

**ISOLASI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI ENZIM AMILASE  
DARI BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*  
ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens*  
ATCC 8100, DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



**Diajukan Oleh :**

**Adistia Ovi Vionica  
21154444A**

**Kepada  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2019**

**ISOLASI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI ENZIM AMILASE  
DARI BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*  
ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens*  
ATCC 8100, DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**SKRIPSI**  
*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
derajat Sarjana Farmasi (S.F)  
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Diajukan Oleh :**

**Adistia Ovi Vionica  
21154444A**

**Kepada  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2019**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

Berjudul

**ISOLASI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI ENZIM AMILASE  
DARI BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*  
ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens*  
ATCC 8100, DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh :  
**Adistia Ovi Vionica**  
21154444A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 20 Juni 2019

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi



Prof. Dr. R. A. Oetari, SU, MM., MSc., Apt.

Pembimbing Utama

Ana Indrayati, M.Si., Dr

Pembimbing Pendamping

D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si

Penguji:

1. Nony Puspawati, Dra., M.Si
2. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si
3. Meta Kartika Untari, M.Sc., Apt
4. Ana Indrayati, M.Si., Dr

## **PERSEMBAHAN**

“Ya Allah, tidak ada kemudahan kecuali yang Engkau buat mudah. Dan Engkau menjadikan kesedihan (kesulitan), jika Engkau kehendaki pasti akan pasti akan menjadi mudah **(HR. Ibnu Hibban)**”

“Ya Allah, sesungguhnya aku memohon kepada-Mu ilmu yang bermanfaat, rezeki yang baik dan amal yang diterima **(HR. Ibnu Majah)**”

### **Bismillahirrahmanirrahim**

**Saya persembahkan skripsi ini untuk :**

♥ Mama, Bapak, & Keluarga ♥

Alhamdulillah rabbil'alamin terimakasih yang tidak terhingga untuk kedua orang tua saya. Dukungan, nasehat, dan doa dari merekalah yang membuat saya sampai pada titik ini. Terimakasih Ma, Pak, untuk setiap tetes keringat yang telah keluar agar saya bisa menjadi seorang sarjana. Terimakasih juga untuk keluarga besar di Balikpapan, terutama Paklik Sahri dan Bulik Nasikah yang telah banyak membantu dan mendoakan dalam perkuliahan saya. Bersyukur sekali memiliki kalian. Semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala membalas semua kebaikan kalian.

♥Sahabat Terkasih♥

Sahabatku Mimin terimakasih banyak untuk setiap hal-hal yang sudah kita lakukan bersama. Terimakasih sudah selalu mengingatkan, mendoakan, dan mendukung satu sama lain. Sahabatku Renny dan Irtama terimakasih juga karena sudah saling memotivasi, mendoakan, dan membantu dalam menjalani akhir semester kita ini. Dan untuk sahabatku Minah terimakasih karena selalu meyakinkanku kalau aku pasti bisa. Terimakasih karena kalian telah menjadi teman baikku, menjadi tempat keluh kesahku. Terimakasih atas kebaikan-kebaikan yang telah kalian lakukan. Semoga kita dapat menjaga persahabatan ini sampai seterusnya dan semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala melancarkan dan memudahkan kita untuk menuju ke tahap-tahap selanjutnya.

## **PERNYATAAN**

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juni 2019



Adistia Ovi Vionica

## KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim. Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh. Alhamdulillahirobbil'alamin, washolatu wassalamu'ala asrofil ambiya iwal mursalin wa'ala alihi wasohbihi aj ma'in. Amma ba'du. Segala puji syukur kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala ridho dan karunia-Nya. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada baginda kita Nabi Muhammad Shalallahu Alaihi Wa'salam. Semoga kita semua menjadi manusia yang selalu bersyukur, beriman dan berbudi luhur.

Alhamdulillah atas segala nikmat yang telah Allah berikan, sehingga panulis dapat menyelesaikan kewajiban skripsi yang berjudul **“ISOLASI, Uji AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI ENZIM AMILASE DARI BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Strata 1 pada Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan banyak manfaat bagi pengembangan ilmu mikrobiologi, bioteknologi dan kesehatan.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari beberapa pihak, baik material maupun spiritual. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, M.BA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Ana Indrayati, M.Si., Dr. selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, nasehat, motivasi dan saran kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
4. D. Andang Arif Wibawa, SP., M.Si. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, nasehat, motivasi dan saran kepada penulis selama penelitian ini berlangsung.

5. Lukito Minda Cahyo, SKG., M.PH selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan nasehat dan motivasinya.
6. Segenap dosen pengajar, laboran dan staff Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak memberikan ilmu dan pelajaran berharga.
7. Orang tua ku tersayang Bapak Kuswadi dan Mama Siti Chotijah, terimakasih yang tak terhingga atas segala yang telah diberikan.
8. Keluarga Balikpapan Embah kung, Embah putri, Paklik Sahri, Bulik Nasikah, dan lainnya, terimakasih banyak atas semangat, doa, dan bantuan yang telah diberikan.
9. Adikku Dino dan Dela yang telah memberikan semangat dan doanya.
10. Sahabatku terkasih Mimin, Renny, Irtama, dan Minah, terimakasih banyak karna sudah saling membantu, menyemangati, dan mendoakan satu sama lain.
11. Tim penelitianku Ninda yang sudah saling membantu dan memberikan semangatnya.
12. Teman baikku Atul, terimakasih atas doa dan motivasi yang telah diberikan.
13. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2015, BEM FF, dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang telah membantu dalam penelitian ini.

Penulis menyadari adanya kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, oleh karena itu penulis mengharap segala saran dan kritik dari pembaca untuk menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat dengan sebaik-baiknya bagi para pembacanya. Wassalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Surakarta, Juni 2019

Adistia Ovi Vionica

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	ii
PENGESAHAN SKRIPSI .....	iii
PERSEMBAHAN .....	iv
PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Enzim Amilase .....	5
1. Golongan Enzim Amilase .....	5
3.1 Alfa ( $\alpha$ ) amilase (1, 4- $\alpha$ -D-Glucan Glucanohydrolase, EC 3.2.1.1).....	5
3.2 Beta ( $\beta$ ) amilase (1, 4- $\alpha$ -D-Glucan Maltohydrolase, EC 3.2.1.2).....	5
3.3 Glukoamilase (1, 4- $\alpha$ -D-Glucan Glucohydrolase, EC 3.2.1.3).....	6
2. Karakteristik Enzim Amilase .....	6
3. Peran Enzim Amilase .....	7
B. Amilum.....	8
C. Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	9
D. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	10
E. Bakteri <i>Salmonella thyphi</i> .....	10
F. Bakteri <i>Serratia marcescens</i> .....	11



G. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
H. Media.....	12
1. Media Berdasarkan Bentuknya.....	13
1.1 Media padat.....	13
1.2 Media cair.....	13
1.3 Media semi padat atau semi cair.....	13
2. Media Berdasarkan Susunannya.....	13
2.1 Media alam.....	13
2.2 Media sintesis.....	13
3. Media Berdasarkan Sifatnya.....	14
3.1 Media umum.....	14
3.2 Media pengaya.....	14
3.3 Media diferensial.....	14
3.4 Media penguji.....	14
3.5 Media selektif.....	15
3.6 Media perhitungan.....	15
I. Isolasi Enzim.....	15
4. Pemecahan Sel Bakteri.....	15
1.1 Metode Non-mekanik.....	16
1.2 Metode Mekanik.....	17
2. Ekstraksi.....	17
3. Presipitasi Enzim dengan Garam.....	17
4. Dialisis.....	18
J. Pengujian Aktivitas Enzim Amilase.....	18
1. Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim.....	19
1.1 Pengaruh suhu.....	19
1.2 Pengaruh pH.....	19
K. Landasan Teori.....	20
L. Hipotesis.....	22
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>23</b>
A. Populasi dan Sampel.....	23
B. Variabel Penelitian.....	23
1. Identifikasi Variabel Utama.....	23
2. Klasifikasi Variabel Utama.....	23
3. Definisi Operasional Variabel Utama.....	24
C. Alat dan Bahan.....	24
1. Alat.....	24
2. Bahan.....	25
2.1 Bahan utama.....	25
2.2 Bahan kimia.....	25

2.3	Media .....	25
D.	Jalannya Penelitian .....	25
1.	Identifikasi Gen Amilase Bakteri .....	25
2.	Peremajaan Bakteri.....	25
3.	Identifikasi Bakteri .....	26
3.1	Identifikasi secara makroskopis.....	26
3.2	Identifikasi secara mikroskopis.....	26
3.3	Identifikasi Bakteri Gram Negatif. ....	27
3.4	Identifikasi Bakteri Gram Positif. ....	27
4.	Pembuatan Media Produksi Enzim .....	28
5.	Ekstraksi Kasar Enzim Amilase.....	28
6.	Pembuatan Media Amilum Agar.....	28
7.	Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Amilase .....	29
8.	Uji Ketahanan terhadap Suhu.....	29
9.	Uji Ketahanan terhadap pH .....	29
E.	Analisis Hasil.....	29
F.	Skema Penelitian .....	30
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	34
A.	Identifikasi Bakteri .....	34
1.	Hasil Identifikasi Bakteri secara Makroskopis.....	34
2.	Hasil Identifikasi Bakteri secara Mikroskopis .....	35
3.	Identifikasi Bakteri Gram negatif dengan Uji Biokimia .....	36
4.	Identifikasi Bakteri Gram positif dengan Uji Katalase dan Uji Koagulase .....	39
B.	Uji Aktivitas Enzim Amilase.....	40
1.	Hasil Uji Aktivitas Enzim Amilase .....	40
2.	Hasil Uji Ketahanan Aktivitas Amilase terhadap Suhu .....	43
3.	Hasil Uji Ketahanan Aktivitas Amilase terhadap pH.....	46
BAB V	KESIMPULAN DAN PENUTUP.....	51
A.	Kesimpulan .....	51
B.	Saran .....	51
DAFTAR PUSTAKA	.....	52
LAMPIRAN	.....	56

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema identifikasi gen amilase bakteri.....	30
2. Skema peremajaan bakteri .....	30
3. Skema identifikasi bakteri.....	31
4. Skema pembuatan media produksi enzim amilase.....	31
5. Skema produksi enzim amilase (ekstrak kasar) .....	31
6. Skema uji aktivitas enzim amilase .....	33
7. Skema uji ketahanan terhadap suhu .....	33
8. Skema uji ketahanan terhadap pH.....	34
9. Diagram rata-rata aktivitas amilase bakteri.....	42
10. Diagram ketahanan aktivitas amilase terhadap variasi suhu .....	44
11. Diagram ketahanan aktivitas amilase terhadap variasi pH .....	47

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil identifikasi bakteri berdasarkan koloni.....	34
Tabel 2. Hasil pewarnaan Gram dan kapsu.....	36
Tabel 3. Hasil uji biokimia bakteri.....	37
Tabel 4. Hasil identifikasi bakteri gram positif.....	40
Tabel 5. Hasil uji aktivitas enzim amilase awal.....	41
Tabel 6. Hasil rata-rata ketahanan aktivitas amilase terhadap variasi suhu.....	44
Tabel 7. Hasil rata-rata uji ketahanan aktivitas amilase terhadap variasi pH.....	47

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Identifikasi Bakteri berdasarkan Koloni .....	57
Lampiran 2. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri .....	58
Lampiran 3. Hasil Pewarnaan Kapsul .....	59
Lampiran 4. Hasil Uji Biokimia.....	59
Lampiran 5. Hasil Uji Katalase dan Uji Koagulase <i>S. aureus</i> .....	61
Lampiran 6. Produksi Enzim.....	62
Lampiran 7. Hasil Zona Bening Aktivitas Amilase .....	63
Lampiran 8. Larutan Buffer .....	64
Lampiran 9. Ekstrak Kasar Amilase Variasi Suhu.....	65
Lampiran 10. Ekstrak Kasar Amilase Variasi pH.....	66
Lampiran 11. Zona Bening Aktivitas Amilase terhadap Suhu .....	67
Lampiran 12. Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening Amilase terhadap Suhu	72
Lampiran 13. Zona Bening Aktivitas Amilase terhadap pH.....	74
Lampiran 14. Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening Amilase terhadap pH...	79
Lampiran 15. Hasil Analisis Data Karakterisasi Suhu dengan SPSS .....	81
Lampiran 16. Hasil Analisis Data Karakterisasi pH dengan SPSS.....	84
Lampiran 17. Alat Penelitian .....	85
Lampiran 18. Cara Pembuatan Media.....	86
Lampiran 19. Cara Pembuatan Larutan Buffer .....	90
Lampiran 20. Hasil Clustal Omega.....	91
Lampiran 21. Phylogenetic Tree .....	94

## INTISARI

**VIONICA, AO., 2019, ISOLASI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI ENZIM AMILASE DARI BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, DAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Amilase adalah enzim hidrolitik yang memutuskan ikatan glikosida pada amilum menjadi molekul yang lebih kecil seperti glukosa, maltosa, dan dekstrin. Amilase yang dihasilkan dari bakteri amilolitik umumnya berupa enzim ekstraseluler. Aktivitas amilase dapat dipengaruhi oleh suhu dan pH. Amilase pada bidang farmasi digunakan sebagai penanda biokimia diagnosis dini pankreatitis akut dan pengobatan gangguan pencernaan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi, menguji aktivitas dan mengkarakterisasi amilase yang dihasilkan oleh bakteri.

Amilase diperoleh dengan memfermentasi masing-masing bakteri ke dalam media uji selama tiga hari, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan (ekstrak kasar amilase) yang diperoleh dilakukan pengujian aktivitas amilase pada media amilum, dan ditambahkan iodine pada media tersebut untuk mengetahui zona bening yang terbentuk. Tahapan selanjutnya yaitu karakterisasi untuk menguji ketahanan amilase masing-masing bakteri terhadap variasi suhu 30, 40, 50, 60, dan 70°C, serta variasi pH 4, 5, 6, 7, dan 8.

Hasil penelitian menunjukkan kelima bakteri tersebut dapat menghasilkan enzim amilase. Aktivitas amilase paling besar berasal dari amilase *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan diameter zona bening sebesar 19,79 mm. Uji karakteristik menunjukkan hasil *Escherichia coli* ATCC 25922 memiliki aktivitas amilase paling besar pada suhu 30°C dan pH 8, sedangkan amilase *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki aktivitas paling besar pada suhu 50°C dan pH 8.

**Kata Kunci : Amilase, Bakteri, Suhu, pH**

## ABSTRACT

**VIONICA, AO., 2019, ISOLATION, ACTIVITY TEST, AND CHARACTERIZATION OF AMILASE ENZYMES FROM BACTERIA *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, And *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Amylase is a hydrolytic enzyme that breaks the bonds of glycosides in starch into smaller molecules such as glucose, maltose, and dextrin. Amylase produced from amylolytic bacteria is generally an extracellular enzyme. Amylase activity can be influenced by temperature and pH. Amylase in the pharmaceutical field is used as a biochemical marker of early diagnosis of acute pancreatitis and treatment of indigestion. The aim of this study was to isolate, test the activity and characterize amylase produced by bacteria.

Amylase is obtained by fermenting each bacterium into the test medium for three days, then centrifuging at a speed of 5000 rpm for 10 minutes. Supernatant (crude amylase extract) obtained was tested for amylase activity in starch media, and iodine was added to the media to determine the clear zone formed. The next stage is characterization to test the resistance of amylase of each bacterium to temperature variations of 30, 40, 50, 60, and 70°C, as well as variations in pH 4, 5, 6, 7, and 8.

The results showed that the five bacteria could produce amylase enzymes. The greatest amylase activity was derived from amylase *Escherichia coli* ATCC 25922 with a clear zone diameter of 19,79 mm. The characteristic test showed the results of *Escherichia coli* ATCC 25922 having the greatest amylase activity at 30°C and pH 8, while the amylase *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 had the highest activity at 50°C and pH 8.

**Keywords: Amylase, Bacteria, Temperature, pH**

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Enzim merupakan biomolekul berupa protein yang dihasilkan dari sel hidup. Enzim berfungsi sebagai biokatalisator dalam reaksi-reaksi kimia di dalam sistem biologi. Enzim bersifat tidak diubah oleh reaksi yang dikatalisnya dan tidak mengubah kedudukan normal dari kesetimbangan kimia, meskipun enzim mempercepat reaksi. Kemampuan enzim yang unik dan spesifik ini semakin banyak digunakan dalam bidang industri, terutama industri bioteknologi. Enzim juga dipakai secara luas dalam industri tekstil, kertas dan pangan. Selain itu enzim juga dapat digunakan pada teknik diagnosis, yaitu sebagai penanda atau marka diagnosis, sebagai reagensia diagnosis, dan sebagai penanda pembantu reagen (Susanti & Fibriana 2017).

Enzim dapat diekstraksi dari berbagai jenis sel makhluk hidup, namun pada saat ini enzim lebih banyak diekstraksi dari berbagai jenis bakteri. Produk enzim dari bakteri memiliki keunggulan, yaitu ketersediaan berbagai jenis bakteri di alam, kultur bakteri relatif mudah dilakukan dan enzim bakteri bersifat lebih stabil dibandingkan dengan enzim yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Selain itu, bakteri juga dapat direkayasa untuk perbaikan sifat sehingga produksi enzim yang diinginkan meningkat (Susanti & Fibriana 2017). Penggunaan enzim di Indonesia sampai sekarang hampir seluruhnya diimpor dari luar negeri, yakni mencapai 2.500 ton pertumbuhan volume rata-rata 5 hingga 7 persen per tahun (Setyorini 2017).

Salah satu jenis enzim yang banyak dihasilkan oleh mikroorganisme adalah amilase. Amilase merupakan enzim hidrolitik yang memiliki kemampuan memutuskan ikatan glikosida pada amilum menjadi molekul-molekul yang lebih kecil seperti glukosa, maltosa, dan dekstrin (Reddy *et al.* 2003). Enzim amilase yang dihasilkan dari bakteri amilolitik umumnya berupa enzim ekstraseluler (Nangin & Sutrisno 2015). Penggunaan amilase dilaporkan mengalami peningkatan setiap tahunnya. Amilase secara konstitusi merupakan kelompok



enzim yang sangat dibutuhkan dalam bidang industri dengan penguasaan pasar mencapai hampir 25-30% dari pasaran enzim di dunia dan diperkirakan meningkat 4% setiap tahun (Elmarzugi *et al.* 2014). Enzim amilase dalam bidang farmasi dapat digunakan sebagai penanda biokimia untuk diagnosis dini pankreatitis akut (Uchendu *et al.* 2017). Selain itu dapat juga digunakan sebagai pengobatan pada gangguan pencernaan (Das *et al.* 2011).

Aktivitas amilase dapat dipengaruhi oleh suhu dan pH. Umumnya suatu enzim tidak memiliki aktivitas optimal pada suhu yang sangat rendah, sedangkan pada suhu tinggi akan menyebabkan protein enzim terdenaturasi dan kehilangan aktivitasnya. Kecepatan reaksi enzimatik mencapai puncaknya pada suhu optimum. Pengaruh penting lain yang harus diketahui yaitu pH. Setiap enzim memiliki pH optimum yaitu pH yang dapat menghasilkan aktivitas tertinggi dalam mengkatalis suatu reaksi. pH yang terlalu rendah atau tinggi akan mempengaruhi konformasi enzim sehingga enzim tidak dapat membentuk kompleks dengan substrat (Sutisno & Nangin 2015). Setiap amilase bakteri memiliki suhu dan pH optimum yang berbeda-beda. Karakteristik suhu dan pH optimal pada amilase bakteri perlu diteliti, agar dapat diketahui apakah amilase tersebut termasuk dalam kategori termofil dan tahan asam atau tidak. Enzim amilase yang bersifat termostabil dan tahan asam memiliki nilai komersial yang luas dalam penggunaannya baik dalam industri tekstil, makanan, etanol ataupun obat-obatan (Arfah *et al.* 2015).

Banyak penelitian yang telah dilakukan baik di Indonesia maupun di luar Indonesia untuk mendapatkan informasi tentang bakteri amilolitik ini. Bakteri amilolitik sendiri merupakan jenis bakteri yang memproduksi enzim amilase yang mampu memecah pati. Reddy *et al.* 2003 melaporkan bahwa yang termasuk kelompok genus bakteri amilolitik di antaranya adalah *Clostridium Bacillus*, *Bacteriodes*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Thermus*, dan *Actinomycetes*. Hassan *et al.* 2018 melaporkan dalam penelitiannya bahwa *Escherichia coli* dapat menghasilkan enzim amilase. Raju & Divakar 2013 melaporkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi dari tanah perkebunan memiliki aktivitas amilase. Alariya *et al.*, 2013 juga melaporkan dalam penelitiannya bahwa bakteri

*Serratia marcescens* dapat menghasilkan enzim amilase. Penelitian terkait enzim amilase pada saat ini kebanyakan hanya terfokus terhadap beberapa bakteri saja, padahal masih banyak bakteri-bakteri lain yang dapat menghasilkan enzim amilase. Harapan kedepannya dalam penelitian ini adalah dapat mengetahui bakteri lainnya yang berpotensi menghasilkan enzim amilase, terkhusus yang bersifat termofilik dan tahan asam.

Berdasarkan analisis menurut *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) banyak bakteri lain yang memiliki gen amilase, yang artinya bakteri tersebut juga berpotensi untuk menghasilkan enzim amilase dengan karakteristik yang berbeda-beda. Berikut ini adalah beberapa bakteri yang memiliki gen amilase beserta nomer aksesnya yaitu *Escherichia coli* CP009685 memiliki gen alfa amilase, *Pseudomonas aeruginosa* AE004091 memiliki gen alpha-1,4-glucan:maltose-1-phosphate maltosyl transferase, *Salmonella typhi* AL513382 memiliki gen alfa amilase, *Serratia marcescens* HG326223 memiliki gen alfa amilase, *Staphylococcus aureus* CP000253 memiliki gen alfa amilase, dan masih banyak lagi. Berdasarkan pada uraian diatas penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi enzim amilase dan uji aktivitas enzim amilase, serta karakterisasinya berdasarkan ketahanannya terhadap variasi pH 4, pH 5, pH 6, pH 7, pH 8 dan suhu 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C dari bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang masalah di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

Pertama, apakah bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat menghasilkan enzim amilase ?

Kedua, manakah dari kelima bakteri tersebut yang memiliki aktivitas amilase terbesar ?

Ketiga, bagaimana karakteristik enzim amilase dari masing-masing bakteri berdasarkan ketahanannya terhadap variasi pH dan suhu ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Pertama, mengetahui enzim amilase yang dihasilkan dari bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Serratia marcescens* ATCC 8100, dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, mengetahui aktivitas amilase terbesar yang dihasilkan dari kelima bakteri.

Ketiga, mengetahui karakteristik enzim amilase dari masing-masing bakteri berdasarkan ketahanannya terhadap variasi pH dan suhu.

### **D. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terbaru yang bermanfaat bagi bidang ilmu farmasi, bidang ilmu bioteknologi dan bidang ilmu kesehatan lainnya mengenai enzim amilase yang bersumber dari mikroorganisme, serta dapat menjadi referensi dan landasan ilmiah bagi penelitian selanjutnya.

