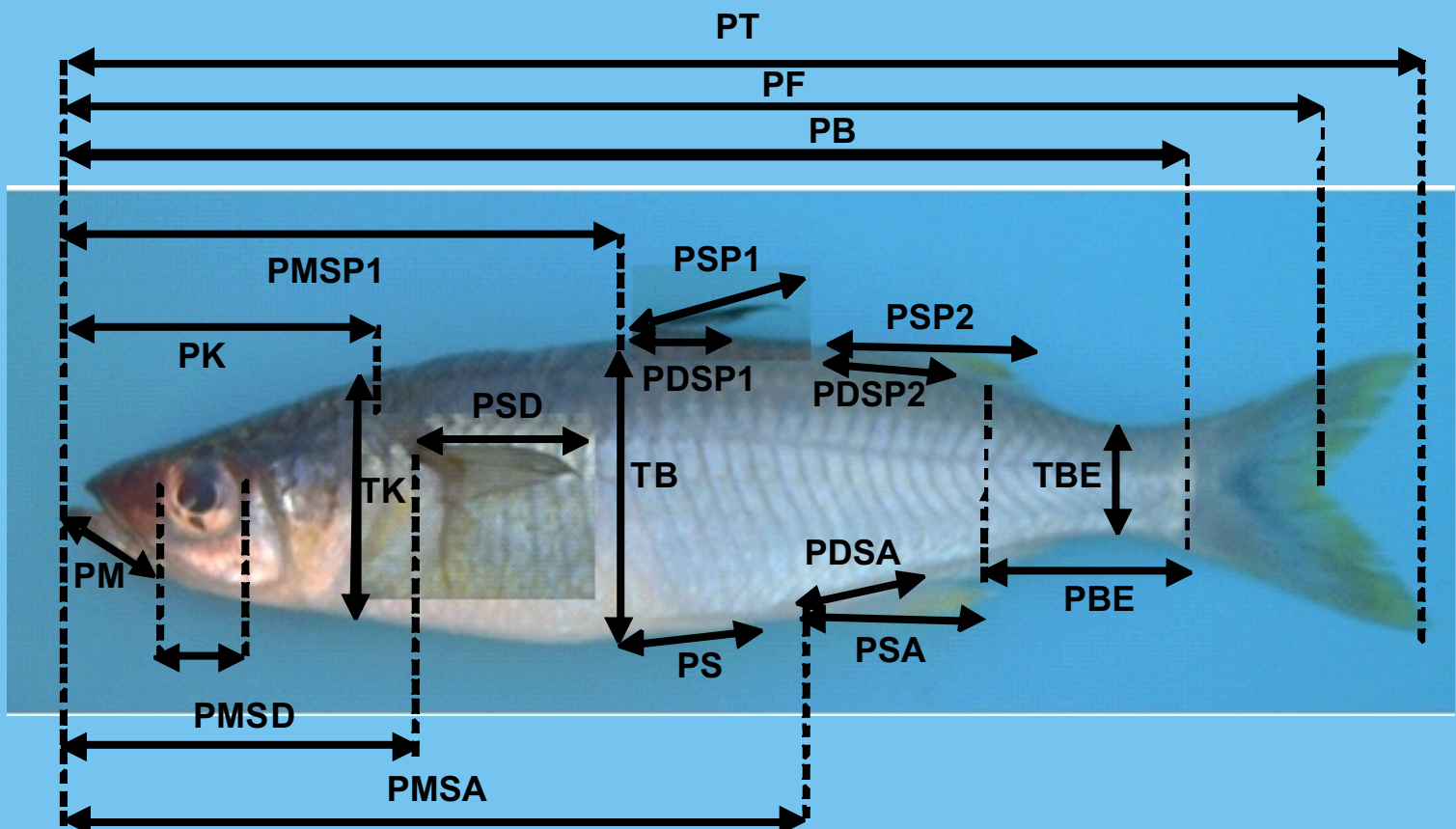


Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



Berita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekaryat-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Edi Mirmanto

Redaksi Pelaksana

Marlina Ardiyani

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan, Yosman

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan, surat-menyurat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarjo

Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)

Jln Raya Jakarta-Bogor Km 46,
Cibinong 16911, Bogor - Indonesia
Telepon (021) 8765066 - 8765067

Faksimili (021) 8765059

e-mail: berita.biologi@mail.lipi.go.id
ksama_p2biologi@yahoo.com
herbogor@indo.net.id

*Keterangan foto cover depan: Pola pengukuran karakter morfometrik ikan, sesuai makalah di halaman 563
(Foto: koleksi Pusat Penelitian Limnologi-LIPI – Syahroma H Nasution).*

Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Makalah berupa karangan ilmiah asli, berupa hasil penelitian (original paper), komunikasi pendek atau tinjauan ulang (review) dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain.
2. Bahasa: Indonesia baku. Penulisan dalam bahasa Inggris atau lainnya, dipertimbangkan.
3. Makalah yang diajukan tidak boleh yang telah dipublikasi di jurnal manapun ataupun tidak sedang diajukan ke jurnal lain. Makalah yang sedang dalam proses penilaian dan penyuntingan, tidak diperkenankan untuk ditarik kembali, sebelum ada keputusan resmi dari Dewan Redaksi.
4. Masalah yang diliput berisikan temuan penting yang mengandung aspek 'kebaruan' dalam bidang biologi dengan pembahasan yang mendalam terhadap aspek yang diteliti, dalam bidang-bidang:
 - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik/ taksonomi dan sebagainya).
 - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agrobioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri.
 - *Aspek/ pendekatan biologi* harus tampak jelas.
5. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
6. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
7. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
8. Tipe makalah
Makalah Lengkap Hasil Penelitian (original paper).
Makalah lengkap berupa hasil penelitian sendiri (original paper). Makalah ini tidak lebih dari 15 halaman termasuk gambar dan tabel. Pencantuman lampiran/*appendix* seperlunya. Redaksi berhak mengurangi atau meniadakan lampiran.
Komunikasi pendek (short communication)
Komunikasi pendek merupakan makalah pendek hasil riset yang oleh penelitiannya ingin cepat dipublikasi karena hasil temuan yang menarik, spesifik dan baru, agar lebih cepat diketahui umum. Berisikan pembahasan yang mendalam terhadap topik yang dibahas. Artikel yang ditulis tidak lebih dari 10 halaman. Dalam Komunikasi Pendek Hasil dan Pembahasan boleh disatukan.
Tinjauan kembali (Review)
Tinjauan kembali yakni rangkuman tinjauan ilmiah yang sistematis-kritis secara ringkas namun mendalam terhadap topik riset tertentu. Segala sesuatu yang relevan terhadap topik tinjauan sehingga memberikan gambaran “state of the art” meliputi kemajuan dan temuan awal hingga terkini dan kesenjangan dalam penelitian, perdebatan antarpeneliti dan arah ke mana topik riset akan diarahkan. Perhatikan kecerdasanmu dalam membuka peluang riset lanjut oleh diri sendiri atau orang lain melalui review ini.
9. Format makalah
 - a. Makalah diketik menggunakan huruf Times New Roman 12 point, spasi ganda (kecuali abstrak dan abstract 1 spasi) pada kertas A4 berukuran 70 gram.
 - b. Nomor halaman diletakkan pada sisi kanan bawah
 - c. Gambar dan foto maksimum berjumlah 4 buah dan harus bermutu tinggi. Gambar manual pada kertas kalkir dengan tinta cina, berukuran kartu pos. Foto berwarna akan dipertimbangkan, apabila dibuat dengan computer harus disebutkan nama programnya.
 - d. Makalah diketik dengan menggunakan program Word Processor.
10. Urutan penulisan dan uraian bagian-bagian makalah
 - a. Judul
Judul harus ringkas dan padat, maksimum 15 kata, dalam dwibahasa (Indonesia dan Inggris). Apabila ada subjudul tidak lebih dari 50 kata.
 - b. Nama lengkap penulis dan alamat koresponden
Nama dan alamat penulis(-penulis) lengkap dengan alamat, nomor telpon, fax dan email. Pada nama penulis(-penulis), diberi nomor superskrip pada sisi kanan yang berhubungan dengan alamatnya; nama penulis korespondensi (*correspondent author*), diberi tanda envelop (✉) superskrip. Lengkapi pula dengan alamat elektronik.
 - c. Abstrak dan Kata kunci

- Abstrak dan kata kunci ditulis dalam dwibahasa (Indonesia dan Inggris), maksimum 200 kata, spasi tunggal, tanpa referensi.
- d. Pendahuluan
Berisi latar belakang, masalah, hipotesis dan tujuan penelitian. Ditulis tanpa subheading.
 - e. Bahan dan cara kerja
Apabila metoda yang digunakan sudah baku dan merupakan ulangan dari metoda yang sudah ada, maka hanya ditulis sitiran pustakanya. Apabila dilakukan modifikasi terhadap metoda yang sudah ada, maka dijelaskan bagian mana yang dimodifikasi.
Apabila terdapat uraian lokasi maksi diberikan 2 macam peta, peta besar negara sebagai inset dan peta detil lokasi.
 - f. Hasil
Bagian ini menyajikan hasil utama dari penelitian. *Hasil* dipisahkan dari *Pembahasan*
 - g. Pembahasan
Pembahasan dibuat terpisah dari hasil tanpa pengulangan penyajian hasil penelitian. Dalam Pembahasan hindari pengulangan subjudul dari Hasil, kecuali dipandang perlu sekali.
 - h. Kesimpulan
Kesimpulan harus menjawab pertanyaan dan hipotesis yang diajukan di bagian pendahuluan.
 - i. Ucapan Terima Kasih
Ditulis singkat dan padat.
 - j. Daftar pustaka
Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya secara lengkap, jangan disingkat. Nama inisial pengarang tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
 - i. Jurnal
Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992. Leaf Water Relations, Osmotic Adjustment, Cell Membrane Stability, Epicuticular Wax Load and Growth as Affected by Increasing Water Deficits in Sorghum. *Journal of Experimental Botany* **43**, 1559-1576.
 - ii. Buku
Kramer PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
 - iii. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya
Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995. Pengamatan Beberapa Aspek Biologi Sotong Buluh (*Sepioteuthis lessoniana*) di Sekitar Perairan Pantai Wokam Bagian Barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
 - iv. Makalah sebagai bagian dari buku
Leegood RC and DA Walker. 1993. Chloroplast and Protoplast. In: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*. DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkamp, RC Leegood and SP Long (Eds), 268-282. Chapman and Hall. London.
11. Lain-lain menyangkut penulisan
- a. Gambar.
Lebar gambar maksimal 8,5 cm. Judul gambar menggunakan huruf Times New Roman ukuran 8 point.
 - b. Grafik
Untuk setiap perhitungan rata-rata, selalu diberikan standar deviasi. Penulis yang menggunakan program Excell harus memberikan data mentahnya.
 - c. Foto
Untuk setiap foto, harap diberikan skala bila perlu, dan berikan anak panah untuk menunjukkan suatu objek.
 - d. Tabel
Judul tabel harus ringkas dan padat. Judul dan isi tabel diketik menggunakan huruf Times New Roman ukuran 8 point. Seluruh penjelasan mengenai tabel dan isinya harus diberikan setelah judul tabel.
 - e. Gunakan simbol: ○ ● □ ■ △ ▲

- f. Semua nama biologi pada makhluk hidup yang dipakai, pada Judul, Abstrak dan pemunculan pertama dalam Badan teks, harus menggunakan nama yang valid disertai author/descriptor. (Burung Maleo – *Macrocephalon maleo* S. Müller, 1846; Cendana – *Santalum album* L.), atau yang tidak memiliki nama author *Escherichia coli*. Selanjutnya nama-nama biologi disingkat (*M. maleo*, *S. album*, *E. coli*).
 - g. Proof reading
Proof reading akan dikirim lewat e-mail/fax, atau bagi yang berdomisili di Bogor dan Komplek Cibinong Science Center (CSC-LIPI) dan sekitarnya, akan dikirim langsung; dan harus dikembalikan kepada dewan redaksi paling lambat dalam 3 hari kerja.
 - h. Reprint/ cetak lepas
Penulis akan menerima satu copy jurnal dan 3 reprint/cetak lepas makalahnya.
- 12. Seluruh makalah yang masuk ke meja redaksi Berita Biologi akan dinilai oleh dewan editor untuk kemudian dikirim kepada reviewer/mitra bestari yang terdaftar pada daftar reviewer BB. Redaksi berhak menjajagi pihak lain sebagai reviewer undangan.
 - 13. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (lihat alamat pada cover depan-dalam). Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga softcopy file dalam CD untuk kebutuhan Referee/Mitra bestari. Kirimkan juga filenya melalui alamat elektronik (e-mail) resmi Berita Biologi: berita.biologi@mail.lipi.go.id dan di-Cc-kan kepada: ksama_p2biologi@yahoo.com, herbogor@indo.net.id
 - 14. Sertakan alamat Penulis (termasuk elektronik) yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang dengan mudah dan cepat dihubungi.

Anggota Referee / Mitra Bestari

Mikrobiologi

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Udayana*)
Dr Joko Sulistyو (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Ocky Karna Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

Mikologi

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Kemtan*)
Dr Kartini Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Genetika

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Warid Ali Qosim (*Universitas Padjadjaran*)
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Taksonomi

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof (Ris) Dr Johanis P Mogea (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biologi Molekuler

Prof (Ris) Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Kemtan*)
Dr Hendig Winarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)
Prof (Ris) Dr I Made Sudiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Kemtan*)
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

Bioteknologi

Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)
Dr Endang T Margawati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Satya Nugroho (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)

Veteriner

Prof Dr Fadjar Satrija (*FKH-IPB*)

Biologi Peternakan

Prof (Ris) Dr Subandryo (*Pusat Penelitian Ternak-Kemtan*)

Ekologi

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Kemhut*)
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)
Dr Sih Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biokimia

Prof Dr Adek Zamrud Adnan (*Universitas Andalas*)
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Elfahmi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Herto Dwi Ariesyadi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Fisiologi

Prof Dr Bambang Sapto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)
Prof (Ris) Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biostatistik

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Perairan Darat/Limnologi

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Fauzan Ali (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-KKP*)

Biologi Tanah

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Kemtan*)

Biodiversitas dan Iklim

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr. Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Kelautan

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-KKP*)
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

DAFTAR ISI

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

PIRAMIDA UMUR DAN PENGELOMPOKAN POPULASI IKAN BONTI-BONTI (<i>Paratherina striata</i>) SECARA SPASIAL DI DANAU TOWUTI, SULAWESI SELATAN [Age Pyramids and Population Clustering of Bonti-bonti Fish (<i>Paratherina striata</i>) in Spatial Aspects in Lake Towuti, South Sulawesi] Syahroma Husni Nasution	563
KOMPOSISI KIMIA MINYAK ATSIRI PADA BEBERAPA TIPE DAUN TEMBAKAU (<i>Nicotiana tabaccum</i> L.) [Chemical Compound of Essential Oils from Several Types of Tobacco Leaves (<i>Nicotiana tabaccum</i> L.)] Elda Nurnasari dan Subiyakto.....	571
KARAKTERISASI DAN STUDI STABILISASI α-AMILASE <i>Bacillus licheniformis</i> TVII.6 MENGGUNAKAN BAHAN ADITIF [Characterization and Studies on Stabilization of α-Amylase of <i>Bacillus licheniformis</i> TVII.6 using Additives] Puji Lestari, Nur Richana dan Rosmimik	581
PATOGENESITAS <i>Streptococcus agalactiae</i> DAN <i>Streptococcus iniae</i> PADA IKAN NILA (<i>Oreochromis niloticus</i>) [Pathogenesitas of <i>Streptococcus agalactiae</i> and <i>Streptococcus iniae</i> in Nile Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)] Dudung Daenuri dan Walson Halomoan Sinaga	589
KLASIFIKASI VEGETASI GUNUNG ENDUT, TAMAN NASIONAL GUNUNG HALIMUN-SALAK, BANTEN [Vegetation Classification of Mount Endut, Gunung Halimun-Salak National Park, Banten] E.N. Sambas, C. Kusmana, L.B. Prasetyo dan T. Partomihardjo.....	597
RESPON PERTUMBUHAN DAN KETERGANTUNGAN <i>Albizzia saponaria</i> (LOUR.) MIQ TERHADAP INOKULASI FUNGI MIKORIZA ARBUSKULA LOKAL SULAWESI TENGGARA PADA MEDIA TANAH PASCA TAMBANG NIKEL [Response of Growth and Dependency of <i>Albizzia saponaria</i> (Lour.) Miq on Local Arbuscular Mycorrhizae Fungi from Southeast Sulawesi in Post-Nickel Mining Soil] Faisal Danu Tuheteru, Husna dan Asrianti Arif	605
KERAGAAN PERTUMBUHAN HIBRIDISASI EMPAT STRAIN IKAN MAS [Growth Performance of Four Strain Carp Hybridization] MH. Fariduddin Ath-thar, Vitas Atmadi Prakoso and Rudhy Gustiano.....	613
HETEROBLASTIC DEVELOPMENT IN SIX SPECIES OF WILD PIPER: <i>Piper baccatum</i> Blume, <i>Piper firmum</i> Blume, <i>Piper majusculum</i> C.DC, <i>Piper miniatum</i> Blume, <i>Piper</i> <i>crocatum</i> Ruiz & Pav. and <i>Piper retrofractum</i> Vahl. Astuti, I.P., E. Munawaroh, E.M.D. Rahayu, P. Aprilianti dan Sumanto..... 	621
INDUKSI KALUS DAN EMBRIOGENESIS SOMATIK IN VITRO PADA LAMTORO (<i>Leucaena leucocephala</i>) [In Vitro Callus Induction and Somatic Embryogenesis of <i>Leucaena leucocephala</i>] Yusri Sapsuha, Djoko Soetrisno dan Kustantinah	627
KEANEKARAGAMAN JA BAMBU DI PULAU SUMBA [Arbuscular Fungi of Bamboo in Sumba Island] Kartini Kramadibrata.....	635

EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI MIKORIZA INDIGEN ASAL TANAH BEKAS TAMBANG BATUBARA [Exploration and Identification of Indigenous Mycorrhiza of Ex-Coal Mining Soil] <i>Margarettha</i>	641
MORFOLOGI POLEN MARGA <i>Hornstedtia</i> Retz. (Zingiberaceae) DARI SUMATERA DAN IMPLIKASINYA DALAM TAKSONOMI [Pollen Morphology of the Genus <i>Hornstedtia</i> Retz. (Zingiberaceae) from Sumatra and its implication on Taxonomy] <i>Nurainas, Syamsuardi dan Ardinis Arbain</i>	649
EFEKTIFITAS FORMULASI PENGLEPASAN TERKENDALI (FPT) INSEKTISIDA DIMEHIPO TERHADAP PENGGEREK BATANG (<i>Scirpophaga incertulas</i>) PADA TANAMAN PADIDI DAERAH CIOMAS-BOGOR JAWA BARAT [Formulation Efectivity of Controlled Released Dimehipo Insecticides Against Rice Stem borer (RSB) <i>Scirpophaga incertulas</i> in Ciomas - Bogor West Java] <i>Sofnie M. Chairul, I Wayan Laba dan Benni Ernawan</i>	655
STUDI AGRONOMIS DAN MOLEKULER PADI UMUR GENJAH DAN SEDANG [Agronomics and Molecular Study on Early and Intermediate Maturity Rice] <i>Taslihah, Joko Prasetyono, Ahmad Dadang, Masdiar Bustamam dan Sugiono Moeljopawiro</i>	663
GENETIK IKAN BUJUK (<i>Channa lucius</i> Cuvier, Channidae) DARI PERAIRAN SUMATERA BARAT, JAMBI DAN RIAU BERDASARKAN MARKER DNA [Genetic of Snakehead Fish (<i>Channa lucius</i> Cuvier, Channidae) from West Sumatera, Jambi and Riau revealed by DNA Marker] <i>Azrita, Estu Nugroho, Hafrijal Syandri, Dahelmi dan Syaifullah</i>	675
PEMANFAATAN PURUN TIKUS (<i>Eleocharis dulcis</i>) SEBAGAI BIOFILTER PADA SALURAN INLET UNTUK PERBAIKAN KUALITAS AIR MASUK DI LAHAN SULFAT MASAM POTENSIAL [The Utilization Purun Tikus (<i>Eleocharis dulcis</i>) as Biofilter for Improvements Water Quality in Soil Acidic Sulphate] <i>Ani Susilawati dan Achmadi Jumberi</i>	681

KARAKTERISASI DAN STUDI STABILISASI α -AMILASE *Bacillus licheniformis* TVII.6 MENGGUNAKAN BAHAN ADITIF¹

[Characterization and Studies on Stabilization of α -Amylase of *Bacillus licheniformis* TVII.6 using Additives]

Puji Lestari^{2✉*}, Nur Richana³ dan Rosmimik⁴

²Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian

³Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen

⁴Balai Penelitian Tanah dan Klimatologi

*e-mail: lestari_71@yahoo.com

ABSTRACT

The limited stability of enzyme during long-term storage attributes to its reduced function. In this study, α -amylase from *Bacillus licheniformis* TVII.6 were formulated with different kind of additives for storage stabilization and better performance. Simultaneously, some minerals and calcium ion were applied to elucidate the inhibition and activation effects to α -amylase. Crude enzyme which was prepared by acetone precipitation was used for this stability test. It demonstrated that 10% of mannitol in citrate phosphate buffer gave the highest residual activity after 3 months of storage (98.5%). Calcium ion influenced the thermal stability of α -amylase and it gave optimum activity at 5 mM CaCl_2 , thus the stability increased from 76.0%/90°C/2 hours to 114.8%/90°C/2 hours in comparison without calcium ions. Calcium ions (5 mM CaCl_2) on the stability of α -amylase at 4°C also produced the highest residual activity, which remained 100% during 48 hours of incubation. Chemical compounds like FeSO_4 , Na_2CO_3 and EDTA acted as inhibitors, while $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, CuSO_4 , CoSO_4 , MgCl_2 and K_2HPO_4 did not inhibit activity of α -amylase. NaOH and MnCl_2 compounds at low concentrations (2 mM) did not inhibit the enzyme but at 10 mM became α -amylase inhibitors. This amylase stability information is very important as a consideration when applying and storing the enzyme, thereby reducing the degradation α -amylase activity.

Keywords: Additives, enzyme, α -amylase, *Bacillus licheniformis* TVII.6

ABSTRAK

Faktor keterbatasan stabilitas enzim pada penyimpanan jangka panjang menjadi penyebab menurunnya fungsi enzim. Dalam studi ini, α -amilase dari *Bacillus licheniformis* TVII.6 diformulasikan dengan berbagai jenis aditif untuk tujuan stabilisasi selama penyimpanan dan kinerja enzim yang lebih baik. Secara simultan, beberapa mineral dan ion kalsium diperlakukan untuk mengetahui efek inhibisi dan aktivasi terhadap α -amilase. Enzim kasar hasil pengendapan dengan aseton digunakan dalam uji stabilitas enzim ini. Hasilnya menunjukkan bahwa 10% manitol dalam bufer fosfat sitrat memberikan aktivitas sisa tertinggi setelah 3 bulan penyimpanan (98,5%). Ion kalsium mempengaruhi stabilitas termal α -amilase dan menghasilkan aktivitas optimal pada 5 mM CaCl_2 , sehingga stabilitas enzim meningkat dari 76,0%/90°C/2 jam menjadi 114,8%/90°C/2 jam dibandingkan tanpa ion kalsium. Pada uji stabilitas α -amilase di suhu 4°C, ion kalsium (5 mM CaCl_2) juga menghasilkan aktivitas sisa tertinggi, yaitu tetap stabil 100% selama 48 jam inkubasi. Senyawa kimia seperti FeSO_4 , Na_2CO_3 dan EDTA bertindak sebagai inhibitor, sedangkan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, CuSO_4 , CoSO_4 , MgCl_2 dan K_2HPO_4 tidak menghambat aktivitas α -amilase. Senyawa NaOH dan MnCl_2 pada konsentrasi rendah (2 mM) tidak menghambat aktivitas enzim tetapi pada 10 mM menjadi inhibitor α -amilase. Informasi stabilitas amilase sangat penting sebagai pertimbangan ketika mengaplikasikan dan menyimpan enzim terutama untuk mengurangi degradasi aktivitas α -amilase.

Kata kunci: Bahan aditif, enzim, α -amilase, *Bacillus licheniformis* TVII.6

PENDAHULUAN

Enzim mikroba pada saat sekarang makin luas penggunaannya. Alfa amilase atau dikenal dengan α -1,4-D-glukan glukanohidrolase, merupakan enzim yang mampu menghidrolisis ikatan α -1,4-glikosidik pada polisakarida dan hasil degradasinya secara acak, baik dari bagian tengah atau bagian dalam molekul (Gupta *et al.*, 2003). Alfa amilase sebagian bersifat tahan panas dan umumnya stabil dengan adanya ion kalsium.

Sifat α -amilase yang tahan panas tersebut berguna pada proses biokonversi pati yang

memerlukan suhu gelatinisasi tinggi (Kennedy *et al.*, 1988). Beberapa ion dan senyawa tertentu juga dapat berfungsi dalam mempertahankan aktivitas dan stabilitas α -amilase.

Alfa amilase ini merupakan enzim komersial yang aktif memecah substrat pati dan mempunyai arti penting dalam penggunaannya. Golongan α -amilase yang tahan pada suhu tinggi umumnya digunakan pada proses likuifikasi, sedangkan α -amilase yang bersifat labil digunakan dalam proses sakarifikasi pada pembuatan gula cair. Kegunaan α -amilase dalam

¹Diterima: 15 Desember 2010 - Disetujui: 10 Februari 2011

berbagai kondisi sangat dipengaruhi oleh stabilitas enzim tersebut. Alfa amilase yang tidak stabil akan tidak efektif memecah substrat karena aktivitasnya menurun (Reddy *et al.*, 2003). Pada penyimpanan jangka panjang, umumnya kestabilan enzim berubah, untuk itu enzim yang stabil sangat diperlukan agar tetap dapat digunakan dengan efektifitas tinggi.

Cara untuk mempertahankan stabilitas enzim termasuk α -amilase antara lain dengan teknik imobilisasi dan modifikasi kimia. Di samping itu cara lain yang dapat diterapkan adalah melalui perlakuan penambahan aditif. Bahan aditif digolongkan dalam 6 kelompok yaitu 1) substrat atau koenzim, 2) ion logam, 3) garam dan anion, 4) polimer, 5) gula dan glikol, serta 6) aditif lainnya. Beberapa aditif yang telah diketahui dapat mempertahankan stabilitas enzim diantaranya adalah gula (sukrosa dan laktosa), alkohol polihidrat atau *poliol* (gliserol, sorbitol dan manitol), garam-garam (amonium disulfida) dan macam-macam polimer. Poliol seperti glikol dan gliserol diketahui mampu meningkatkan stabilitas enzim katalase (Costa *et al.*, 2002). Pelarut organik sering mempunyai efek meningkatkan stabilitas pada suhu rendah tetapi pada konsentrasi tinggi mempunyai efek denaturasi yang kuat (Muchtadi *et al.*, 1992). Modifikasi kation dan lingkungan biokatalis dengan menambahkan bahan aditif seperti polialkohol, juga dapat meningkatkan stabilitas enzim (Ulger dan Curakoglu, 2001).

Bacillus licheniformis TVII.6 merupakan isolat lokal unggul penghasil α -amilase termotabil (Damardjati *et al.*, 1997) yang diisolasi dari kawah Pegunungan Dieng, Indonesia. Enzim ini diharapkan dapat dimanfaatkan pada proses hidrolisis pati yang memerlukan suhu tinggi. Dalam hal ini kestabilan dan aktivitas enzim yang tinggi sangat diperlukan untuk memenuhi kondisi hidrolisis termal. Berdasarkan hipotesis bahwa kestabilan enzim dapat ditingkatkan dengan pemberian aditif tertentu maka tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh beberapa mineral dan bahan aditif terhadap stabilitas dan aktivitas α -amilase *B. licheniformis* TVII.6.

BAHAN DAN METODA

Isolasi enzim

Mikroba yang digunakan dalam studi ini adalah

bakteri termofilik *B. licheniformis* TVII.6 yang merupakan isolat unggul penghasil α -amilase yang dikoleksi, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian. Produksi enzim dilakukan dengan menggunakan medium amilum dalam fermentor 2 liter pada kondisi optimum yaitu pada suhu 50°C, pH 7.0, aerasi 1.0 vvm, agitasi 250 rpm selama 28 jam kultivasi (Richana *et al.*, 1999). Kultur dari fermentor dipisahkan supernatannya melalui sentrifugasi pada 2683 g (4000 rpm dengan radius rotor 15 cm), suhu 4°C, 30 menit. Supernatan yang diperoleh diendapkan dengan aseton dingin dengan perbandingan 2:3 antara enzim dan aseton, kemudian diinkubasi semalam pada suhu 4°C. Setelah disentrifugasi, endapan yang diperoleh merupakan enzim kasar α -amilase *B. licheniformis* TVII.6, kemudian dilarutkan dengan pelarut sesuai perlakuan dan siap untuk uji selanjutnya.

Pengaruh jenis poliol

Endapan α -amilase kasar sebanyak 0.5 mg dilarutkan dalam pelarut enzim sesuai perlakuan. Perlakuan terdiri atas jenis *poliol* yaitu gliserol (G) dan manitol (M) dengan konsentrasi 0, 5 dan 10%. Perlakuan pelarut meliputi air suling (A) dan 50 mM bufer fosfat sitrat pH 7.0 (B). Selanjutnya enzim disimpan pada suhu -20°C selama 3 bulan dan diamati aktivitas enzimnya secara periodik dengan metode Bernfeld (1955) menggunakan 3,5-dinitrosalicilic acid dan protein terlarut dengan metode Bradford (Bollag dan Edelstein, 1991). Kombinasi perlakuan yang diujikan dilakukan sebanyak 3 ulangan.

Pengaruh ion kalsium pada stabilitas termal

Ion kalsium yang diujikan dalam bentuk CaCl_2 dengan konsentrasi 0, 1, 2, 5 dan 8 mM masing-masing sebanyak 3 ulangan. Sebanyak 0.1 ml enzim kasar dilarutkan dalam 0,9 ml 50 mM bufer fosfat sitrat pH 7,0 yang masing-masing mengandung CaCl_2 pada konsentrasi sesuai perlakuan, kemudian diinkubasi pada suhu 90°C selama 15, 30, 60, dan 120 menit. Pada kondisi dingin, enzim kasar dalam bufer fosfat sitrat (telah mengandung CaCl_2 sesuai perlakuan konsentrasi) diinkubasi pada suhu 4°C selama 48 jam. Setelah inkubasi enzim dihitung aktivitas α -amilasena.

Pengaruh mineral

Beberapa mineral meliputi yang mengandung

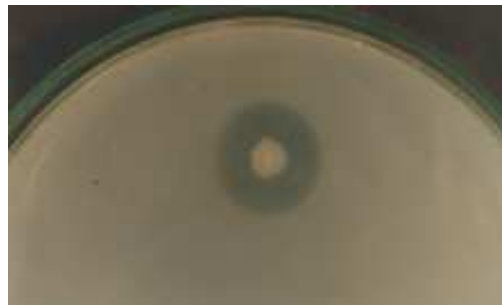
berbagai jenis anion seperti NaOH, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MnCl_2 , CuSO_4 , EDTA, CuSO_4 , MgCl_2 , Na_2CO_3 , K_2HPO_4 , FeSO_4 digunakan untuk uji stabilitas enzim memiliki konsentrasi masing-masing 2 dan 10 mM. Sebanyak 0.1 ml enzim kasar ditambahkan dengan 0.9 ml 50 mM bufer fosfat sitrat pH 7,0 (mengandung senyawa kimia tertentu) kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 2 jam. Pada akhir inkubasi aktivitas enzim ditentukan dengan metode Bernfeld (1955) menggunakan 3,5-dinitrocalicylic acid. Pengujian dilakukan sebanyak 3 ulangan.

Hidrolisis pati

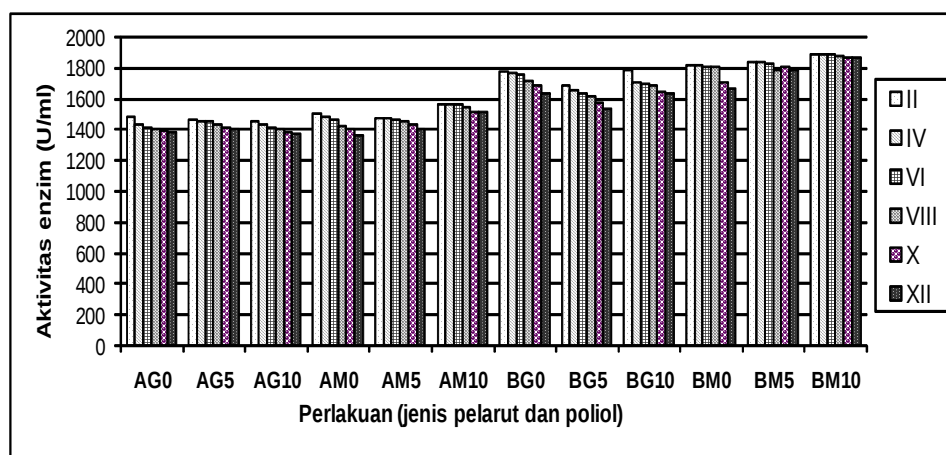
Suspensi pati ubi kayu sebanyak 2% diatur pH-nya pada 6,0-6,5 dengan CaCO_3 , kemudian dipanaskan sampai tergelatinisasi. Hasil likuifikasi pati dianalisis melalui *thin layer chromatography* (TLC) pada gel silika dengan menggunakan fase *mobile* butanol-etanol-air (5:3:2).

HASIL

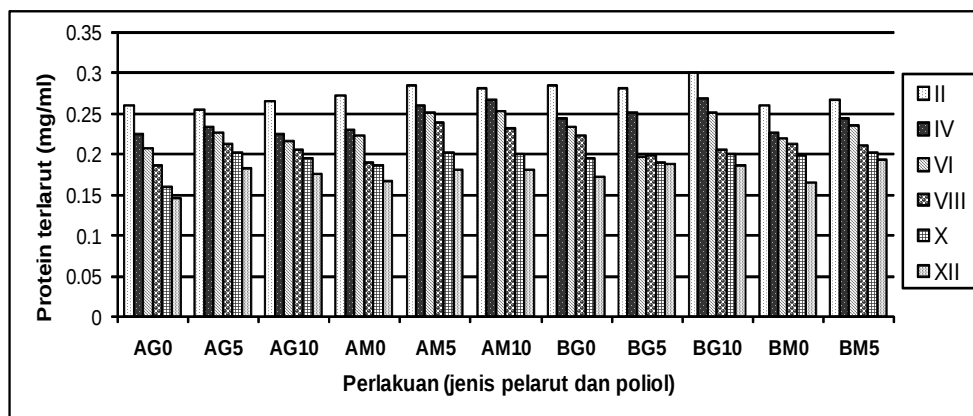
Isolat TVII.6 terlihat jelas menghasilkan zona bening di sekelilingnya dalam media yang mengandung pati (Gambar 1). Zona bening di sekitar koloni merupakan indikasi adanya aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh isolat bakteri TVII.6 dalam menghidrolisis substrat pati. Perubahan aktivitas amilase pada penyimpanan selama 3 bulan dalam formula bahan aditif (jenis dan konsentrasi) dan jenis pelarut pada suhu -20°C ditunjukkan pada Gambar 2. Gliserol dan manitol memberikan pengaruh yang berbeda terhadap stabilitas enzim, demikian juga antara air dan bufer fosfat sitrat. Aktivitas α -amilase sebelum penyimpanan sebesar 1890.75 U/ml, setelah penyimpanan pada minggu ke-2 terlihat kombinasi bufer fosfat sitrat dan manitol lebih baik dibandingkan dengan lainnya. Penurunan aktivitas enzim berlanjut sampai akhir inkubasi, dan kombinasi buffer fosfat



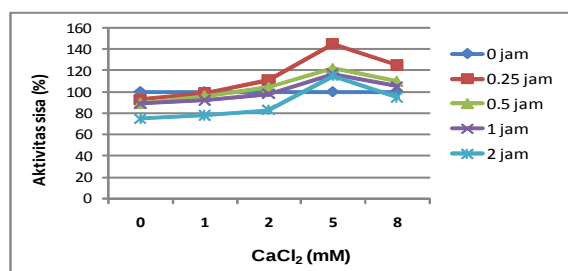
Gambar 1. Koloni TVII.6 dengan zona bening di sekelilingnya dalam media yang mengandung pati.



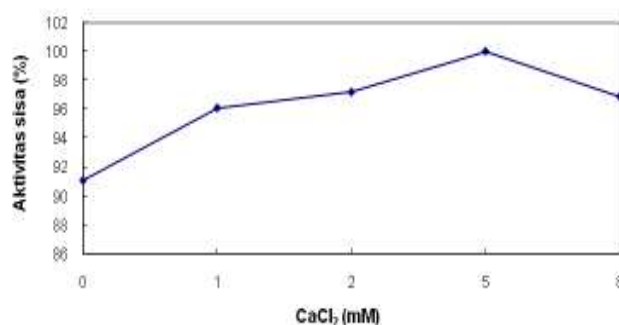
Gambar 2. Diagram profil aktivitas α -amilase *B. licheniformis* TVII.6 sebagai respon terhadap perlakuan jenis dan konsentrasi poliol dalam pelarut yang berlainan selama penyimpanan 3 bulan pada suhu -20°C . Keterangan: aktivitas enzim sebelum inkubasi adalah 1890.75 U/ml, G: gliserol, A: air suling, 0, 5, 10: konsentrasi poliol (%), M: manitol, B: bufer fosfat sitrat, huruf romawi (II, IV, VI, VIII, X, XII): waktu inkubasi dalam minggu.



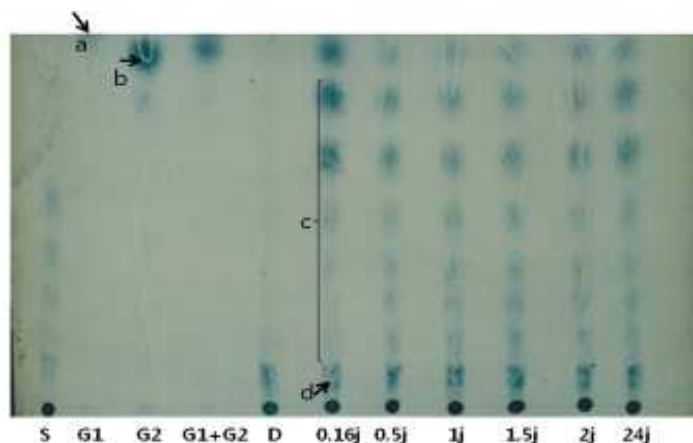
Gambar 3. Diagram profil kandungan protein terlarut α -amilase *B. licheniformis* TVII.6 sebagai respon terhadap perlakuan jenis dan konsentrasi poliol dalam pelarut yang berlainan selama penyimpanan 3 bulan pada suhu -20°C . Keterangan: protein terlarut sebelum inkubasi adalah 0.450 mg/ml, G: gliserol, A: air suling 0, 5, 10: konsentrasi poliol (%), M: manitol, B: bufer fosfat sitrat, huruf romawi (II, IV, VI, VIII, X, XII): waktu inkubasi dalam minggu.



Gambar 4. Pengaruh ion kalsium terhadap stabilitas termal α -amilase TVII.6 pada suhu pengujian 90°C .



Gambar 5. Pengaruh ion kalsium terhadap stabilitas α -amilase TVII.6 pada suhu penyimpanan 4°C .



Gambar 6. Analisis kromatografi lapis tipis produk utama dari hidrolisis pati terlarut oleh α -amilase TVII.6 yang dimurnikan secara parsial dengan aseton. Sumur 1: G1, glukosa, sumur 2: G2, maltosa, sumur 3: G1 + G2, campuran glukosa dan maltosa, sumur 4: D, dekstrin, sumur 5-10: produk hidrolisis pati oleh amilase TVII.6 pada 0.16, 0.5, 1, 1.5, 2, dan 24 jam. No 1-7 merupakan produk hidrolisis, a: glukosa, b: maltosa, c: malto-oligosakarida, d: dekstrin.

sitrat dan manitol tetap memberikan hasil terbaik. Pada minggu ke-12 kombinasi perlakuan bufer fosfat sitrat 50 mM dan manitol 10% (BM10) memberikan hasil terbaik dengan aktivitas enzim sebesar 1862,39 U/ml, sedangkan pelarut air destilata tertinggi hanya 1512,60 U/ml (AM10).

Jenis poliol dan konsentrasinya dalam pelarut enzim juga mempengaruhi protein terlarut selama penyimpanan pada suhu -20°C (Gambar 3). Sebelum penyimpanan, protein terlarut cukup tinggi (0,450 mg/ml) namun setelah disimpan mengalami penurunan. Pada akhir penyimpanan secara umum semua perlakuan mengalami penurunan protein terlarut. Jelas bahwa pada kombinasi poliol baik manitol maupun gliserol dalam bufer maupun air destilata menunjukkan protein terlarut yang lebih tinggi dibandingkan tanpa poliol. Pada akhir penyimpanan perlakuan BM10 menghasilkan protein terlarut tertinggi yaitu 0,199 mg/ml dan terendah adalah AG0 (0,145). Sementara BG10 hanya menghasilkan protein terlarut 0,185 mg/ml, di lain pihak perlakuan AG10 hanya 0,175 mg/ml.

Ion kalsium berpengaruh baik terhadap stabilitas termal α -amilase TVII.6 (Gambar 4) maupun stabilitas pada suhu penyimpanan 4°C (Gambar 5). Ion kalsium dalam bentuk CaCl_2 5 mM mampu mempertahankan stabilitas termal α -amilase TVII.6 lebih baik daripada perlakuan konsentrasi lainnya, dan meningkatkan aktivitas sisa enzim 114.8% pada suhu 90°C selama 2 jam. Pada kondisi dingin (suhu 4°C), pemberian CaCl_2 5 mM menghasilkan aktivitas sisa α -amilase TVII.6 masih 100% selama 48 jam penyimpanan tetapi hanya 86.1% tanpa ion kalsium.

Tabel 1. Pengaruh beberapa senyawa kimia terhadap stabilitas α -amilase *B. licheniformis* TVII.6 pada suhu ruang.

Senyawa kimia	Aktivitas relatif (%)	
	2 mM	10 mM
NaOH	106.8	83.0
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	107.6	103.0
MnCl_2	106.7	84.8
CuSO_4	107.2	113.4
EDTA	83.3	78.1
CoSO_4	103.3	128.0
MgCl_2	103.9	108.9
Na_2CO_3	86.9	85.7
K_2HPO_4	101.8	100.5
FeSO_4	74.3	61.5
Kontrol (bufer)	100	

Beberapa senyawa kimia dapat bertindak sebagai aktivator dan inhibitor aktivitas α -amilase TVII.6 (Tabel 1). Alfa amilase TVII.6 diinhibisi oleh ion Fe^{2+} , Na^{2+} dan EDTA, dan tingkat inhibisi meningkat dengan semakin tinggi konsentrasi. Di lain pihak pengaruh $(\text{NH}_4)^{2+}$, Cu^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+} dan K^+ tidak menghambat aktivitas α -amilase. Senyawa NaOH dan MnCl_2 pada konsentrasi rendah (2 mM) tidak menghambat aktivitas enzim tetapi pada konsentrasi 10 mM bertindak sebagai inhibitor α -amilase TVII.6.

Hidrolisis enzimatis α -amilase TVII.6 menghasilkan dekstrin, maltotriosa, maltosa dan glukosa, sedangkan maltooligosakarida lainnya mulai berkurang konsentrasinya setelah 24 jam hidrolisis (Gambar 6). Hasil hidrolisis pati oleh α -amilase TVII.6 yang beragam termasuk beberapa jenis maltooligosakarida dan merupakan produk intermediet, menunjukkan bahwa pola pemecahan enzim α -amilase tersebut terjadi secara acak.

PEMBAHASAN

Sejak awal hingga akhir penyimpanan (minggu ke-12) perlakuan manitol 10% dalam bufer fosfat sitrat (BFS) atau BM10 memberikan hasil terbaik dibandingkan perlakuan lainnya. Air diduga tidak mampu menjaga konsentrasi ion hidrogen (pH) sehingga protein rusak. Di lain pihak bufer bekerja pada protein dan pH tetap sesuai kondisi enzim, sehingga aktivitasnya tetap tinggi (Bollag dan Edelstein, 1991). Meskipun demikian menurut Blanchard (1984), bufer tertentu kadang-kadang berinteraksi dengan enzim (atau substratnya), atau membentuk kompleks dengan di- dan trivalen ion logam, sehingga menyebabkan aktivitas enzim menurun.

Aditif seperti manitol memberikan pengaruh lebih baik dari pada gliserol pada amilase TVII.6, terbukti dalam kombinasi dengan BFS, memberikan aktivitas lebih tinggi. Di lain pihak, gliserol lebih mampu menstabilkan katalase pada suhu dan pH ekstrim. Bahan aditif ini ternyata mampu meningkatkan selektivitas katalitik enzim (Costa *et al.*, 2002). Sesuai pendapat Muchtadi *et al.* (1992), bahwa beberapa bahan aditif seperti gliserol, manitol dan sorbitol memang diketahui dapat mempertahankan stabilitas enzim, meskipun dengan kemampuan yang berbeda-beda.

Namun demikian pada batas konsentrasi tertentu, aditif tertentu mempunyai efek denaturasi yang sangat kuat (Longo dan Combes, 1999).

Kombinasi manitol 10% dalam BFS juga memberikan hasil protein terlarut tertinggi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aditif seperti gliserol maupun manitol dapat mencegah denaturasi protein α -amilase *B. licheniformis* TVII.6. Gliserol dan manitol merupakan senyawa hidrofilik, yang dapat meningkatkan interaksi hidrofobik antara residu asam amino non-polar sehingga konformasi molekul protein menjadi lebih tahan terhadap kondisi ekstrim (Negi dan Banerjee, 2009). Didukung kemampuan bufer dalam mempertahankan pH, protein terdenaturasi juga kecil, otomatis aktivitas lebih stabil (Stauffer, 1989).

Poliol diketahui mampu mempertahankan kebasaaan larutan enzim dan dapat mereduksi aktivitas air. Polioli yang kaya mengandung gugus hidroksil sebagai gugus fungsional, dan bersifat larut dalam air, dapat mencegah terbukanya rantai polipeptida (Noriko *et al.*, 1999), sehingga dapat menstabilkan amilase selama penyimpanan. Namun bila bahan aditif lebih kuat interaksinya dengan enzim dari pada dengan air maka akan terbentuk ikatan molekul aditif enzim yang menyebabkan denaturasi enzim (Muchtadi *et al.*, 1992). Polioli dapat menekan hidratisasi protein dan membuat konformasi protein lebih kaku, yang akhirnya menstabilkan enzim dalam stabilisasi enzim (Michiaki *et al.*, 1997). Sebenarnya amilase yang dihasilkan oleh *B. licheniformis* strain lain sudah karakterisasi sifat fisiko kimianya, seperti α -amilase dari *B. licheniformis* 44MB82-A (Ivanova *et al.* 1993), α -amilase dari *B. licheniformis* NRRL B14368 (Bose dan Das 1996), dan α -amilase dari *B. licheniformis* IFO12196 (Lee *et al.*, 2006), namun belum di uji stabilisasinya dengan bahan aditif belum banyak dilakukan.

Diketahui bahwa ion kalsium mampu mengaktivasi α -amilase (Kim *et al.*, 1995) dan stabilisator enzim (Vihinen dan Mantsala, 1989). Pada 5 mM CaCl_2 , α -amilase TVII.6 lebih stabil pada suhu tinggi yaitu dengan aktivitas sisa 117,2%, lebih dari itu, stabilitas termalnya menurun. Jadi konsentrasi CaCl_2 yang terlalu tinggi cenderung menurunkan aktivitas sisa enzim. Namun amilase *B. licheniformis*-RT7Y lebih stabil pada 10 mM CaCl_2 (Niaz *et al.*, 2010).

Adanya kelebihan aktivator menyebabkan terjadi persaingan antara aktivator bebas dan kompleks aktivator substrat terhadap enzim. Dengan demikian aktivator kalsium ini tetap dibutuhkan oleh α -amilase dalam kondisi optimum.

Sesuai hasil penelitian ini bahwa α -amilase TVII.6 yang termasuk termostabil, lebih stabil dengan adanya ion kalsium. Menurut Vihinen dan Mantsala (1989), enzim termostabil lebih kaku dibandingkan dengan enzim termolabil, dan lebih rendah kecenderungannya membentuk struktur yang salah sehingga termotolerannya tinggi. Ion kalsium membantu mempertahankan kondisi kaku tersebut, sehingga enzim lebih tahan terhadap lingkungan ekstrim. Pernyataan tersebut sangat mendukung hasil penelitian ini bahwa α -amilase TVII.6 termostabil dengan adanya ion kalsium ternyata menghasilkan aktivitas sisa tertinggi baik dalam penyimpanan pada suhu dingin maupun saat penggunaan pada suhu tinggi. Hal ini berlawanan dengan enzim termolabil yang akan terbuka struktur proteinnya dan orientasi grup residu protein juga tidak tepat lagi sehingga menyebabkan denaturasi protein (Costa *et al.*, 2002). Ion kalsium yang dikombinasikan dengan polioli yang mampu menstabilkan enzim pada suhu tinggi (Costa *et al.*, 2002), diharapkan penanganan dan pemanfaatan α -amilase TVII.6 dapat lebih terarah, terutama dalam kondisi lingkungan yang tidak mendukung.

Berdasarkan pertimbangan senyawa kimia berbeda memberikan pengaruh yang berlainan terhadap aktivitas enzim, maka dalam penelitian digunakan jenis anion yang berlainan dalam uji pengaruh kation terhadap amilasi TVII.6, seperti yang telah dilakukan oleh Kim *et al.* (1995). Hasil penelitian ini juga sesuai hasil dari Freer (1993) bahwa EDTA, Fe^{2+} menghambat α -amilase *Streptococcus bovis* JB, sedangkan ion Mg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Ca^{2+} dan Zn^{2+} tidak menghambat α -amilase tersebut. Namun demikian hasil uji studi inhibisi dan aktivasi terhadap α -amilase TVII.6 ini berbeda dengan hasil yang diperoleh Farez-Vidal *et al.* (1995) bahwa ion Cu^{2+} yang tidak menghambat aktivitas α -amilase TVII.6 ternyata bertindak sebagai inhibitor terhadap α -amilase *Myxococcus coralloides* D. Sejumlah ion juga menghambat α -amilase *Myxococcus coralloides* D seperti EDTA, Hg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} dan Fe^{3+} .

Dengan demikian ternyata ada kespesifikan α -amilase terhadap senyawa kimia dan ion-ion tertentu. Adanya senyawa tertentu yang menghambat α -amilase TVII.6 seperti EDTA dan ion Cu^{2+} , karena sifat dari EDTA yang mampu mengkelat ion logam. Senyawa-senyawa tersebut juga menyebabkan denaturasi protein yang secara otomatis aktivitas enzim juga menurun.

Hasil hidrolisis pati α -amilase TVII.6 sama dengan hasil α -amilase dari *B. stearothermophilus* TII-12 termostabil, koleksi bakteri penghasil α -amilase lainnya di Balai Besar Biogen (Lestari *et al.*, 2011). Pola pemecahan enzim yang acak, menjadikan jenis α -amilase TVII.6 merupakan endo-enzim. Hasil kromatografi lapis tipis dari amilase TVII.6 menunjukkan bahwa maltosa, malto-oligosakarida (maltotriosa, maltotetraosa) adalah produk utama, dengan sejumlah glukosa pada kasus tertentu. Diketahui bahwa jenis produk hidrolisis spesifik oleh α -amilase berbeda-beda tiap isolat (Yang *et al.*, 2009). Hasil hidrolisis α -amilase dari *B. licheniformis* strain lain, yaitu 44MB82-A adalah maltotriosa, maltosa dan glukosa (Ivanova *et al.*, 1993). Namun hasil hidrolisis α -amilase TVII.6 tersebut juga tidak berbeda jauh dengan hasil α -amilase dari bakteri mesofilik *B. licheniformis* DKW8 (data belum dipublikasi). Dengan demikian α -amilase TVII.6 ini sesuai untuk tahap likuifikasi pati yang memerlukan suhu tinggi dalam prosesnya. Meninjau termostabilitas α -amilase TVII.6 yang cukup prospektif, studi stabilisasi enzim ini sangat diperlukan untuk menjaga keefektifan enzim dalam penyimpanan jangka panjang ataupun saat aplikasi dalam hidrolisis pati yang memerlukan suhu tinggi.

KESIMPULAN

Studi untuk menguji efisiensi stabilisasi α -amilase ini menunjukkan bahwa perlakuan aditif seperti manitol 10% dalam bufer fosfat sitrat mampu menstabilkan amilase dalam penyimpanan tanpa kehilangan banyak aktivitas enzim. Ion kalsium bertindak sebagai aktivator dan menjaga stabilitas termal α -amilase TVII.6 sekaligus dalam penyimpanan di suhu dingin (4°C). Beberapa senyawa kimia bertindak sebagai inhibitor khususnya FeSO_4 , Na_2CO_3 , dan EDTA, dan sebagai aktivator α -amilase TVII.6 adalah CaCl_2 . Berdasarkan karakter kimia α -amilase TVII.6 yang

merupakan jenis endo-enzim dan termostabil diharapkan enzim ini dipertahankan stabilitasnya dalam penyimpanan dan pemanfaatannya pada suhu tinggi (90°C).

DAFTAR PUSTAKA

- Bernfeld P. 1955. Amylase α and β . In: *Methods in Enzymology and Related of Biochemistry*, 149-155. SP Colowick and NO Kaplan (Eds.). Acad. Press. New York.
- Blanchard JS. 1984. Buffers for enzyme. *Meth. Enzymol.* **104**, 404-414.
- Bollag DM and SJ Edelman. 1991. *Protein Methods*. John Wiley and Sons. New York.
- Bose K and D Das. 1996. Thermostable alpha-amylase production using *Bacillus licheniformis* NRRL B14368. *Indian J. Exp. Biol.* **34**, 1279-1282.
- Costa SA, T Tzanov, AF Carneiro, A Paar, GM Gubitz and A Cavaco-Paulo. 2002. Studies of stabilization of native catalase using additives. *Enzyme and Microbial Technol.* **30**, 387-391.
- Damardjati DS, U Murdiyatmo, N Richana, Pujoyuwono, N Azizah, D Andriani, P Lestina dan D Kusdiningsih. 1997. Kloning gen-gen amilase dari isolat bakteri indigenous untuk proses biokonversi bahan berpati. *Laporan Hasil Penelitian*. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor.
- Farez-Vidal ME, A Fernandez-Vivas, F Gonzales and JM Arias. 1995. Properties and significance of an α -amylase produced by *Myxococcus coralloides* D. *J. Appl. Bacteriol.* **78**, 14-19.
- Freer SN. 1993. Purification and characterization of the extracellular α -amylase from *Streptococcus bovis* JB1. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 1398-1402.
- Gupta R, P Gigras, H Mohapatra, VK Goswami, and B Chauhan. 2003. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochem.* **38**, 1599-1616.
- Ivanova VN, EP Dobrova, and EI Emanuilova. 1993. Purification and characterization of a thermostable alpha-amylase from *Bacillus licheniformis*. *J. Biotechnol.* **28**, 277-289.
- Kennedy JF, VM Cabalde, and CA White. 1988. Enzymic starch utilization and genetic engineering. *Tib. Tech.* **6**, 84-189.
- Kim TV, BG Gu, JY Jeong, SM Byun, and YC Shin. 1995. Purification and characterization of a maltotetraose-forming alkaline α -amylase from an alkalophilic *Bacillus* Strain GM 8901. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 3105-3112.
- Lee, S., H. Oneda, M. Minoda, A. Tanaka, and K. Inouye. 2006. Comparison of starch hydrolysis activity and thermal stability of two *Bacillus licheniformis* alpha amylases and insights into engineering α -amylase variants active under acidic conditions. *J. Biochem.* **139**, 997-1005.
- Lestari P, N Richana, AA Darwis, K Syamsu, U Murdiyatmo. 2011. Purifikasi dan karakterisasi α -amilase termostabil dari *Bacillus stearothermophilus* TII-12. *J. Agrobiogen* **7**, 56-62.
- Longo MA and D Combes. 1999. Thermostability of modified enzymes: a detailed study. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **74**, 25-32.

- Michiaki M, K Koji, and K Kazuo. 1997.** Effects of polyols and organic solvents on thermostability of lipase. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **70**, 188-192.
- Muchtadi D, SD Nurheri, dan A Made. 1992.** *Enzim dalam Industri Pangan*. PAU Pangan dan Gizi, IPB. Bogor.
- Negi S and R Banerjee. 2009.** Characterization of amylase and protease produced by *Aspergillus awamori* in a single bioreactor. *Food Research International* **42**, 443-448
- Niaz MT ftikhar, R Tabassum, MA Zia, H Saleem, SQ Abbas, and IU Haq. 2010.** α -Amylase production by *Bacillus licheniformis* under solid state fermentation conditions and its cross linking with metalosalts to confer thermostability. *International J. Agric. Biol.* **12**, 793-795
- Noriko MK, K Miok, and K Tada. 1999.** Stabilization of L-Ascorbic acid by superoxide dismutase and catalase. *Bios. Biotechnol. Biochem.* **63**, 54-57.
- Reddy NS, A Nimmagadda, and KRSS Rao. 2003.** An overview of the microbial α -amylase family. *African J. Biotechnol.* **2**, 645-648.
- Richana N, GM Yusuf, P Lestari, dan DS Damardjati. 1999.** Perilaku kultivasi isolat bakteri termofil penghasil α -amilase. *J. Mikrobiol. Indo.* **4**, 35-39.
- Stauffer CE. 1989.** *Enzyme Assays for Food Scientist*. van Nostrand Reinhold Publ. New York.
- Ulger C and C Curakoglu. 2001.** Alpha amylase production by *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens* in different PEG solutions. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **17**, 93-94.
- Vihinen M and P Mantsala. 1989.** Microbial amylolytic enzymes. Critical Review. *Biochem. Molec. Biol.* **24**, 329-418.
- Yang W, L Fan, G Chao-hui, and ZG Ying-Jiu. 2009.** Characterization of a Novel Mesophilic Bacterial Amylase Secreted by ZW2531-1, a Strain Newly Isolated from Soil. *Chem. Res. Chinese Univ.* **25**, 198-202.