

## **AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM AMILASE DARI BAKTERI *Aeromonas hydrophilla* ISOLAT M1S2 ASAL LAHAN RAWA MANDIANGIN, KALIMANTAN SELATAN**

Aynul Hasanah<sup>1</sup>, Ika Oksi Susilawati<sup>1,2</sup>, Badruzaufari<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Jalan A. Yani Km. 36 Banjarbaru, Kalimantan Selatan, 70714

<sup>2</sup>Divisi Mikrobiologi & Bioteknologi, PS Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat

<sup>3</sup>Divisi Genetika dan Biologi Molekuler, PS Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat

\*Corresponding author: badruzaufari@ulm.ac.id

### **ABSTRACT**

*Aeromonas hydrophilla* isolate M1S2 was isolated from Mandiangin swampy soil, South Kalimantan, and showed potential amylolytic activity by producing an amylase enzyme. This study aims to qualitatively and quantitatively analyze the ability of isolate M1S2 to hydrolyze starch substrate, measure amylase enzyme activity and specific activity of amylase enzyme crude extract, and analyze the effect of temperature and pH on amylase enzyme activity. The results of this study showed that isolate M1S2 was able to hydrolyze starch substrate with an amylolytic index of 1.23. In addition, the Fehling test indicated that the isolate produced amylase enzyme in the culture medium. The amylase enzyme activity and specific activity of isolate M1S2 were 0,00072 U/mL and 0.1634 U/mg, respectively. The amylase enzyme reached optimum activity at 40 °C and pH 6.

Keyword: amylolytic, *Aeromonas hydrophilla*, amylase, enzyme activity, swampy soil

### **PENDAHULUAN**

Kalimantan Selatan memiliki sumber daya alam berupa lahan basah yang luas keseluruhan adalah 4.969.824 ha terdiri atas rawa pasang surut dan lahan rawa lebak masing-masing seluas 190.369 ha dan 209.893 ha (BPS Provinsi Kalimantan Selatan 2014). Lahan rawa mempunyai peranan yang sangat penting dalam bidang pertanian dan secara ekologis menjadi daerah

penyangga air yang kaya akan biodiversitas mulai dari mikroorganisme sampai hewan tingkat tinggi. Organisme tersebut beradaptasi terhadap sifat dan kondisi lahan rawa, diantaranya kemasaman tanah yang tinggi karena mengandung tanah sulfat masam. Lahan rawa tersebut yang memiliki peluang yang cukup besar sebagai sumber mikroorganisme

penghasil enzim amilase yang toleran terhadap pH rendah.

Upaya eksplorasi terhadap potensi mikroorganisme di lahan rawa telah dilakukan oleh Susilawati *et al.*, (2017) yang telah berhasil mengisolasi bakteri amilolitik dari lahan rawa Mandiangin, Kalimantan Selatan. Isolat bakteri tersebut diidentifikasi sebagai *Aeromonas hydrophila* yang memiliki kemampuan amilolitik serta bersifat asidofilik. Bakteri amilolitik dapat memproduksi enzim amilase yang berperan dalam hidrolisis pati. Amilase yang dihasilkan oleh bakteri banyak dimanfaatkan dalam bidang industri, terutama industri makanan, minuman, tekstil, farmasi dan detergen. Hal ini karena umumnya amilase yang berasal dari bakteri mempunyai aktivitas yang tinggi dan bersifat lebih stabil dibandingkan amilase yang berasal dari tumbuhan dan hewan (Asadullah, 2014). Enzim amilase merupakan enzim industri yang paling penting yang menyumbang sekitar 30% dari produksi enzim dunia, yaitu sekitar 300 ton enzim murni per tahun (Purnawan *et al.* 2015).

Enzim amilase dikelompokkan menjadi beberapa kelompok, yaitu  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase, dan  $\gamma$ -amilase

(Nangin & Aji, 2015). Enzim  $\alpha$ -amilase (EC 3.2.1.1) (endoamilase) adalah enzim ekstraseluler yang mengkatalisis reaksi hidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosida pada pati secara acak menghasilkan glukosa, maltosa, dan unit maltotriosa. (Robia & Sutrisno, 2015). Enzim  $\beta$ -amilase (EC 3.2.1.2) adalah enzim eksoamilase yang memecahkan ujung rantai granula bukan pereduksi pada molekul amilosa, amilopektin dan glikogen. Enzim  $\beta$ -amilase tidak dapat menghidrolisis maltotriosa. Enzim  $\gamma$ -amilase atau glucoamilase (EC 3.2.1.3) menghidrolisis unit glukosa tunggal dari non-pereduksi ujung dari amilosa dan amilopektin secara bertahap. Glukoamilase dapat dibedakan dengan enzim amilase lainnya karena hasil reaksinya hanya berupa glukosa (Diaz *et al.* 2002). Aktivitas enzim sangat ditentukan oleh kondisi derajat kemasaman (pH) dan temperatur lingkungannya (Shrestha, *et al.* 2022). Enzim  $\alpha$ -amilase yang diproduksi oleh berbagai spesies bakteri tidak hanya mempunyai kemampuan sakarifikasi dan liquifikasi yang beragam tetapi juga aktivitas optimalnya beragam tergantung pH dan temperatur (Cordeiro *et al.*, 2002).

Bakteri penghasil amilase merupakan salah satu mikroorganisme yang saat ini memiliki nilai komersial tinggi, termasuk berasal dari genus *Bacillus*, *Clostridium*, *Thiobacillus* dan *Spirochaeta* serta kelompok cyanobacteria, bakteri ungu dan bakteri hijau (Taufik *et al.*, 2017). Potensi amilolitik dari bakteri tersebut diukur berdasarkan kemampuannya mensekresikan enzim amilase dan aktivitas enzimnya. Bakteri yang diperoleh Susilawati *et al.* (2017) mempunyai potensi dikembangkan sebagai sumber enzim amilase tetapi enzim yang diisolasi dari bakteri tersebut belum diuji aktivitasnya. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji untuk mengetahui nilai aktivitas enzim amilase dan nilai aktivitas spesifik enzim amilase serta pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim amilase.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan yang dipergunakan meliputi bakteri *Aeromonas hydrophilla* isolat M1S2, media kultur yang terdiri atas nutrient agar (NA) dan nutrient broth (NB) serta media substrat starch agar (SA). Bahan lainnya adalah amilum 1%, larutan iod, 3,5 asam

dinitrosalisilat (DNS), glukosa, buffer sitrat, buffer fosfat, reagen Fehling A, reagen Fehling B, bovine serum albumin (BSA) dan reagen Bradford (Amresco).

### Peremajaan isolat dan penentuan kurva tumbuh

Bakteri isolat M1S2 yang telah dipreparasi oleh Susilawati *et al.*, (2017) diremajakan dengan cara diinokulasikan ke dalam media NA miring dan diinkubasi pada suhu 31<sup>0</sup>C selama 24 jam. Satu koloni tunggal yang tumbuh pada media agar cawan diambil dan diinokulasikan ke dalam 1 mL media *nutrient broth* (NB). Isolat yang telah diinokulasi kemudian dimasukkan ke dalam mikroplat sebanyak 150 µL per sumur (*wells*) sebanyak 4 ulangan disertai dengan sumur blanko berisi 150 µL media NB tanpa inokulasi isolat bakteri. Mikroplat diinkubasi di spektrofotometer nanodioda array selama 24 jam pada suhu 31<sup>0</sup>C. *Optical Density* (OD) kultur mikroplat dibaca pada panjang gelombang 600 nm setiap jam sepanjang masa inkubasi.

### Produksi Ekstrak Kasar Amilase

Koloni tunggal dari media miring NA diambil sebanyak 1 ose dan

diinokulasikan ke dalam media nutrient broth (NB) cair 10 mL dan diinkubasi pada suhu 31<sup>0</sup>C selama 24 jam. Pengkulturan ini dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Lalu sebanyak 2,5% (v/v) inokulum bakteri dari NB tadi diinokulasikan ke dalam 100 mL medium starch agar cair yang mengandung sumber pati dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 31<sup>0</sup>C dengan pengocokan selama 19 jam. Setelah inkubasi selesai, kultur disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4 <sup>0</sup>C selama 15 menit dan endapannya dibuang sedangkan supernatant (cairan) disimpan sebagai ekstrak kasar larutan enzim amilase. Pada endapan yang dibuang terdapat sel bakteri, sehingga sebelum dibuang sel tersebut dibunuh dulu dengan cara direbus dengan air sampai mendidih (Amri *et al.* 2010).

### **Pengukuran aktivitas amilolitik**

#### *a. Zona bening pada media SA*

Satu ose isolat bakteri diambil dari agar miring kemudian diinokulasikan ke media agar cawan dan diinkubasi pada suhu 31 <sup>0</sup>C selama 24 jam. Setelah itu, koloni tunggal pada media agar cawan diambil 1 ose dan diinokulasikan ke dalam media *nutrient broth* (NB) dan diinkubasi pada suhu 31 <sup>0</sup>C selama 24

jam. Kultur cair isolat diinokulasikan ke *paper disk* dan diletakkan pada media *starch agar* (SA) dan diinkubasi pada suhu 31 <sup>0</sup>C selama 24 jam (Setyati & Subagiyo, 2012). Kultur tersebut ditetesi dengan larutan iod agar menampakan aktivitas amilase koloni bakteri yang ditunjukkan dengan zona bening disekitar koloni. indeks amilolitik diukur berdasarkan aktivitas amilase ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening/zona jernih disekitar koloni bakteri. Indeks amilolitik diukur dengan membandingkan diameter zona bening dengan diameter koloni (Agustien, 2010)

#### *b. Uji Fehling*

*Supernatant* yang mengandung ekstrak kasar amilase diuji aktivitas amilolitiknya menggunakan reagen Fehling. Sebanyak 10 tetes reagen Fehling A dan 10 tetes reagen Fehling B dicampurkan, kemudian ditambahkan ke tabung reaksi berisi larutan enzim dan amilum 1 % masing-masing 3 mL. Larutan tersebut dikocok merata dan dibiarkan selama sekitar satu menit lalu dipanaskan di dalam air mendidih selama 10 menit. Tabung kontrol berisi amilum 1 % dan akuades masing-masing sebanyak 3 mL ditambahkan

dengan 10 tetes reagen Fehling A dan 10 tetes reagen Fehling B. Reaksi positif ditandai dengan berubahnya warna larutan dari biru menjadi merah.

### **Pengukuran Aktivitas Enzim**

#### **Amilase**

Uji aktivitas amilase ditentukan dengan mengukur jumlah gula pereduksi yang terbentuk menggunakan metode asam dinitrosalisilat (DNS) dengan glukosa sebagai standar kalibrasi. Uji aktivitas amilase dilakukan dengan cara sebanyak 0,125 mL amilum 1% dicampurkan dengan 0,125 mL enzim, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 31°C. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 0,25 mL pereaksi DNS. Campuran reaksi tersebut selanjutnya dipanaskan dalam air mendidih 100 °C selama 10 menit. Selanjutnya campuran reaksi didinginkan sampai suhu kamar dan ditambahkan akuades sebanyak 4,5 mL dan di vortex. Absorbansi campuran diukur pada panjang gelombang 540 nm. Pengukuran ini dilakukan sebanyak 3 kali ulangan (Fahmi *et al.*, 2017). Pengukuran kandungan glukosa menggunakan kurva standar dengan metode DNS di atas menggunakan 0,5 mL larutan

glukosa dengan berbagai konsentrasi, yaitu 200, 400, 600, 800 dan 1000 ppm.

Aktivitas enzim amilase dihitung berdasarkan jumlah produk (mikromol) yang dihasilkan dari reaksi katalitik sejumlah tertentu (microgram) enzim dalam larutan selama satu menit yang diistilahkan sebagai unit (Liu, S. 2017). Jadi unit enzim amilase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang melepaskan 1 mikromol glukosa dari substrat dalam 1 menit pada suhu 31°C. Aktivitas spesifik enzim tersebut dihitung berdasarkan aktivitas enzim (unit) oleh satu milligram protein enzim kasar (Nurkhotimah, 2017).

Pengukuran kadar protein menggunakan metode Bradford (1976). Prosedur pengukuran protein pada ekstrak kasar dan protein standar BSA, mengikuti petunjuk dari manufaktur Amresco. Ekstrak kasar enzim diambil sebanyak 0,5 mL kemudian diencerkan dengan akuades 4,5 mL. Enzim hasil pengenceran diambil sebanyak 2,5 mL dan ditambahkan dengan 2,5 mL reagen Bradford dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 31°C. Larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Data absorbansi yang telah diperoleh dikonversikan pada persamaan garis

dari kurva standar BSA yang telah dibuat sehingga diperoleh konsentrasi kandungan protein. Semua uji dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (Fahmi *et al.*, 2017).

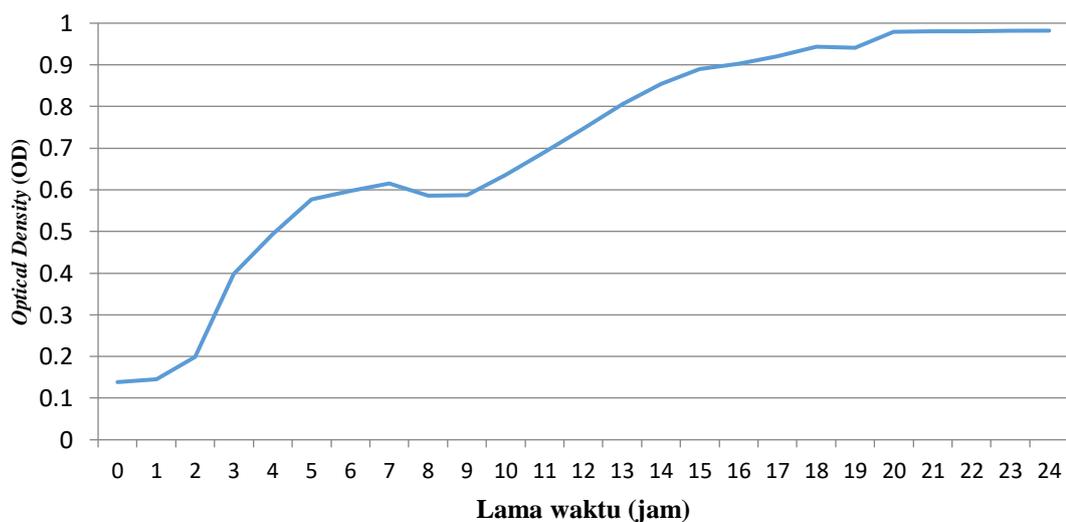
Pengukuran aktivitas enzim amilase untuk mengetahui suhu optimum aktivitasnya dilakukan pada rentang antara 30 sampai 60 °C dengan selang 10 °C. Sebanyak 0,125 mL amilum 1% dicampurkan dengan 0,125 mL enzim, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada masing-masing suhu 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C. Selain itu, untuk mengetahui pH optimum aktivitas amilase diukur pada pH antara 4 sampai 8. Larutan buffer yang dipakai adalah buffer sitrat 0,1 M (pH 3-6), buffer fosfat 0,1 M (pH 6-8) (Amri *et al.*, 2010). Sebanyak 0,125 mL amilum 1%

dicampurkan dengan 0,125 mL enzim kasar dan 0,125 mL larutan buffer asetat/buffer fosfat pH 4-8, kemudian divortex dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 31°C. Langkah selanjutnya dari kedua pengukuran ini mengikuti prosedur pengukuran aktivitas enzim amilase seperti di atas.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Kurva pertumbuhan dan aktivitas amilolitik bakteri *A. hydrophilla* isolat M1S2

Pertumbuhan sel bakteri isolat M1S2 (Gambar 1) menunjukkan fase lag sampai jam ke-2 setelah inkubasi dan fase eksplonensial selama 18 jam, mulai dari jam ke-2 sampai ke-20, setelah memasuki fase stasioner sampai akhir pengukuran 24 jam.

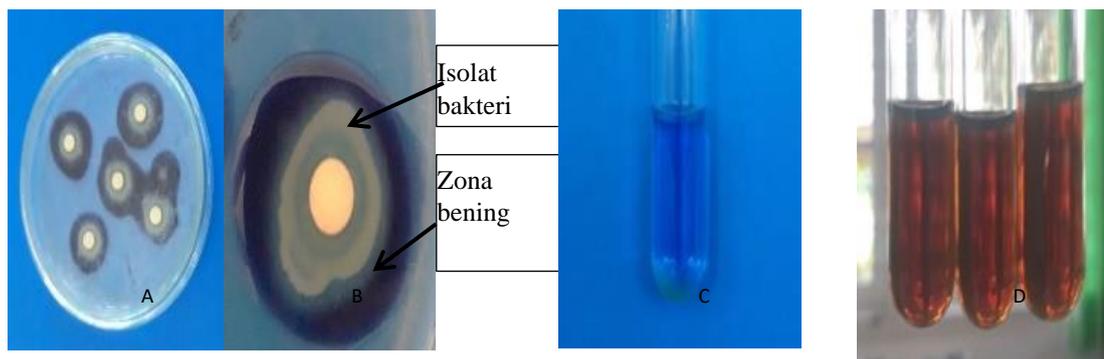


**Gambar 1.** Kurva pertumbuhan bakteri *A. hydrophilla* isolat M1S2 selama pengukuran 24 jam

Kurva pertumbuhan tersebut menunjukkan laju pertumbuhan pada fase eksponensial yang lambat dibandingkan dengan bakteri umum yang dikultur di laboratorium. Hal ini mengindikasikan bahwa bakteri ini mengambil strategi cara hidup dengan membersihkan lingkungan, sebagaimana umumnya bakteri tanah (Kumakura *et al.*, 2023). Produksi enzim amilase dari bakteri termofilik meningkat sepanjang pertumbuhan bakteri tersebut dan mencapai optimum pada awal fase stasioner (Fatoni dan Zufahair, 2012). Namun, menurut Pratiwi (2009), umumnya waktu produksi enzim amilase yang optimal adalah pada saat pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial mendekati fase stasioner dimana semakin banyak jumlah bakteri, maka semakin banyak pula enzim yang dihasilkan. Fase log tertinggi dari isolat M1S2 terjadi pada jam ke-19, sehingga pada waktu

tersebut adalah waktu inkubasi yang dipakai untuk memproduksi enzim amilase.

Aktivitas amilolitik isolat M1S2 diuji dengan melihat aktivitas enzim amilase yang dilepaskan bakteri ke media *starch agar* (SA) sehingga mendegradasi pati sehingga mengubah warna media agar menjadi zona bening (Gambar 2.A dan 2B). Indeks amilolitik yang diukur terhadap 5 koloni menggunakan persamaan (1) menunjukkan nilai 0,23. Indikasi lain dari aktivitas amilolitik adalah uji Fehling yang positif yakni munculnya warna merah pada tabung berisi enzim (Gambar 2.C). Kepastian bahwa bakteri *A.hydrophilla* mampu menghidrolisis pati dengan menghasilkan enzim amilase juga ditunjukkan oleh Onuorah *et al.* (2020) dan Suman *et al.* (2022) yang mengisolasi spesies tersebut dari tanah.



**Gambar 2.** Uji Amilolitik Isolat M1S2. Zona bening pada lima koloni (A) dan zona bening setelah diwarnai Iod (B) serta Uji Fehling pada larutan kontrol (C) dan pada larutan berisi enzim kasar larutan amilum 1% (D)

Uji zona bening menunjukkan bakteri *A. hydrophilla* mampu memproduksi dan melepaskan enzim amilase untuk mengkatalis proses hidrolisis amilum yang berada di media untuk menghasilkan molekul yang lebih sederhana seperti glukosa, maltosa dan dekstrin (Nangin & Aji, 2015). Bakteri amilolitik menghasilkan sedikitnya 3 enzim, yaitu  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase dan  $\beta$ -glukosidase untuk memecah amilum menjadi glukosa.  $\alpha$ -amilase akan memecah ikatan  $\alpha$ -1,4 menghasilkan glukosa, maltosa dan dekstrin.  $\beta$ -amilase akan memecah pati dari ujung nonreduksi menjadi  $\beta$ -maltosa dan dekstrin, sedangkan  $\beta$ -glukosidase akan memecah ikatan  $\beta$ -1,6 pada rantai cabang dan dekstrin menjadi glukosa. Bakteri amilolitik memiliki tingkat pertumbuhan yang cepat, sehingga hanya dibutuhkan waktu yang relatif singkat untuk memproduksi enzim

amilase (Enny, 2008). Lebih lanjut, uji Fehling menunjukkan hasil positif, hal ini mengindikasikan bakteri tersebut melepaskan enzim  $\alpha$ -amilase ke media sehingga terjadi hidrolisis amilum yang menghasilkan glukosa. Molekul yang terakhir ini merupakan gula pereduksi yang dioksidasi oleh ion  $\text{Cu}^{2+}$  dari reagen Fehling sehingga memunculkan warna merah dilarutan karena terbentuknya tembaga oksida (Charmier *et al.*, 2021).

#### **Aktivitas ekstrak kasar enzim amilase dari bakteri *A. hydrophilla* isolat M1S2**

Aktivitas amilase diukur berdasarkan konsentrasi glukosa yang dihasilkan hidrolisis pati oleh amilase. Kadar glukosa tersebut diukur menggunakan metode kurva standar glukosa metode DNS dengan persamaan  $y = 0.0667x - 0.0677$  dan

koefisien determinasinya ( $R^2$ ) sebesar 0.9945. Kadar glukosa enzim yang diperoleh dari kurva tersebut, selanjutnya digunakan untuk menentukan aktivitas enzim (Tabel 1). Nilai aktivitas enzim amilase hasil rata-rata dari tiga kali pengulangan yaitu sebesar 0,00072 U/mL dengan kadar glukosa sebesar 0,0009 mg/mL.

Kandungan protein pada ekstrak tersebut diukur dengan metode Bradford menggunakan kurva kalibrasi dengan persamaan  $y = 0,1816x - 0,1707$  dan koefisien determinasinya  $R^2 = 0,971$  sehingga diperoleh rata-rata massa protein sebesar 0.004423 (mg/mL) dan aktivitas spesifik enzim sebesar 0.1634 U/mg.

**Tabel 1.** Hasil Aktivitas Enzim Amilase

Ulangan	Konsentrasi glukosa (ppm)	Massa glukosa (mg/mL)	Aktivitas enzim (U/mL)	Konsentrasi protein (ppm)	Massa Protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
U1	4,523	0,0011	0,00083	4,4146	0.004414	0.1898
U2	2,904	0,0007	0,00053	4,3926	0.004392	0.1224
U3	4,283	0,0010	0,00079	4,4642	0.004464	0.1777
Rata-rata	3,903	0,0009	0,00072	4,4238	0.004423	0.1634

Aktivitas amilase yang diekstrak dari bakteri *A. hydrophilla* isolat M1S2 tampak tidak sebesar yang diperoleh oleh peneliti lainnya (Singh *et al.*, 2000; Cordeiro *et al.*, 2002; Onuorah *et al.*, 2020). Aktivitas enzim dipengaruhi berbagai faktor seperti konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, pH, temperatur, dan kandungan garam. Rendahnya konsentrasi enzim amilase yang dihasilkan oleh isolate tersebut kemungkinan pertama adalah sedikitnya jumlah enzim yang disekresikan oleh bakteri. Singh *et al.*, (2000) melaporkan bahwa bakteri *A.*

*hydrophilla* mensekresikan enzim amilase serta enzim lainnya seperti protease dan lipase. Regulasi produksi enzim amilase pada bakteri *A. hydrophylla* diprediksi mengikuti model sistem regulasi katabolit pada *Escherichia coli* bergantung pada *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) dimediasi oleh cAMP reseptor protein (Kidd dan Pemberton, 2002). Aktivitas sistem ini tergantung pada kehadiran cAMP dalam sel bakteri yang mendeteksi kehadiran sumber karbon di media tumbuhnya. Pada *E. coli* jika glukosa terdapat di media maka adenilat siklase enzim yang

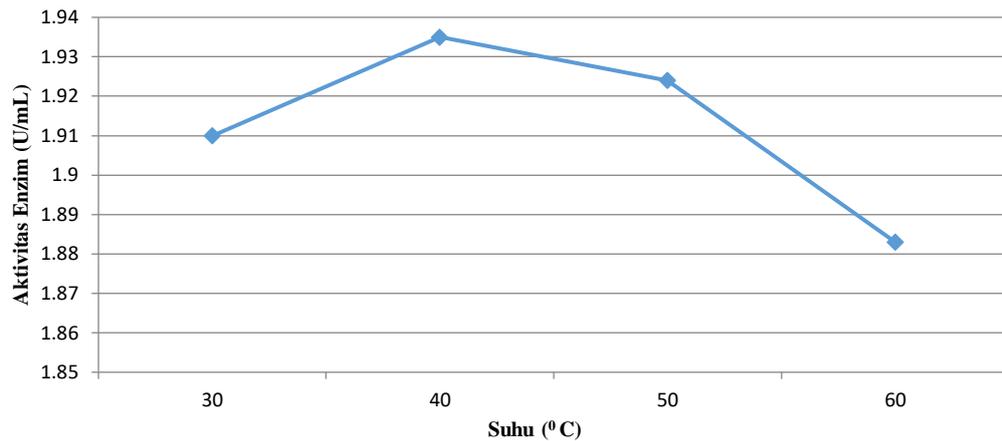
menghasilkan cAMP tidak terfosforilasi sehingga tidak aktif mengakibatkan kandungan cAMP dan kompleks cAMP-CRP dalam sel bakteri rendah. Komplek cAMP-CRP merupakan metabolit yang banyak terlibat dalam regulasi berbagai enzim yang diperkirakan berinteraksi dengan sedikitnya 378 promotor yang memainkan peran regulasi penting secara diantaranya adalah transpor selektif sumber (Shimada *et al.*, 2011). Karena itu, kehadiran glukosa dalam media nutrient broth (NB) yang digunakan dalam penelitian ini bisa menjadi senyawa penekan aktivitas cAMP-CRP. Peneliti lain menggunakan media tanpa glukosa dalam kultur untuk memproduksi enzim amilase, seperti LB (Kidds dan Pemberton, 2002), medium basal (Singh *et al.*, 2000), dan medium garam mineral (Onuorah *et al.*, 2020). Kemungkinan kedua adalah bakteri *A. hydrophilla* isolat M1S2 adalah termasuk isolat yang rendah dalam menghasilkan amilase. Singh *et al.*, (2000) mengisolasi empat isolat bakteri *A. hydrophilla* yang mempunyai kemampuan amilolitik yang berbeda. Selain itu, aktivitas amilase dikode oleh gen berganda (multiple) yang

aktivitasnya berbeda-beda (Kidds dan Pemberton, 2002).

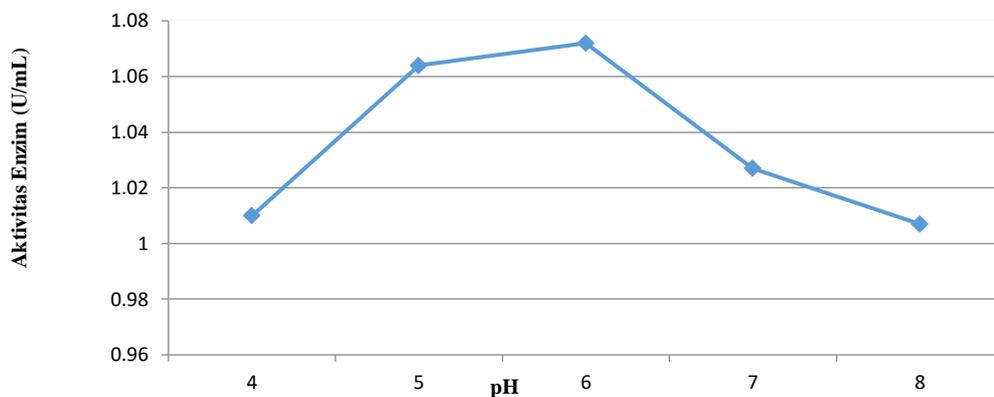
Aktivitas enzim yang diisolasi dari bakteri *A. hydrophilla* isolat M1S2 sangat dipengaruhi oleh suhu dan kadar keasaman. Aktivitas enzim tersebut pada media yang lebih tepat daripada media yang digunakan untuk pengukuran pada Tabel 1. Aktivitas enzim amilase diukur pada rentang suhu antara 30 °C sampai 60 °C menunjukkan optimal pada suhu 40 °C dengan nilai 1.935 (U/ml) (Gambar 3) dan 1.072 (U/ml) jika diukur pada pH 6. Nilai aktivitas optimum ini serupa dengan nilai yang ditunjukkan oleh enzim amilase yang dipurifikasi (Onuorah *et al.*, 2020) tetapi berbeda sedikit temperatur optimumnya. Enzim amilase tersebut tampak mempunyai rentang aktivitas pada pH dan temperatur yang cukup lebar. Rentang tersebut mempunyai nilai kemiripan dengan enzim amilase *A. hydrophilla* yang diisolasi dari tanah oleh Onuorah *et al.* (2020) tetapi berbeda dengan enzim amilase yang diperoleh dari spesies tersebut yang diisolasi dari dataran tinggi yang bersuhu rendah, yaitu antara 10 °C sampai 30 °C (Singh *et al.*, 2000). Karakteristik enzim ini juga berbeda dengan yang diperoleh

dari bakteri termofilik seperti *Bacillus* sp, (Cordeiro, *et al.* 2002) dan *Thermus* sp. (Fatoni and Zufahair, 2012) yang aktivitasnya optimum masing-masing pada pH 7,5 ; 70 °C dan pH8.0 dan 60 °C. Hasil yang diperlihatkan oleh

beberapa peneliti tadi mengindikasikan bahwa enzim amilase mempunyai karakter yang beragam yang aktivitasnya sesuai dengan kondisi lingkungan hidup bakterinya.



**Gambar 3.** Aktivitas enzim amilase dari *A. hydrophilla* isolat M1S2 pada berbagai suhu reaksi.



**Gambar 4.** Aktivitas enzim amilase dari *A. hydrophilla* isolat M1S2 pada berbagai derajat pH.

### KESIMPULAN

Bakteri *Aeromonas hydrophila* isolat M1S2 yang diperoleh dari rawa Mandiangin Kalimantan Selatan menunjukkan kemampuan

mensekresikan enzim yang dapat mendigesti amilum. Enzim amilolitik yang diisolasi menunjukkan aktivitas spesifik 0.1634 U/mg dengan aktivitas optimum pada pH 6 dan suhu 40 °C.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Agustien, 2010 *Protease Bakteri Termofilik*. Universitas Padjajaran, Bandung.
- Amri, E., N. Widhyastuti & I. M. Artika. 2010. Aktivitas Amilase Bakteri yang Diisolasi dari Sumber Air Panas Ciseeng Bogor. *Jurnal Saintek*. **2(1)**: 23-33.
- 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, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Badan Pusat Statistik Provinsi Kalimantan Selatan. 2014. Kalimantan Selatan dalam Angka. Badan Pusat Statistik Provinsi Kalimantan Selatan, Banjarmasin.
- Bradford, MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. **72**:248-54.
- Charmier, L.M.J., C. McLoughlin and B. V. McCleary. 2021. Diastatic power and maltose value: a method for the measurement of amyolytic enzymes in malt. *J. Inst. Brew.* 1-18.
- Cordeiro, C. A. M., M. L. L. Martins, A. B. Luciano. 2002. Production and properties of  $\alpha$ -amylase from thermophilic *Bacillus* sp. *Brazilian Journal of Microbiology*. **33**:57-61.
- Diaz, A., C. Sieiro & Villa. 2003. The Characterization of  $\beta$ -Amylase Produced by *Xyrophylomyces dendrorhous*. *Letters in Applied Microbiology*. **36**: 203-207.
- Enny, W. 2008. Peranan Mikroba Tanah pada Kegiatan Rehabilitasi Lahan Bekas Tambang. *Jurnal Info Hutan*. **5(2)**: 151.
- Fahmi, I., W. Astuti & S. Sitorus. 2017. Isolasi Amilase dari Kecambah Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam). *Jurnal Atomik*. **2(1)**: 140-142.
- Fatoni, A dan Zufahair. 2012. Thermophilic amylase from *Thermus* sp. isolation and its potential application for bioethanol production. *Songklanakar J. Sci. Technol.* **34** (5), 525-531.
- Kidd, S.P. and J.M. Pemberton. 2002. The cloning and characterization of a second  $\alpha$ -amylase of *A. hydrophila* JMP636. *Journal of Applied Microbiology*. **92**: 289–296.
- Kumakura, D., R. Yamaguchi, A. Hara, S. Nakaoka. 2023. Disentangling the growth curve of microbial culture. *Journal of Theoretical Biology*. **573** (2023): 111597
- Liu, S. 2017. Chapter 7 – Enzymes. in. *Bioprocess Engineering (Second Edition) Kinetics, Sustainability, and Reactor*

- Design. 297-373.  
Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63783-3.00007-1>.
- Nangin, D & A. Sutrisno. 2015. Enzim Amilase Pemecah Pati Mentah Dari Mikroba: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **3(3)**: 1032-1039.
- Nurkhotimah. 2017. Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri Termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Prodi Biologi*. **6(8)**: 465-471.
- Onuorah S., E. Judith, O. Frederick. 2020. Inhibitor and Starch Concentration on Effects of pH, Temperature, Metal Salts, Enzym Alpha Amylase Derived From *Aeromonas Hydrophila*. *International Journal of Advanced Technology & Science*. **01 (01)**: 144-160.
- Purnawan, A., Y. Capriyanti., P. A. Kurniatin., N. Rahmani & Yopi. 2015. Optimasi Produksi Enzim Amilase dari Bakteri Laut Jakarta. *Jurnal Biologi Indonesia*. **11(2)**: 215-224.
- Robia & A. Sutrisno. 2015 Karakteristik Sirup Glukosa dari Tepung Ubi Ungu (Kajian Suhu Likuifikasi dan Konsentrasi  $\alpha$ -Amilase). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **3(4)**: 1531-1537.
- Setyati, W. A & Subagiyo. 2012. Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler (Proteolitik, Amilolitik, Lipolitik dan Selulolitik) yang Berasal dari Sedimen Kawasan Mangrove. *Ilmu Kelautan*. **17(3)**: 164-168.
- Shrestha, S., C. Chio, J. R. Khatiwada, A. L. M. Kognou and W. Qin. 2022. Optimization of multiple enzymes production by fermentation using lipid-producing *Bacillus* sp. *Front. Microbiol.* **13**:1049692. doi: 10.3389/fmicb.2022.1049692
- Singh, L., M. S. Ram., M. K. Agarwal & S. I. Alam. 2000. Characterization of *Aeromonas hydrophila* Strains and Their Evaluation for Biodegradation of Night Soil. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. **16**: 625-630.
- Susilawati, I. O., H. S. Nur & W. Imaningsih. 2017. Analisis Aktivitas Enzim Amilase yang Berasal dari Bakteri Asidofilik dan Termofilik di Lahan Basah Kalimantan Selatan. *Laporan Penelitian*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.
- Taufik, M., W. Astuti & Erwin. 2017. Penapisan Bakteri Termofilik Penghasil Amilase dari Sumber Air Panas Dondang di Kecamatan Muara Jawa. *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2017*. ISBN 978-602-50942-0-0.