

ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM AMILASE DARI BIJI NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*)

NITA PUSPITA TAZKIAH¹, TINA DEWI ROSAHD^{1*}, DAN ASEP SUPRIADIN¹

¹Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati Bandung,
Jl. A.H. Nasution No. 105, Bandung

*Email korespondensi: tina_dr@uinsgd.ac.id

Informasi Artikel	Abstrak/Abstract
Riwayat Naskah : Diterima pada 24 Mei 2017 Diterima setelah direvisi pada 28 Juni 2017 Diterbitkan pada 30 Juni 2017	Amilase merupakan enzim perombak pati yang dibutuhkan oleh tubuh. Amilase dapat diisolasi dari berbagai tumbuhan, misalnya biji-bijian. Pada penelitian ini amilase diisolasi dari biji nangka, karena biji nangka tidak banyak dikonsumsi sehingga menjadi limbah. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi amilase dari biji nangka. Amilase diekstraksi dengan buffer fosfat 50 mM pada pH 7,5. Amilase difraksinasi dengan metode <i>salting out</i> dengan ammonium sulfat (NH ₄) ₂ SO ₄ , kemudian didialisis dengan buffer fosfat. Aktivitas amilase dari biji nangka ditentukan dengan menggunakan metode Fuwa dan konsentrasi protein diukur dengan metode Bradford. Aktivitas spesifik yang paling tinggi diperoleh pada tingkat kejenuhan 50% dengan aktifitas spesifik 2,12 U/mg. pH optimum amilase berada pada pH 6, dengan aktivitas spesifik sebesar 2,52 Unit/mg, sedangkan suhu optimumnya berada di suhu 50 °C dengan aktivitas spesifik 2,52 Unit/mg.
Kata Kunci: Amilase; biji nangka; dialysis; metode Fuwa; metode Bradford; <i>salting out</i>	
<i>Keywords: Amilase; jackfruit seeds; dialysis; Fuwa method; Bradford method; salting out</i>	<i>Amylase is a starch enzyme needed by the body. Amylase can be isolated from various plants, such as seeds. In this study amylase was isolated from jackfruit seeds, because jackfruit seeds were not consumed so much that it became waste. This study aims to characterize amylase from jackfruit seeds. Amylase was extracted with 50 mM phosphate buffer at pH 7.5. Amylase is fractionated by salting out method with ammonium sulfate (NH₄)₂SO₄, then dialyzed with phosphate buffer. Amylase activity from jackfruit seeds was determined using the Fuwa method and protein concentration was measured by Bradford method. The highest specific activity was obtained at 50% saturation level with specific activity 2.12 U/mg. The optimum pH of amylase is at 6, with a specific activity of 2.52 Units/mg, while the optimum temperature is at 50°C with a specific activity of 2.52 Units/mg.</i>

PENDAHULUAN

Enzim merupakan biomolekul yang berfungsi untuk mempercepat jalannya reaksi metabolisme di dalam tubuh makhluk hidup tanpa mempengaruhi keseimbangan reaksi. Enzim tidak ikut bereaksi, struktur enzim tidak berubah baik sebelum dan sesudah reaksi [1].

Enzim bekerja pada substrat (reaktan) dan mengubahnya menjadi hasil (produk). Daerah pada enzim yang mengikat suatu substrat disebut dengan sisi aktif. Tingkat selektivitas yang tinggi memungkinkan sel mengendalikan reaksi-reaksi metabolisme dengan mengatur bentuk dan jumlah enzim yang dihasilkan [2].

Enzim yang berperan dalam mengubah karbohidrat kompleks adalah karbohidrase, amilase, dan selulase. Amilase adalah enzim yang berfungsi memecah zat tepung dan polisakarida lainnya menjadi monosakarida, bentuk gula yang dapat diserap tubuh. Selain itu, kini amilase banyak digunakan pada proses industri.

Amilase terdiri dari tiga jenis, yaitu: α -amilase, β -amilase dan γ -amilase [3]. α -amilase terdapat dalam saliva (ludah) dan pankreas. Enzim ini memecah ikatan 1-4 yang terdapat dalam amilum dan disebut endo amilase karena memecah bagian dalam atau bagian tengah molekul amilum. β -amilase terdapat pada tumbuhan dan dinamakan ekso amilase, sebab memecah dua unit glukosa yang terdapat pada ujung molekul amilum secara berurutan sehingga pada akhirnya membentuk maltosa. γ -amilase terdapat dalam hati. Enzim ini dapat memecah ikatan 1-4 dan 1-6 pada glikogen dan menghasilkan glukosa [3].

Amilase sangat berperan dalam industri pembuatan roti, sirup, tekstil dan farmasi [4] Seiring dengan meningkatnya penggunaan amilase, maka perlu dicari sumber amilase dari bahan baku yang mudah didapat. Salah satu bahan yang memiliki potensi untuk dieksploitasi sebagai sumber enzim amilase adalah biji nangka.

Pada penelitian ini digunakan biji nangka sebagai sumber untuk mendapatkan amilase. Biji nangka dipilih karena memiliki kadar amilum yang cukup tinggi, yaitu 36,7 gram per 100 g biji nangka. Pemilihan biji nangka juga merupakan bentuk pemanfaatan limbah.

EKSPERIMEN

Material

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji nangka, buffer fosfat 50 mM pH (5, 6, dan 7), larutan iodium (mengandung KI 2% dan I₂ 0,2%), HCl 1 M, akuades, ammonium sulfat (p.a, merck), pati (p.a, merck), membran selofan (SERVA diameter 21 mm), benang kasur, pereaksi *Coomassie Brilliant Blue* (pereaksi Bradford), standar BSA (*Bovine Serum Albumin*).

Instrumentasi

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometri UV visible (*Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis*

Prosedur Kerja

Ekstraksi Amilase

Biji nangka dibersihkan kemudian sebanyak 300 gram biji nangka diblender dengan ditambahkan 600 mL buffer fosfat 50 mM pH 7,5 selama 10 menit. Bubur biji nangka disaring dan didekantasi sehingga terpisah antara ekstrak dan endapan pati. Ekstrak selanjutnya disentrifugasi dengan putaran 4000 rpm selama 15 menit [5]. Supernatan yang diperoleh diuji aktivitas dan konsentrasi protein totalnya. Supernatan yang dihasilkan disebut sebagai ekstrak kasar.

Uji Aktivitas dan Konsentrasi Amilase dari ekstrak kasar

Aktivitas ekstrak kasar diuji menggunakan metode Fuwa. Sebanyak 250 µL larutan pati 3% dalam buffer fosfat 50 mM pH 7,5 ditambah 250 µL larutan enzim dan diinkubasi pada suhu 50 °C selama 10 menit. Campuran ditambah 250 µL larutan HCl 1M, 250 µL larutan iodium (mengandung 2% KI dan 0,2% I₂) dan diencerkan dengan akuades hingga volume 5 mL. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 600 nm [6].

Kadar protein total diuji dengan metode Bradford. Sebanyak 500 µL ekstrak enzim dan 500

µL pereaksi Bradford divortex, diinkubasi selama 5-10 menit pada suhu ruang. Kemudian diukur pada absorbansi 595 nm [7]. Kadar protein total ditentukan berdasarkan kurva standar protein. Standar protein yang digunakan yaitu BSA.

Fraksinasi Amilase dengan Salting Out

Larutan enzim dimasukkan ke dalam tabung ditambahkan larutan ammonium sulfat hingga mencapai 50% jenuh. Campuran diaduk dan didiamkan selama 5 menit pada suhu kamar, kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung yang baru. Endapan yang terbentuk disebut fraksi 50% ammonium sulfat jenuh. Endapan dilarutkan dengan buffer fosfat 50 mM pH 7,5. Garam ammonium sulfat ditambahkan ke dalam supernatan dari tahap sebelumnya hingga mencapai 55% jenuh. Campuran diaduk dan didiamkan selama 5 menit pada suhu kamar. Campuran disentrifugasi selama 15 menit. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung baru. Endapan terbentuk disebut fraksi 55% ammonium sulfat jenuh. Endapan dilarutkan dengan buffer fosfat mM pH 7,5. Garam ammonium sulfat ditambahkan ke dalam supernatan dari tahap sebelumnya hingga mencapai 60% jenuh. Campuran diaduk dan didiamkan selama 5 menit pada suhu kamar. Campuran disentrifugasi selama 15 menit. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung baru. Endapan yang terbentuk disebut dengan fraksi 60% ammonium sulfat jenuh. Endapan dilarutkan dengan buffer fosfat 50mM pH 7,5, kemudian setiap fraksi ammonium sulfat yang dihasilkan didialisis dengan menggunakan buffer fosfat 50 mM pH 7,5 selama 3 jam, dengan mengganti larutan buffer fosfat setiap 1 jam sekali.

Pemurnian Amilase dengan Dialisis

Membran selofan direbus dalam buffer fosfat 50 mM pH 7,5 selama 5 menit setelah larutan buffer mendidih. Salah satu ujung selofan diikat dengan benang, kemudian larutan enzim tiap fraksi dimasukkan ke dalam masing-masing membran selofan yang berbeda. Selanjutnya proses dialisis dilakukan dengan merendam kantong selofan berisi larutan enzim dalam buffer fosfat 50 mM pH 7,5 sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu 5 °C dan setiap 1 jam sekali larutan buffer fosfat harus diganti selama 3 jam [8]. Larutan enzim yang telah mengalami dialisis, diuji kembali aktivitas dan kadar protein totalnya. Prosedur yang digunakan sama dengan uji aktivitas amilase dan kadar protein total dari ekstrak kasar.

Karakterisasi Enzim Amilase

Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim Amilase

Sebanyak 250 μ L larutan pati 3% dalam buffer fosfat 50 mM (pH 5,6,7, dan 8), ditambahkan 250 μ L larutan enzim, ditambahkan 250 μ L HCl 1 M, 250 μ L larutan Iodium (mengandung 2% KI dan 0,2% I_2) dan diencerkan dengan akuades hingga volume 5 mL. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 600 nm.

Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim Amilase

Sebanyak 250 μ L larutan pati 3% dalam buffer 50 mM pH 7,5 ditambahkan 250 μ L larutan enzim dan diinkubasi pada suhu 40 °C, 50 °C, 60 °C, dan 70 °C selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 250 μ L HCl 1M, 250 μ L Larutan Iodium (mengandung 2% KI dan 0,2% I_2) dan diencerkan dengan akuades hingga volume 5 mL. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 600 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Amilase dari Biji Nangka

Ekstraksi dilakukan dengan cara homogenisasi dengan blender menggunakan larutan buffer fosfat 50 mM pH 7,5. Penggunaan larutan buffer fosfat adalah untuk menghindari terjadinya enzim terdenaturasi akibat pH yang berubah. Pemilihan pH 7,5 karena mendekati netral. Proses penghalusan dimaksudkan untuk merusak jaringan dan dinding sel, sehingga isi sel dapat keluar. Pada proses penghalusan ini dilakukan pada suhu dingin, yaitu untuk menjaga agar enzim tidak terdenaturasi. Biji nangka yang telah hancur kemudian didekantasi untuk memisahkan larutan dengan endapan.

Larutan yang diperoleh kemudian disentrifugasi. Sentrifugasi bertujuan untuk memisahkan larutan berdasarkan berat molekul protein penyusun organel sel. Hasil dari sentrifugasi ekstrak kasar berada di bagian atas (supernatan), sementara organel-organel sel mengendap dibagian bawah. Amilase yang didapat merupakan amilase ekstrak kasar, yang kemudian perlakuannya dibedakan yaitu salah satu sampel ekstrak kasar disimpan pada suhu 4 °C dan sampel yang lainnya disimpan pada suhu -20 °C. Pada kedua ekstrak kasar amilase ini kemudian dilakukan uji aktivitas amilase dan uji kadar protein total.

Uji aktivitas amilase menggunakan metode Fuwa. Ekstrak kasar enzim ditambahkan dengan larutan pati kemudian di panaskan pada suhu 50 °C selama 10 menit. Pemanasan bertujuan agar enzim mencapai suhu optimum yang akan meningkatkan kecepatan reaksi. Kemudian campuran ditambahkan HCl untuk menghentikan aktivitas enzim, dan ditambahkan larutan KI yang akan menghasilkan kompleks heliks berwarna biru antara amilosa dengan reagen iodin [9]. Pada sampel yang diuji warna biru berkurang karena sebagian pati telah terhidrolisis oleh amilase. Konsentrasi pati yang telah dihidrolisis oleh amilase dihitung dengan menggunakan kurva standar pati. Hasil penentuan aktivitas amilase ekstrak kasar dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Aktivitas amilase dari ekstrak biji nangka yang disimpan pada suhu 4 °C sebesar 0,56 U/mL, sedangkan sampel amilase ekstrak kasar yang disimpan pada suhu -20 °C aktivitasnya 0,60 U/mL. Aktivitas amilase yang disimpan pada suhu -20 °C lebih besar bila dibandingkan dengan aktivitas amilase yang disimpan pada suhu 4 °C. Hal ini dikarenakan pada suhu -20 °C enzim lebih terjaga dengan adanya proses pembekuan, enzim menjadi inaktif. Sedangkan pada ekstrak kasar yang disimpan pada suhu 4 °C amilase kurang stabil sehingga nilai aktivitasnya lebih kecil.

Pada penentuan kadar protein total menggunakan metode Bradford, larutan ekstrak kasar ditambahkan dengan reagen Bradford yaitu CBB (*Coomassie Brilliant Blue*), dan membentuk kompleks CBB-protein yang berwarna biru. Pembentukan kompleks karena adanya ikatan antara pewarna CBB dengan residu arginin, histidin, lisin, tirosin, triptofan, fenilalanin dan residu asam amino hidrofobik yang ada pada protein sehingga menghasilkan warna biru. Warna biru tersebut kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 595 nm [10].

Bovine Serum Albumin (BSA) digunakan sebagai standar untuk pengukuran kadar protein karena tingkat kemurniannya tinggi. Hasil penentuan kadar protein total selanjutnya digunakan untuk menghitung aktivitas spesifik amilase ekstrak kasar. Perhitungan aktivitas spesifik yaitu aktivitas enzim dibagi dengan hasil dari kadar protein total, dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Pada **Tabel 1** unit aktivitas enzim dinyatakan dengan 1 mg pati yang terhidrolisis oleh 25 μ L enzim selama 10 menit pada suhu 50 °C. Dari perhitungan didapatkan nilai aktivitas spesifik untuk amilase ekstrak kasar yang disimpan pada suhu 4 °C yaitu 1,50 U/mg, sedangkan aktivitas spesifik amilase ekstrak kasar yang disimpan pada suhu -20 °C yaitu 1,99 U/mg.

Tabel 1. Data hasil penentuan kadar protein total dan aktivitas spesifik amilase ekstrak kasar

Sampel	Aktivitas Enzim Unit/mL	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
Suhu 4 °C	0,56	0,372	1,50
Suhu -20 °C	0,60	0,302	1,99

Fraksinasi dengan Ammonium Sulfat (Salting out)

Ekstrak kasar enzim yang diperoleh selanjutnya dipisahkan dengan fraksinasi bertingkat. Ekstrak kasar enzim yang digunakan yaitu ekstrak kasar enzim yang disimpan pada suhu -20°C, karena memiliki nilai aktivitas spesifik yang lebih besar.

Proses fraksinasi menggunakan garam ammonium sulfat. Garam yang paling umum digunakan untuk pemurnian enzim adalah garam yang meningkatkan hidrasi daerah hidrofil dan dehidrasi daerah hidrofob pada protein. Anion yang masuk kedalam kategori ini adalah anion polivalen seperti sulfat. Untuk kation dipilih yang tidak memiliki kemungkinan untuk mengadakan kompleks dengan protein, maka semua ion metal polivalen tidak dapat digunakan [10]. Dengan penambahan ammonium sulfat, ion-ion garam akan bersaing dengan protein untuk berikatan dengan molekul air sehingga protein-protein enzim banyak yang terendapkan (*salting out*).

Penggunaan garam ammonium sulfat sebagai *salting out* karena garam ini dapat merusak mantel air yang terdapat disekitar enzim (protein) sehingga protein akan membentuk koagulan. Selain itu ammonium sulfat memiliki tingkat kelarutan didalam air yang sangat tinggi, tidak mengandung zat-zat yang toksik terhadap kebanyakan enzim, harganya relatif murah dan jika digunakan dalam jumlah banyak dapat sebagai stabilisator enzim itu sendiri [11].

Fraksinasi bertingkat dengan garam ammonium sulfat dilakukan pada tingkat kejenuhan 50% (fraksi I), 55% (fraksi II), dan 60% (fraksi III). Ketiga fraksi ini selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm dengan waktu 15 menit. Endapan yang diperoleh kemudian di larutkan dengan buffer fosfat 50 Mm pH 7,5 kemudian di dialisis.

Dialisis dalam Membran Selofan

Proses dialisis bertujuan untuk menghilangkan kadar garam ammonium sulfat yang ditambahkan pada proses fraksinasi. Dialisis dilakukan dengan menggunakan membran selofan

yang dapat dilalui oleh partikel-partikel kecil, seperti ion-ion garam, tetapi dapat menahan molekul enzim.

Sebelum digunakan membran selofan direbus dengan menggunakan buffer fosfat pH 7,5 50 mM. Proses perebusan yaitu untuk membuka membran selofan yang tertutup serta menghilangkan lemak serta pengotor lainnya. Proses dialisis dilakukan dengan merendam membran selofan yang telah diisi larutan enzim hasil fraksi dengan larutan buffer fosfat pH 7,5 dengan konsentrasi 50 mM selama 3 jam, sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu 5°C, mengingat enzim mudah terdenaturasi.

Larutan buffer fosfat diganti setiap 1 jam sekali, hal ini bertujuan agar ion-ion garam yang sudah melewati membran selofan tidak kembali masuk kedalam membran dan hal ini merupakan salah satu cara untuk mempercepat pergerakan molekul [12].

Hasil dari proses dialisis disebut sebagai fraksi amilase. Fraksi amilase ini kemudian diuji aktivitas enzim dengan metode Fuwa dan uji kadar protein totalnya dengan metode Bradford dan hasilnya digunakan untuk menghitung aktivitas spesifik amilase seperti pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Data hasil penentuan kadar protein dan aktivitas spesifik enzim setelah dialisis

Fraksinasi dengan Ammonium Sulfat	Aktivitas Enzim Unit/mL	Protein Total (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg)
Fraksi I (50%)	0,16	0,0755	2,12
Fraksi II (55%)	0,12	0,063	1,904
Fraksi III (60%)	0,08	0,048	1,67

Dari **Tabel 2** didapat aktivitas enzim spesifik tertinggi yaitu pada fraksi I dengan kejenuhan ammonium sulfat 50% yaitu 2,12 Unit/mg, sedangkan aktivitas spesifik enzim terendah yaitu pada fraksi III dengan tingkat kejenuhan ammonium sulfat 60% yaitu 1,67 Unit/mg. Pada penelitian ini fraksi 50% memiliki aktivitas spesifik lebih besar, hal ini menunjukkan pada fraksi ini enzim telah terendapkan dengan baik.

Aktivitas spesifik pada fraksi amilase meningkat bila dibandingkan dengan nilai aktivitas spesifik ekstrak kasar. Peningkatan aktivitas spesifik menunjukkan enzim yang diperoleh semakin murni.

Karakterisasi Amilase dari Biji Nangka

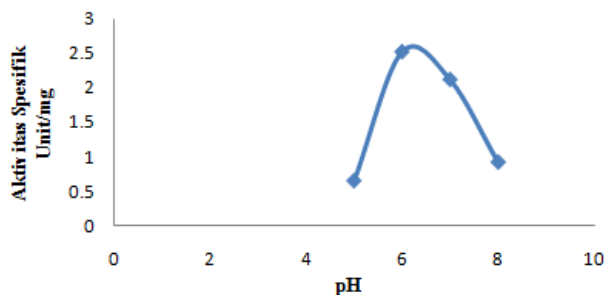
Penentuan pH optimum dilakukan menggunakan metode Fuwa seperti pada uji

aktivitas amilase. Untuk karakterisasi pH terhadap aktivitas enzim digunakan buffer fosfat pada berbagai yaitu pH 5, 6, 7, dan 8.

Untuk penentuan suhu optimum digunakan metode Fuwa. Sebelum dilakukan pengujian, sampel yang ditambahkan larutan pati dalam buffer fosfat diinkubasi dengan variasi suhu yaitu 40°C, 50°C, 60°C, dan 70°C

pH Optimum

Hasil penentuan didapatkan pH optimum dari fraksi amilase adalah pada pH 6 seperti pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Grafik pengaruh pH terhadap aktivitas spesifik amilase dari biji nangka

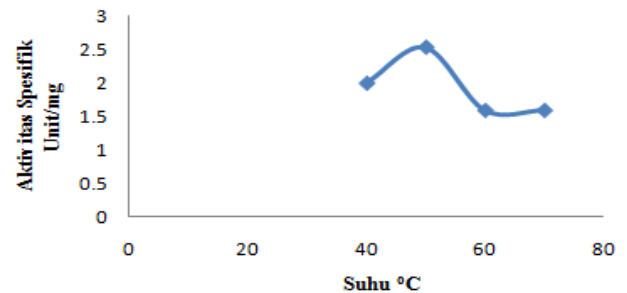
Dari grafik tersebut diketahui bahwa aktivitas amilase mencapai pH optimum 6 dengan aktivitas spesifik sebesar 2,52.

Unit/mg dan kembali menurun pada pH 7-8. Setiap enzim memiliki pH optimum dimana pada pH tersebut struktur tiga dimensinya paling kondusif untuk mengikat substrat. Jika konsentrasi ion hidrogen berubah dari konsentrasi optimal, maka aktivitas enzim secara progresif hilang hingga pada akhirnya enzim menjadi tidak aktif [13]. Aktivitas enzim menurun pada pH 7-8 karena berubahnya keadaan ion substrat dan enzim^[14]. Perubahan tersebut dapat terjadi pada residu asam amino yang berfungsi untuk mempertahankan struktur tersier dan kuaterner enzim aktif. Perubahan struktur tersier dapat mengakibatkan sisi hidrofobik yang awalnya tersimpan pada bagian dalam molekul enzim menjadi terbuka, sehingga kelarutan enzim berkurang. Berkurangnya kelarutan enzim dapat menurunkan aktivitas katalitik enzim secara perlahan.

Suhu Optimum

Nilai aktivitas amilase dari hasil penentuan suhu optimum dapat dilihat pada **Gambar 2**. Aktivitas amilase meningkat seiring dengan peningkatan suhu inkubasi, namun setelah mencapai suhu maksimum aktivitasnya menurun. Pada suhu 40°C aktivitas amilase dari biji nangka sebesar 1,99 Unit/mg sedangkan pada suhu 50°C

aktivitas amilase mengalami peningkatan yaitu 2,52 Unit/mg, namun pada suhu 60°C dan 70°C mengalami penurunan yang cukup signifikan yaitu sebesar 1,59 Unit/mg. dari hasil ini didapatkan bahwa suhu optimum amilase dari biji nangka yaitu 50°C.



Gambar 2. Grafik pengaruh suhu terhadap aktivitas spesifik amilase

Enzim mempunyai suhu tertentu yang menyebabkan aktivitasnya mencapai keadaan optimum. Ketika suhu bertambah sampai suhu optimum, kecepatan reaksi enzim naik karena energi kinetik bertambah. Selain meningkatkan energi kinetik, bertambahnya suhu juga akan meningkatkan frekuensi tumbukan antara molekul enzim dan substrat, sehingga enzim menjadi aktif. Bertambahnya suhu yang melebihi batas suhu optimum dapat menyebabkan enzim terdenaturasi dan mematikan aktivitas katalisnya [14]. Suhu yang melebihi batas optimum juga akan menyebabkan substrat berubah konformasinya, sehingga substrat tidak dapat masuk kedalam sisi aktif enzim. Hal tersebut akan mengakibatkan aktivitas enzim turun karena tidak terbentuknya kompleks enzim substrat, sehingga konsentrasi enzim rendah.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Aktivitas spesifik amilase ekstrak kasar pada suhu 4°C sebesar 1,50 U/mg dan pada suhu -20°C sebesar 1,99 U/mg. Aktivitas spesifik amilase pada hasil fraksinasi yaitu pada fraksi 50% sebesar 2,12 Unit/mg, fraksi 55% yaitu 1,904 Unit/mg dan fraksi 60% yaitu 1,67 Unit/mg.
2. pH optimum amilase pada fraksi 50% dari biji nangka yaitu pada pH 6 dengan aktivitas spesifik sebesar 2,52 Unit/mg, sedangkan suhu optimum yaitu pada suhu 50°C dengan aktivitas spesifik 2,52 Unit/mg.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu, membimbing, dan mendukung selama proses penelitian dan penyusunan artikel ini.

REFERENSI

- [1] Dessy Christina Sianturi, "Isolasi Bakteri dan Uji aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Penen Sibrubiru Sumatera Utara," Universitas Sumatera Utara, Medan, Tesis 2008.
- [2] Prasanna V Aiyer, "Amylases and Their Application," *African Journal of Biotechnology*, vol. 4, no. 13, pp. 1525-1529, Desember 2005.
- [3] Anna Poedjiadi and Titin Supriyanti, *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta, Indonesia: UI-Press, 2006.
- [4] P M Gaman and K B Sherrington, *Ilmu Pangan: Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi, dan Mikrobiologi*, R B Kasmidjo, Ed. Yogyakarta, Indonesia: UGM-Press, 1992.
- [5] Aflukwa C A, Ibiam U A, Edeogu C O, Nweke F N, and Chukwu U E, "Determination of Amylase Activity of Crude Extract From Partially Germinated Mango Seeds (*Mangifera oraphila*)," *African Journal of Biotechnology*, vol. 8, no. 14, pp. 3294-3296, July 2009.
- [6] Zeily Nurachman, Alfredo Kono, Ocky Karna Radjasa, and Dessy Natalia, "Identification a Novel Raw-Starch-Degrading- α -Amylase from a Tropical Marine bacterium," *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, vol. 6, no. 4, pp. 300-306, 2010.
- [7] Khairul Anam, "Pengukuran Kadar Protein dengan Fraksinasi Amilase dengan Metode Bradford," Institut Pertanian Bogor, Bogor, 2010.
- [8] Mufti Mutia, Seniwati Dali, Rugaiyah Arfah, and Firdaus Zenta, "Isolasi dan Karakteristik Enzim Amilase dari Akar Rimpang Alang-Alang (*Imperata cylindrica*)," 2013.
- [9] Rani Gupta, Paresh Gigras, Harapriya Mohapatra, Vineet Kumar Goswami, and Bhavna Chauhan, "Microbial α -Amylases: A Biotechnological Perspective," *Process Biochemistry*, pp. 1-18, 2003.
- [10] Scopes , *Protein purification*. New York: Springer Verlag, 1982.
- [11] Lehninger , *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta, Indonesia: Erlangga, 2008.
- [12] R J Fessenden and J S Fessenden, *Kimia Organik Jilid 1*, 3rd ed. Jakarta, Indonesia: Erlangga, 1994.
- [13] M N Shahib, *Biologi Molekuler Jilid 1*. Bandung: Fakultas Kedokteran UNPAD, 2005.
- [14] S R Iswari and A Yuniastuti, *Biokimia*. Yogyakarta, Indonesia: Graha Ilmu, 2006.