses hidrolisis dan aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi substrat.

Limbah agroindustri dapat digunakan sebagai substrat alami enzim. Hal tersebut juga dapat membantu mengurangi pencemaran lingkungan (Mojsov 2012). Soeka dkk. (2016) menggunakan substrat alami yang terdiri dari tepung tapioka, dedak padi, dan karboksimetil selulosa dengan nilai aktivitas enzim amilase sebesar 918,97 U/mL. Penelitian lainnya menggunakan substrat alami dari kulit kentang, kulit singkong, kulit jeruk, limbah kurma, dedak padi, dan dedak gandum (Afrisham et al., 2016). Kulit singkong memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi sebesar 29,84% (Pooja & Padmaja 2015). (Khalifah 2019) melaporkan bahwa dalam 500 g kulit singkong mengandung 27,269% pati sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai substrat enzim amilase..

Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, di antaranya suhu, pH, dan konsentrasi substrat. Oleh karena itu, karakterisasi enzim amilase dari isolat bakteri R₂M larva kumbang sagu meliputi faktor tersebut perlu dilakukan. Sejauh ini, studi mengenai karakterisasi dari isolat tersebut belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum enzim amilase isolat bakteri R₂M larva kumbang sagu dengan berbagai pH, suhu, dan konsentrasi substrat sehingga karakteristik dari enzim tersebut diketahui.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Isolat bakteri R₂M yang diperoleh dari larva kumbang sagu di Desa Tulak Tallu, Kecamatan Sabbang Kabupaten Luwu Utara Sulawesi Selatan. Komponen media inokulum yang digunakan terdiri dari 1 gram amilum (Merck, Jerman); 2,5 gram nutrient broth (Merck, Jerman); 0,02 gram MgSO₄ (Merck, Jerman); 0,7 gram KNO₃ (Merck, Jerman); 0,05 KH₂PO₄ (Merck, Jerman); dan 0,2 ekstrak ragi (Merck, Jerman) dalam 100 mL akuades (Onemed, Indonesia). Komposisi media produksi sama dengan media inokulum, yang membedakan hanyalah volume akuades yang digunakan 500 mL. Pereaksi dinitrosalisilat (DNS) digunakan juga yang terdiri dari 1 gram DNS (Sigma aldrich, Amerika Serikat)

p.a, 1 gram NaOH (Merck, Jerman), 1 gram Na₂SO₃ (Merck, Jerman), dan 18,2 gram K-Na tartarat (Merck, Jerman). Selain itu, terdapat juga NaCH₃COO (Merck, Jerman); NaH₂PO₄ (Merck, Jerman); Na₂HPO₄ (Merck, Jerman); nutrisi agar (Merck, Jerman); alkohol 70 % (Onemed, Indonesia); aluminium foil merek Diamond; CH₃COOH (Merck, Jerman); serta glukosa/C₆H₁₂O₆ (Merck, Jerman) juga digunakan pada studi ini. Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain spektrofotometri UV-VIS Genesys 20 (Varian, USA), sentrifugator Z 366 K (Hermele, Germany), shaker MASQ 7000 (Thermo Scientific, USA), inkubator hareus (Thermo Scientific, Germany), GmbH oven (Mettler, Germany), autoklaf yx-280D (GEA, Germany), laminar air flow isocide 14644-1 (Esco, Singapore), magnetic stirrer (Health, United States), US 200 sieve shaker (Retsch, United States), vortex mixer wizard (Velp Scientifica, Italy).

Preparasi Isolat dan Produksi Ekstrak Kasar Enzim

Preparasi isolat dan produksi ekstrak kasar enzim dilakukan berdasarkan penelitian Assegaf (2017) dengan beberapa modifikasi. Isolat bakteri dari larva kumbang sagu R₂M diambil dari media NA sebanyak 5 ose. Secara aseptis, isolat dicampurkan dengan 100 mL media NB. Selanjutnya isolat dan media diinkubasi menggunakan shaker dengan kecepatan 180 rpm selama 1 hari.

Selanjutnya sebanyak 75 mL hasil shaker yang diperoleh dimasukkan ke 500 mL media produksi. Kemudian campuran diinkubasi menggunakan shaker dengan kecepatan 180 rpm selama 2 hari. Selanjutnya, campuran disentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm pada suhu 4 °C selama 10 menit sehingga terbentuk supernatan dan pelet Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim amilase, kemudian ekstrak kasar enzim disimpan dalam lemari pendingin.

Karakterisasi Amilase Isolat Bakteri R₂M dari Larva Kumbang Sagu

Penentuan suhu optimum

Sebanyak 2 mL larutan amilum 1% dan larutan buffer fosfat pH 7 dimasukkan ke dalam lima tabung reaksi. Kemudian campuran ditambahkan 2 mL ekstrak enzim amilase. Campuran diinkubasi pada suhu 30 °C; 40 °C; 50 °C; 60 °C; dan 70 °C selama 15 menit. Setelah itu, sebanyak 2 mL larutan DNS ditambahkan pada larutan tersebut dan dihomogenkan menggunakan vortex. Campuran dipanaskan selama 15 menit. Kemudian, pengukuran absorbansi dikerjakan menggunakan spektrofotometer visible pada panjang gelombang 540 nm setelah campuran dalam kondisi dingin (Istia'nah dkk. 2020).

Penentuan pH optimum

Sebanyak 2 mL larutan amilum 1% dan larutan buffer (buffer asetat masing-masing pH 4, 5, 6, dan buffer fosfat masing-masing pH 6, 7, 8) dimasukkan ke dalam enam tabung reaksi. Kemudian campuran ditambahkan 2 mL ekstrak enzim amilase. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Setelah itu, sebanyak 2 mL larutan DNS ditambahkan pada larutan tersebut dan dihomogenkan menggunakan vortex. Campuran dipanaskan selama 15 menit. Kemudian, pengukuran absorbansi dikerjakan menggunakan spektrofotometer visible pada panjang gelombang 540 nm setelah campuran dalam kondisi dingin (Istia'nah dkk. 2020).

Penentuan konsentrasi substrat optimum

Sebanyak 2 mL larutan amilum konsentrasi 1,0%; 1,25%; 1,50%; 1,75; 2,0 % dan larutan buffer pH 7 dimasukkan ke dalam lima tabung reaksi. Kemudian ke dalam campuran ditambahkan 2 mL ekstrak enzim amilase. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Setelah itu, sebanyak 2 mL larutan DNS ditambahkan pada larutan tersebut dan dihomogenkan menggunakan vortex, kemudian campuran dipanaskan selama 15 menit. Kemudian, pengukuran absorbansi dikerjakan menggunakan spektrofotometer visible pada panjang gelombang 540 nm setelah campuran dalam kondisi dingin (Istia'nah dkk. 2020).

Uji Aktivitas Enzim Amilase Substrat Alami Pati Kulit Singkong

Pengujian aktivitas enzim amilase pada pati dari kulit singkong dilakukan pada kondisi optimum enzim tersebut bekerja. Sebanyak 2 mL amilum kulit singkong 1,25% dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian sebanyak 2 mL buffer pH 4 dan 2 mL ekstrak kasar enzim amilase ditambahkan pada amilum. Campuran yang terbentuk diinkubasi pada suhu 70 °C selama 15 menit. Sebanyak 2 mL reagen DNS ditambahkan lalu dihomogenkan menggunakan vortex, selanjutnya dipanaskan selama 15 menit. Setelah campuran dalam kondisi dingin, absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer visible pada 540 nm sebanyak tiga kali ulangan (triplo). Satu unit aktivitas amilase dinyatakan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk melepas 1 µmol gula pereduksi/menit (Asadullah 2014), disajikan pada persamaan (1).

$$AE = \frac{C_{glu}}{Mr_{glu}} \times \frac{Fp}{V_{enz}} \times \frac{V_{subs}}{t} \times 1000 \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1} \dots (1)$$

Dengan AE adalah aktivitas enzim; Fp adalah faktor pengenceran; V_{enz} adalah volume enzim; V_{subs} adalah volume substrat; t adalah waktu inkubasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakter Enzim Amilase Isolat Bakteri R₂M dari Larva Kumbang Sagu

Penentuan suhu optimum enzim amilase menggunakan buffer pH 7 dan amilum 1%. Aktivitas enzim amilase dari larva kumbang sagu disajikan pada Gambar 1. Gambar 1 menunjukkan bahwa aktivitas enzim ekstrak kasar amilase yang paling tinggi, yaitu 0,116 U/mL pada suhu 70°C. Aktivitas enzim terendah adalah pada suhu 30°C, yaitu 0,063 U/mL.

Gambar 1 menunjukkan aktivitas enzim diuji pada suhu yang berbeda, enzim memiliki suhu optimum untuk bekerja. Saat suhu meningkat, energi kinetik juga meningkat. Pada keadaan tersebut, laju reaksi akan meningkat sehingga menghasilkan produk dengan cepat dan menghasilkan nilai aktivitas enzim yang tinggi (Nurkhotimah dkk. 2017). Suhu tinggi akan menyebabkan enzim terdenaturasi. Suhu yang terlalu rendah menyebabkan enzim tidak memiliki energi aktivasi yang cukup sehingga produk yang dihasilkan sedikit (Kresnawaty dkk. 2019). Suhu optimum merupakan keadaan paling efektif untuk enzim bekerja. Pada suhu optimum terjadi tumbukan yang efektif antara enzim dan substrat (Tarigan dkk. 2015).

Ekstrak kasar enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu bekerja dengan baik pada suhu tinggi, yaitu suhu 70°C. Oleh karena itu, enzim amilase dari isolat ini dapat dikategorikan sebagai termofilik. Sebagian bakteri amilolitik termasuk bakteri yang dapat hidup di suhu yang tinggi atau dikenal dengan bakteri termofilik. Menurut Guangrong *et al.* (2006), bakteri termofilik merupakan mikroorganisme yang mampu hidup dikisaran suhu 30-80°C. Hasil penelitian membuktikan bahwa enzim amilase dari *Bacillus* sp. dapat bekerja pada suhu yang ekstrim. (Simair *et al.* 2017) mengkarakterisasi enzim amilase dari *Bacillus* sp dengan suhu optimum 65°C. Kresnawaty dkk. (2019) menyatakan ekstrak kasar enzim amilase yang diperoleh dari larva black soldier bekerja optimum

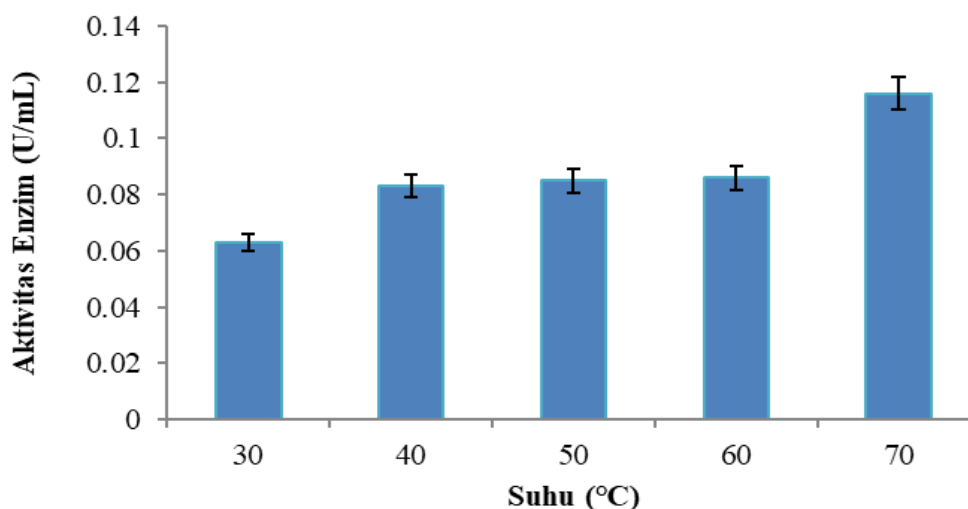
pada suhu 70°C dengan aktivitas 0,034 U/mL. Penelitian lainnya menyebutkan bahwa suhu optimum enzim amilase dari *Bacillus amyloliquefaciens* P-001 ialah 60°C (Deb *et al.* 2013). Berdasarkan beberapa studi tersebut, ekstrak kasar enzim amilase bekerja optimum pada suhu 60-70°C sehingga memungkinkan bekerja pada substratnya dengan baik pada suhu tinggi.

Penentuan pH optimum menggunakan amilum 1% pada berbagai pH dan pada suhu 37°C. Aktivitas amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu pada berbagai kondisi pH disajikan pada Gambar 2.

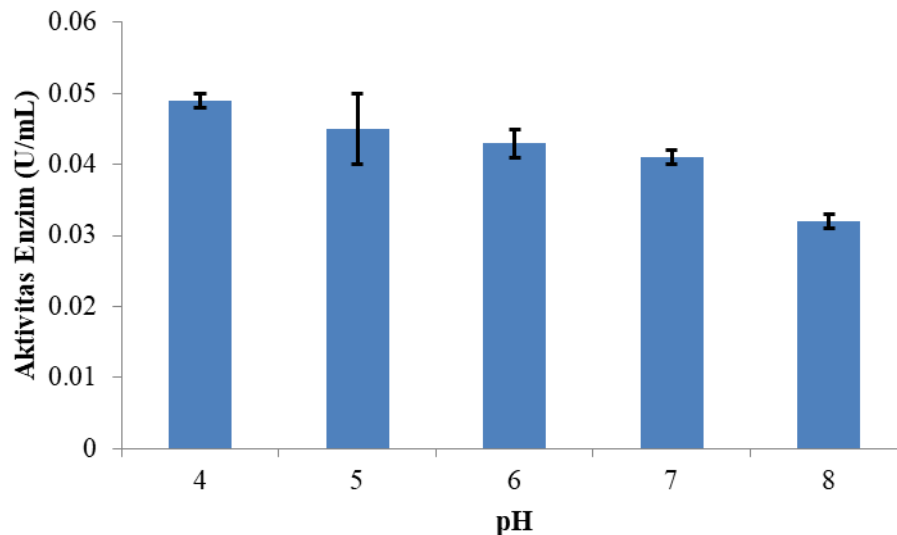
Gambar 2 memperlihatkan nilai aktivitas enzim amilase pada berbagai pH. Aktivitas tertinggi ekstrak kasar amilase adalah pada pH 4 yaitu 0,049 U/mL. Kemudian nilai aktivitas terendah ada pada pH 8, yaitu 0,032 U/mL.

Gambar 2 menunjukkan bahwa pH optimum ekstrak kasar amilase isolat R₂M larva kumbang sagu adalah 4 dengan aktivitas 0,049 U/mL. pH optimum merupakan kondisi dimana suatu enzim membentuk struktur dengan tepat dan bekerja mengikat substrat dengan baik. Perubahan pH dapat memengaruhi muatan pada asam amino dan menyebabkan perubahan struktur sehingga mempengaruhi aktivitas enzim. Pada penelitian ini, amilase memiliki aktivitas yang tinggi pada pH asam. Aktivitas enzim amilase mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya nilai pH. Hal tersebut karena perubahan pH dapat mengubah struktur tiga dimensi enzim sehingga mempengaruhi interaksinya dengan substrat dan mengganggu laju katalis enzim (Nurkhotimah dkk. 2017). Studi ini sejalan dengan studi lainnya, Kresnawaty dkk. (2019) melaporkan bahwa ekstrak kasar enzim amilase dari larva black soldier bekerja optimum pada pH 4 dengan aktivitas enzim amilase sebesar 0,034 U/mL. Jayanti dkk. (2013) menyatakan bahwa enzim amilase dari *Asperigillus oryzae* FNCC 6004 optimum pada pH 4,5 dengan aktivitas 5,67 U/mL.

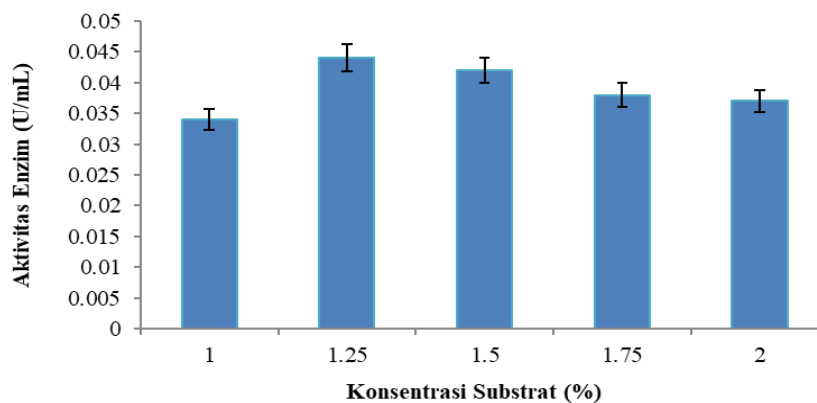
Konsentrasi substrat optimum ditentukan dengan kondisi 37°C dan pH 7. Aktivitas enzim amilase



Gambar 1. Pengaruh suhu terhadap aktivitas amilase isolat R₂M larva kumbang sagu



Gambar 2. Pengaruh pH terhadap aktivitas amilase isolat R₂M larva kumbang sagu



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas amilase isolat R₂M larva kumbang sagu

larva kumbang sagu yang diperoleh pada berbagai konsentrasi substrat dapat dilihat pada Gambar 3. Gambar 3 menunjukkan bahwa aktivitas tertinggi ekstrak kasar enzim amilase terdapat pada konsentrasi substrat 1,25% (aktivitas enzim sebesar 0,044 U/mL). Kemudian nilai aktivitas terendah terdapat pada konsentrasi substrat 1,00 % (aktivitas sebesar 0,034 U/mL).

Gambar 3 menunjukkan, konsentrasi substrat 1,25 % merupakan konsentrasi optimum dengan aktivitas enzim sebesar 0,044 U/mL. Konsentrasi substrat optimum merupakan keadaan optimal enzim dalam membentuk kompleks substrat enzim yang mampu menghasilkan aktivitas yang tinggi. Menurut Istia'nah dkk. (2020), konsentrasi substrat dapat meningkatkan aktivitas enzim. Semakin besar konsentrasi substrat, semakin banyak substrat yang masuk ke dalam sisi aktif enzim sehingga glukosa yang dihasilkan juga semakin tinggi. Pada studi ini, semakin besar konsentrasi substrat, semakin turun aktivitas enzim. Sisi aktif enzim pada konsentrasi substrat 1,25 % telah dipenuhi oleh molekul substrat. Bila konsentrasi substrat melebihi 1.25% maka aktivitas enzim turun

karena enzim sudah jenuh. Selain itu, menurut Putri (2016), glukosa yang terlalu tinggi akan menyebabkan inhibisi pada enzim karena sisi alosterik enzim diisi oleh glukosa. Hal tersebut membuat substrat tidak berikatan dengan enzim dan tidak dapat membentuk kompleks substrat enzim. Penurunan aktivitas enzim juga terjadi karena feed back inhibition glukosa yang menyebabkan reaksi kimia berjalan lambat dan menghambat kerja enzim. Istia'nah dkk. (2020) melaporkan konsentrasi optimum enzim amilase bakteri *Bacillus megaterium* yaitu 1,50% dengan aktivitas enzim sebesar 0,548 U/mL. Penelitian lainnya menyatakan, konsentrasi substrat optimum enzim amilase dari bakteri *Arthrobacter arilaitensis* yaitu 1% dengan aktivitas enzim sebesar 2,7 U/mL (Purnawan dkk. 2016).

Aktivitas Enzim Amilase pada Substrat Alami Kulit Singkong

Untuk menguji keadaan optimum yang telah diperoleh, enzim amilase isolat R₂M larva kumbang sagu diuji aktivitasnya dengan menggunakan amilum dari kulit singkong yang telah diambil patinya pada

suhu 70°C pH 7 dengan konsentrasi substrat 1,25%, Dan diperoleh aktivitas enzim amilase isolate R₂M adalah 0,077 U/mL. Asadullah (2014) melaporkan aktivitas enzim amilase onggok yang diperoleh dari kulit singkong sebesar 0.0041 U/mL. Supriyatna dkk. (2015) melaporkan bahwa enzim amilase dari larva *Hermetia illucens* memiliki aktivitas 0.42 U/mL. Oleh karena itu, aktivitas enzim amilase yang diperoleh berbeda-beda bergantung dari sumber mikrobanya dan jenis substratnya. Jika menggunakan substrat yang diekstrak dari bahan alam seperti kulit singkong, maka aktivitas kecil. Hal ini diduga karena substratnya masih belum terpisah secara sempurna dengan matriks penyusunnya, atau substrat masih mengandung komponen lain, seperti kulit singkong kemungkinan juga mengandung selulosa yang tidak dapat dihidrolisis oleh amilase. Apabila menggunakan substrat murni, maka aktivitas enzimnya tinggi. Enzim bekerja sangat selektif dan sensitif sehingga enzim bekerja lebih optimal ketika digunakan substrat murni. Hasil penelitian inimenunjukkan aktivitas amilase isolat R₂M larva kumbang sagu pada suhu 70°C pH 4 dan konsentrasi substrat 1.25% adalah 0,077 U/mL.

KESIMPULAN

Karakteristik enzim amilase isolat bakteri R₂M dari larva kumbang sagu ialah suhu optimum 70°C; pH 4; konsentrasi substrat 1,25 %. Aktivitas enzim amilase isolat bakteri R₂M larva kumbang sagu terhadap substrat amilum kulit singkong adalah 0,077 U/mL. Penelitian selanjutnya diharapkan menggunakan sumber enzim yang lain untuk dikarakterisasi agar informasi mengenai kinerja enzim pada setiap sumber dapat tersedia. Enzim yang memiliki kinerja yang baik diperbanyak dan diisolasi sehingga dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan, di antaranya pengolahan limbah bahan pangan untuk dapat dimanfaatkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrisham, S., Badoei-Dalfard, A., Namaki-Shoushtari, A. & Karami, Z. (2016). Characterization of a thermostable, CaCl₂-activated and raw-starch hydrolyzing alpha-amylase from *Bacillus licheniformis* AT70: Production under solid state fermentation by utilizing agricultural wastes. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. **132**: 98-106.
- Ariani, A., Anjani, G., Sofro, M.A.U. & Djamiatun, K. (2018). Tepung ulat sagu (*Rhynchophorus ferrugineus*) imunomodulator nitric oxide (NO) sirkulasi miceit terapi antimalaria standar. *Jurnal Gizi Indonesia*. **6(2)**: 131-138.
- Aryati, P.C., Pangastuti, A. & Sari, S.L.A. (2017). Amylase production potentials of bacterial isolates obtained from the gut of *Oryctes rhinoceros* larvae. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. **193(1)**: 012006.
- Asadullah, M. (2014) Isolasi bakteri amilolitik dari bekatul dan uji kemampuan untuk produksi enzim amilase kasar pada berbagai jenis media produksi. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Assegaf, S. (2017) Peningkatan kestabilan enzim α -amilase dari *Rhizopus oligosporus* dengan penambahan polietilen glikol (PEG) 600. Skripsi. FMIPA. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Baharuddin, M., Rahayu, I. & Febryanti, A. (2021). Isolation of cellulose-degrading bacteria from luwu timur in oil palm empty fruits bunch. *Walisongo Journal of Chemistry*. **4(2)**: 139–146.
- Choirunnisa, H.N., Sari, R.Y., Hastuti, U.S. & Witjoro, A. (2017). Identifikasi dan uji kemampuan hidrolisis pada bakteri amilolitik dan proteolitik yang diisolasi dari wadi, makanan khas Kalimantan Tengah. *Bionature*. **18(2)**: 99-109
- Abd El-latif, A.O. (2020). Partial characterization of the digestive proteases and α -amylase of the larvae of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*. *Arthropods*. **9(1)**: 7-14.
- Guangrong, H., Tiejing, Y., Po, H. & Jiaxing, J. (2006). Purification and characterization of a protease from thermophilic *Bacillus* strain HS08. *African Journal of Biotechnology*. **5(24)**: 2433–2438.
- Hamdani, U.Z. (2019). Komparasi karakter gelatinasi pati sagu yang berasal dari Kab. Luwu dan Kab. Luwu Utara. *Perbal: Jurnal Pertanian Berkelanjutan*. **7(1)**: 39-45.
- Istia'nah, D., Utami, U. & Barizi, A. (2020). Karakterisasi enzim amilase dari bakteri *Bacillus megaterium* pada variasi suhu, pH dan konsentrasi substrat. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*. **2(1)**: 11-17.
- Jayanti, D. & Wuryanti, Taslimah. (2013). Isolasi, karakterisasi, dan amobilisasi α -amilase dari *Aspergillus oryzae* FNCC 6004. *Chem Info*. **1(1)**: 76-84.
- Khalifah, N. (2019) Potensi hidrogel dari pati kulit singkong (*Manihot esculenta* crantz) sebagai absorben zat warna metanil kuning. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Alauddin. Makassar.
- Kiat, L.J. (2006) Preparation and characterization of carboxymethyl sago waste and its hydrogel, MSc Thesis. Faculty of Science. Universiti Putra Malaysia. Selangor.
- Kresnawaty, I., Wahyu, R. & Sasongko, A. (2019) Aktivitas amilase bakteri amilolitik asal larva black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Menara Perkebunan*. **87(2)**: 140-146

- Makapagal, D.P. & Lumanauw, N. (2019). Be Jubel dan Be Ancruk kuliner ekstrim langka di Bali. *Journey: Journal of Tourismpreneurship, Culinary, Hospitality, Convention and Event Management*. **1(1)**: 43-62.
- Mojsov, K. (2012). Microbial alpha-amylases and their industrial applications: a review. *International Journal of Management, IT and Engineering*. **2(10)**: 583-609.
- Muliani. (2020) Isolasi dan identifikasi mikroba simbiosis penghasil amilase dari larva kumbang sagu. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Alauddin. Makassar.
- Nurkhotimah, Yulianti, E. & Rakhmawaty, A. (2017) Pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim fosfatase bakteri termofilik sungai gendol pasca erupsi merapi. *Jurnal Prodi Biologi*. **6(8)**: 465–471.
- Pooja, N.S. & Padmaja, G. (2015). Enhancing the enzymatic saccharification of agricultural and processing residues of cassava through pretreatment techniques. *Waste and Biomass Valorization*. **6(3)**: 303-315.
- Deb, P., Talukdar, S.A., Mohsina, K., Sarker, P.K. & Sayem, S.M. (2013). Production and partial characterization of extracellular amylase enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* P-001. *SpringerPlus*. **2(1)**: 1-12.
- Purnawan, A., Capriyanti, Y., Kurniatin, P.A., Rahmani, N. & Yopi (2016). Optimasi produksi enzim amilase dari bakteri laut Jakarta (*Arthrobacter arilaitensis*). *Jurnal Biologi Indonesia*. **11(2)**: 215–224.
- Putri, S. (2016) Karakterisasi enzim selulase yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* pada variasi suhu, pH dan konsentrasi substrat. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Simair, A.A., Qureshi, A.S., Khushk, I., Ali, C.H., Lashari, S., Bhutto, M.A., Mangrio, G.S. & Lu, C. (2017). Production and partial characterization of α -amylase enzyme from *Bacillus* sp. BCC 01-50 and potential applications. *BioMed research international*. **2017**: 9173040.
- Soeka, Y.S., Rahmansyah, M. & Sulistiani. (2016). Optimasi enzim α -amilase dari *Bacillus amyloliquefaciens* O1 yang diinduksi substrat dedak padi dan karboksimetil selulosa. *Jurnal Biologi Indonesia*. **11(2)**: 259–266.
- Supriyatna, A., Amalia, D., Jauhari, A.A. & Holydaziah, D. (2015). Aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease dari larva *Hermetia illucens* yang diberi pakan jerami padi. *Jurnal Istek*. **9(2)**: 18-32.
- Tarigan, W.F., Sumardi & Setiawan, A. (2015) Karakterisasi enzim selulase dari bakteri selulolitik *Bacillus* sp. in Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi VI, Bandar Lampung, 3 November 2015. pp. 736–747.
- Tazkiah, N.P., Rosahdi, T.D. & Supriadin, A. (2017). Isolasi dan karakterisasi enzim amilase dari biji nangka (*Artocarpus heterophyllus*). *Al-Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*. **4(1)**: 17-22.
- Zuraidah, Z., Wahyuni, D. & Astuty, E. (2020). Karakteristik morfologi dan uji aktivitas bakteri termofilik dari kawasan wisata Ie Seuum (air panas). *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. **11(2)**: 40–47.