OPTIMASI DAN KARAKTERISASI a-AMILASE DARIISOLAT AKTINOMISETES YANG BERASAL DARI KALIMANTAN TIMUR[1]

[Optimization and Characterization of Amylase from Actinomycetes Isolates From East Kalimantan]

Yati Sudaryati Soeka
Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Jin Raya Jakarta Bogor, Km 46, Cibinong 16911
e-mail: ceuceulipi@yahoo.com

ABSTRACT

Forty-one actinomycetes isolates from East Kalimantan held in Microbiology Division Collection-UPI, and their ability to produce a-amylase has been assessed. Those 41 number of actinomycetes isolates performed amylolytic activity as shown by clear zone areal after being poured with iodium solution. The bacteria produced high a-amylase when was grown in media containing starch soluble 2% the a-amylase activity in media containing 8.24 U/ml. The isolate (number 7) was the most active compared to another (number 100) and it was identified as *Nocardia;* the activity of this enzyme obtained was 12.93 U/ml (one unit activity is defined as mol of glucose produced per ml per minute). The maximum temperature for enzyme reaction was 40°C, optimum pH was pH 7.5 the a-amylase activity were 15.76 U/ml and 31.11 U/ml, respectively. From kinetic characterization study, it was found that enzyme showed Km and Vmax value of 7.62 % (b/v) and 71.10-^{2} umol/ml/minute respectively at condition of temperature 40°C, pH 7.5 and incubation time 10 minute.

Kata kunci/ key **words:** amilase, aktinomisetes/actinomycetes, karakterisasi/characterization, *Nocardia, Streptomyces.*

PENDAHULUAN

Aktinomisetes adalah nama kolektif untuk delapan suku bakteri yang berbeda yang tumbuh sebagai filamen sel yang bercabang panjang atau pendek. Mayoritas mikroba ini adalah saprofit tanah dan air (organisme yang hidup dari bahan organik yang membusuk dan sangat penting karena perannya dalam daur alam, seperti pembusukan bahan organik dan penambatan nitrogen.

Enzim a-amilase (EC.3.2.11), dapat diisolasi dari mikroba antara lain kapang, bakteri dan khamir. Enzim yang diisolasi dari mikroba memiliki beberapa keunggulan antara lain produksinya tidak terbatas, dapat diproduksi hingga skala tertentu, lebih ekonomis dan produktifitasnya dapat ditingkatkan.

Dalam penelitian ini telah dilakukan seleksi Aktinomisetes yang mempunyai kemampuan mendegradasi pati terlarut.

BAHAN DAN C ARA KERJA

Biakan bakteri

Sebanyak 41 biak Aktinomisetes yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Bangkirai Kalimantan Timur koleksi Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong.

Media

Media untuk memelihara isolat bakteri digunakan nutrien agar dengan komposisi *beef extract* 3 g, pepton 5 g, bakto agar 20 g dan dipersiapkan dalam satu liter akuades. Untuk isolasi dan media produksi enzim amilase digunakan media YPSs *{Yeast Pepton Starch soluble)* cair dan padat dengan komposisi: 0,2% ekstrak khamir, 0,5% pepton, 0,3% KH_2PO_4,0,05% $MgSO_4$.7 *Up,* 0,01 % *Cd£\.* 2 *Rp,* 20 g agar dan 2% pati terlarut sebagai sumber karbon (Mangunwardoyo *et a!.,* 1982).

Isolasi dan seleksi isolat penghasil amilase

Isolasi dilakukan setelah tampak adanya pertumbuhan masing-masing contoh yang diinokulasikan dan diinkubasikan selama 2 hari pada suhu kamar dalam medium selektif (YPSs cair yang mengandung 2% pati terlarut). Bakteri yang tumbuh diisolasi dengan menginokulasikan beberapa tetes dari medium cair tersebut pada permukaan media YPSs padat. Setiap isolat murni dipelihara dalam media Nutrien Agar miring. Seleksi terhadap kemampuan isolat dalam menghasilkan amilase dilakukan secarakualitatif, semikuantitatif dan kuantitatif.

Pengujian aktivitas amilase secara kualitatif dan semikuantitatif dilakukan dengan cara menumbuhkan

'Diterima: 27 Januari 2009 - Disetujui: 15 Januari 2010

isolat-isolat Aktinomisetes pada permukaan media agar YPSs. Satu ose biakan bakteri yang berumur 3 hari ditumbuhkan pada permukaan media agar YPSs, kemudian diinkubasikan selama 2 hari pada suhu kamar. Adanya aktivitas amilase terlihat dengan muncuhiya zona bening di sekitar koloni setelah dituang dengan larutan iodin. Hasil bagi antara diameter zona bening dan diameter koloni dinyatakan sebagai aktivitas enzim secara nisbi (Naiola, 2001).

Penentuan kondisi optimum aktivitas amilolitik

Starter dibuat dengan menambahkan akuades steril ke dalam biakan berumur 5 hari, sehingga diperoleh suspensi 10^9 CFU/ml (OD_{540nm} = 0,5). Sebanyak 2,5% suspensi diinokulasikan ke dalam media produksi dan selanjutnya diinkubasikan pada suhu kamar. Setelah dua hari inkubasi, enzim amilase diekstraksi dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 15.880 x g selama 10 menit, dan larutan enzim yang diperoleh diuji aktivitas amilolitiknya.

Pengujian aktifitas amilase

Sebanyak 0,5 ml larutan enzim ditambahkan ke dalam 0,5 ml substrat yaitu 2 % pati terlarut dalam 0,05 M larutan bufer glisin-NaOH pH 7, kemudian diinkubasikan pada suhu 40 °C selama 10 menit. Produk yang terbentuk berupa gula reduksi (glukosa) diukur dengan metoda Bernfeld (1995) menggunakan asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS) dan konsentrasinya dikonversikan dengan standar glukosa (Kiran *et al.*, 2005). Satu unit aktivitas a-amilase adalahbanyaknya enzim yang dapat menghasilkan gula reduksi sebanyak 1 mmol per menit per ml larutan enzim pada kondisi pengujian yang dilakukan. Pengujian dilakukan 2 kali ulangan.

Penentuan berbagai macam substrat sumberkarbon

Sebanyak 0,5 ml larutan enzim ditambahkan ke dalam berbagai macam substrat pati *2%* masing-masing terdiri atas pati terlarut, maizena, tapioka, tepung beras ketan, tepung beras, tepung terigu dan sagu dalam 0,05 M larutan bufer glisin- NaOH pH 7, kemudian diinkubasikan pada suhu 40 °C selama 10 menit. Produk yang terbentuk berupa gula reduksi (glukosa) diukur dengan metoda Bernfeld (1995) menggunakan asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS) dan konsentrasinya dikonversikan dengan standar glukosa.

Penentuan kondisi optimum suhu dan pH

Pengaruh suhu terhadap enzim amilase diuji dengan cara mengukur aktivitasnya pada berbagai macam suhu 30,40,50,60 dan 70°C.

Untuk melihat pengaruh pH terhadap aktivitas enzim a-amilase, pengujian dilakukan dalam larutan bufer glisin pada (pH 3,5-10). Larutan bufer yang digunakan adalah 0,05 M bufer glisin HC1 (pH 3,5 - 6), 0,05 M bufer glisin NaOH (pH7-10).

Penentuan berbagai konsentrasi substrat pati

Sebanyak 0,5 ml larutan enzim ditambahkan ke dalam 0,5 ml substrat pati dengan berbagai konsentrasi 0,05,0,5,1,0,1,25,1,50,1,75,2, dan 2,5% pati terlarut dalam 0,05 M larutan bufer glisin, pH sesuai pH optimum , kemudian diinkubasikan pada suhu sesuai suhu optimum selama 10 menit. Produk yang terbentuk berupa gula reduksi (glukosa) diukur dengan metoda Bernfeld (1995) menggunakan asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS) dan konsentrasinya dikonversikan dengan standar glukosa.

Penentuan Km dan Vmaks

K_m (konstanta Michaelis) dan $V_{|mks}$ (kecepatan maksimum reaksi) merupakan dua parameter kinetika enzim. Nilai $K_m$tidak tergantung pada besarnya konsentrasi enzim, sedangkan V_{maks} besarnya dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi enzim. K_m dapat diartikan sebagai ukuran afmitas enzim terhadap substrat. Penentuan K_m dan V_{maks} ini dilakukan pada pH dan suhu inkubasi optimum yang diperoleh pada saat optimasi kerja enzim. Penentuan K_m dan V_{maks} dengan kurva garis lurus ini dikenal sebagai metode Lineweaver-Burk.

HASIL

Hasil isolasi dan seleksi

Sebanyak 41 isolat Aktinomisetes telah diisolasi dengan cara menginokulasikan masing-masing contoh ke dalam medium selektifYPSs cair yang mengandung 2% pati terlarut. Hasil pengujian secara kualitatif menunjukkan bahwa sebanyak 31 isolat memiliki aktivitas amilolitik, yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni. Selanjutnya isolat-isolat yang menunjukkan aktivitas amilolitik

positif secara kualitatif diukur secara semikuantitatif dengan cara membandingkan diameter zona bening di sekitar koloni dengan diameter koloni setelah dituangi larutan Iod (Tabel 1).

Hasil penghitungan secara semikuantitatif menunjukkan terdapat 2 isolat memiliki diameter zona bening (aktivitas a-amilase nisbi) dengan nilai sama dengan 3; 16 isolat dengan nilai antara 2,0 - <3,0;

Tabel 1. Hasil pengujian aktivitas amilase dari 41 isolat secara kualitatif dan semikuantitatif

No.	Isolat	Uji kualitatif (zona bening)	Uji semikuantitatif (Diameter zona bening/koloni)
1.	LIPIMC-A-0003	++	1,5
2.	LIPIMC-A-0004	-	-
3.	LIPIMC-A-0006	+++	2,0
4.	LIPIMC-A-0007	++++	3,0
5.	LIPIMC-A-0008	-	-
6.	LIPIMC-A-0010	-	-
7.	LIPIMC-A-0013	-	-
8.	LIPIMC-A-0014	+++	2,0
9.	LIPIMC-A-0016	+++	2,0
10.	LIPIMC-A-0017	+++	**2,0**
11.	LIPIMC-A-0018	-	-
12.	LIPIMC-A-0019	++	1,5
13.	LIPIMC-A-0021	+-H-	2,0
14.	LIPIMC-A-0030	++	1,67
15.	LIPIMC-A-0031	++	**1,5**
16.	LIPIMC-A-0032	**+++**	2,0
17.	LIPIMC-A-0033	++	1,57
18.	LIPIMC-A-0034	+++	2,33
19.	LIPIMC-A-0038	++	1,75
20.	LIPIMC-A-0043	++	1,83
21.	LIPIMC-A-0048	-	-
22.	LIPIMC-A-0053	+++	2,0
23.	LIPIMC-A-0066	+++	2,0
24.	LIPIMC-A-0067	++	1,57
25.	LIPIMC-A-0068	.	-
26.	LIPIMC-A-0071	++	1,5
27.	LIPIMC-A-0072	++	1,75
28.	LIPIMC-A-0085	-	-
29.	LIPIMC-A-0087	-	-
30.	LIPIMC-A-0089	+++	2,0
31.	LIPIMC-A-0095	+-H-	2,0
32.	LIPIMC-A-0097	+++	2,0
33.	LIPIMC-A-0099	+++	2,0
34.	LIPIMC-A-0100	++++	**3,0**
35.	LIPIMC-A-0104	++	**1,6**
36.	LIPIMC-A-0105	-	-
37.	LIPIMC-A-0106	++	**2,0**
38.	LIPIMC-A-0107	+	1,33
39.	LIPIMC-A-0116	+	1,33
40.	LIPIMC-A-0119	+++	**2,0**
41.	LIPIMC-A-0122	+++	2,0

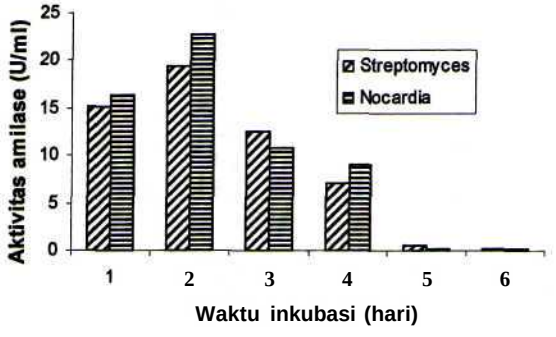
++++ Diameter zona bening 3,0 mm
+++ Diameter zona bening 2,0-<3,0 mm
++ Diameter zona bening 1,5-< 2,0 mm
\+ Diameter zona bening < 1,5 mm
\- Tidak ada zona bening

11 isolat dengan nilai antara l,5-< 2,0; dan 2 isolat dengannilai<l,5.Terdapat 10 isolat negatifyaitu isolat yang tidak dapat mendegradasi pati terlarut.

Aktivitas amilase dari hasil seleksi isolat

Isolat yang secara semikuantitatif memiliki aktivitas a-amilase sama dengan 3, yaitu isolat *Nocardia* (no. 7) dan *Streptomyces* (no. 100) selanjutnya diuji kemampuan a-amilasenya secara kuantitatif.

Uji aktivitas secara kuantitatif dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim a-amilase filtrat biakan dengan menggunakan media YPSs cair mengandung 2% pati terlarut sebagai bahan penginduksi. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat *Nocardia* no. 7 dan *Streptomyces* no. 100 mempunyai kemampuan menghasilkan enzim a-amilase tertinggi masing-masing sebesar 22,69 U/ml dan 19,32 U/ml pada hari ke 2 (Gambar 1).



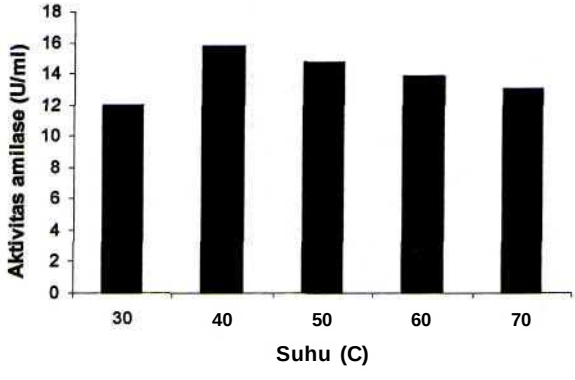
Gambar 1. Aktivitas a-amilase *Streptomyces* (no. 100) dan *Nocardia* (no. 7) selama enam hari inkubasi.

Penentuan kondisi optimum sumber-sumber karbon sebagai substrat untuk produksi a-amilase

Isolat yang selanjutnya diuji adalah *Nocardia* no.7. Pemilihan substrat untuk pengujian aktivitas enzim yang tepat sangat diperlukan untuk mendapatkan hasil yang maksimal, karena selain sebagai sumber karbon amilum juga merupakan induktor untuk sekresi amilase. Pengaruh berbagai jenis tepung komersial pada substrat amilase dari *Nocardia* no.7 menunjukkan bahwa dari 7 jenis tepung yang digunakan pati terlarut dan maizena merupakan substrat karbon yang sangat baik (Tabel 2). Selanjutnya pati terlarut yang digunakan untuk penelitian sebagai sumber karbon.

Pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas enzim a-amilase

Pada penentuan optimasi suhu aktivitas enzim a-amilase kasar dilakukan pada isolat *Nocardia* no.7 dengan variasi suhu 30,40,50,60, dan 70°C. Aktivitas a-amilase tertinggi adalah pada suhu 40°C yaitu sebesar 15,76 U/ml. Aktivitas enzim mulai menurun



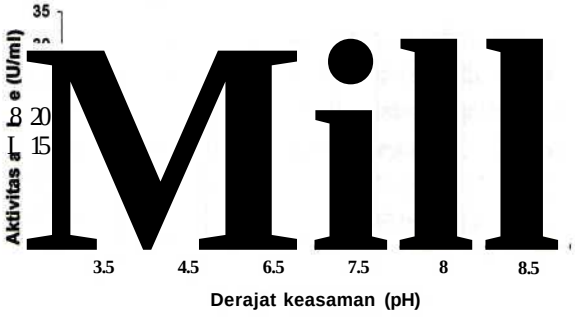
Gambar 2. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim a-amilase *Nocardia* no.7.

Tabel 2. Pengaruh sumber-sumber karbon sebagai substrat untuk produksi a-amilase *Nocardia* no. 7.

No.	Sumber karbon	Aktivitas a-amilase (U/ml)
1.	Pati terlarut	12,93
2.	Maizena	12,12
3.	Sagu	11,82
4.	Beras ketan	5,11
5.	Beras	5,11
6.	Terigu	4,51
7.	Tapioka	2,33

ketika suhu dinaikkan hingga mencapai 70°C. Tampak bahwa suhu optimum untuk berlangsungnya reaksi enzim pada suhu 40°C (Gambar 2).

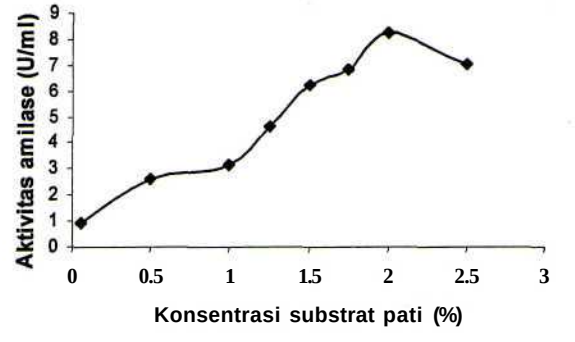
Pengaruh pH terhadap aktivitas a-amilase kasar *Nocardia* no.7 diuji dengan mereaksikan larutan enzim padaberbagaiderajatkeasaman(pH).Hasilpengamatan menunjukkan bahwa apabila reaksi enzim a-amilase dilakukan dalam 0,05 M bufer glisin-NaOH, aktivitas amilase tertinggi pada pH 7,5 dan 8 sama nilainya yaitu sebesar 31,11 U/ml (Gambar 3) dan untuk selanjutnya untuk perlakuan K_m dan V_{maks}nya adalah dengan pH 7,5.



Gambar 3. Pengaruh pH terhadap aktivitas dan stabilitas enzim a-amilase *Nocardia* no.7.

Penentuan kondisi optimum konsentrasi substrat

Untuk mempelajari K_m dan V_{maks}, maka isolat *Nocardia* no.7 dengan berbagai konsentrasi substrat pati terlarut pada suhu 40 °C, pH 7,5 dihitung dengan persamaan Lineweaver-Burk. Pada Gambar 4 dapat dilihat pengaruh dari berbagai konsentrasi substrat pati terlarut (0.5.1.0.1.25.1.50.1.75.2 dan 2.5 *%).* Didapat



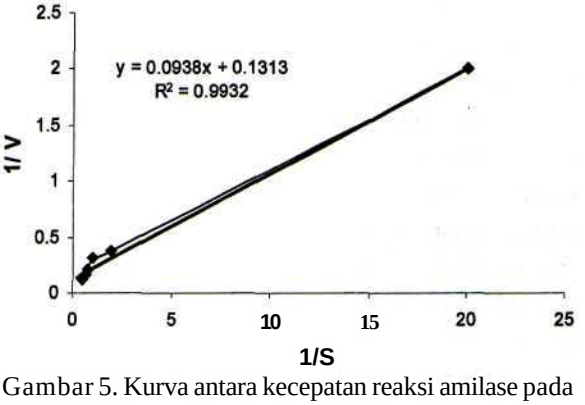
Gambar 4. Pengaruh konsentrasi substrat pati (%) terhadap aktivitas enzim a-amilase.

dengan nilai tertinggi pada konsentrasi 2% sebesar 8,2353 U/ml. Pada konsentrasi 2,5% aktivitas enzim menurun.

Km dan Vmaks

Kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim bergantung pada konsentrasi substrat. Penentuan harga K_m dan V_{maks}ditentukan berdasarkan persamaan Michaelis- Menten yang menyatakan bahwa 1 /V = K_m / V_{maks}(!/[S])+ 1/$V_{maks}$$K_m$ dan V^suatukonstanta! maka persamaan ini dianalogikan dengan persamaan regresiy=a+bx,dengany= 1/V,x= l/[S],a= 1/V^, dan b = K_m / V_{maks}, sehingga jika dimasukkan ke dalam grafik diperoleh persamaan garis lurus Lineweaver-Burk (Gambar 5).

Berdasarkan perhitungan menggunakan persamaan di atas diperoleh untuk isolat *Nocardia* no.7 besarnya nilai K_{ra} dan V^ masing-masing71 .10"^{2}% (b/v) dan 7,62 U/ml/menit pada kondisi suhu 40°CdanpH7,5.



Gambar 5. Kurva antara kecepatan reaksi amilase pada kondisi optimum dan berbagai konsentrasi substrat.

PEMBAHASAN

Amilase antara lain a-amilase, P-amilase, amiloglukosidase dan isoamilase adalah kelompok enzim yang dapat memecah pati menjadi gula-gula sederhana (glukosa) yang banyak digunakan dalam berbagai industri seperti industri tekstil, deterjen dan gula cair non tebu. Dalam industri pangan, a-amilase berperan dalam mempercepat proses hidrolisis pati dan menurunkan viskositas pati (Nigam dan Singh, 1995).

MenurutAlam *et ah,* 1989, mikroorganisme dapat menghasilkan lebih dari satu macam amilase pada saat yang bersamaan. Sumber karbon dan nitrogen

yang disenangi oleh mikroba yaitu dengan metabolisme karbohidrat dan protein yang sederhana (Volk dan Wheeler, 1988).

Mikroba *Nocardia* tumbuh secara aerob pada media yang sederhana dengan membentuk filamen panjang yang mudah patah menjadi sel batang dan bulat *pleomorfl* (bakteri yang mempunyai banyak bentuk), Gram positif dan jenis patogen (Volk dan Wheeler, 1988). Marga *Nocardia* termasuk yang dominan di dalam tanah dan termasuk kelompok *rare actinomycetes* yaitu kelompok yang jarang atau sulit ditemukan dan bersifat obligat aerob dan memiliki kemampuan memanfaatkan hidrokarbon sebagai sumber energinya. Isolat nomor 100 adalah anggota marga *Streptomyces* meliputi kelompok organisme yang sangat besar yang tersebar di seluruh dunia. *Streptomyces* sangat fleksibel dalam penggunaan nutrien. Bakteri ini tidak memerlukan faktor tumbuh yang khusus; berbagai macam sumber karbon dapat digunakan. Seperti Aktinomisetes lainnya, mikroba ini tumbuh sebagai filamen panjang bercabang, tidak seperti anggota marga *Nocardia* mikroba ini membentuk rantai panjang spora udara yang disebut konidia. Anggota marga *Streptomyces* sangat jarang bersifat patogen, tetapi mikroba ini telah mencapai ketenaran karena kemampuannya untuk memproduksi antibiotika. Streptomisin dan aktinomisin adalah yang pertama diisolasi dan dikarakterisasi dari mikroba yang diklasifikasi sebagai *Streptomyces* (Madigan *et al,* 2003).

Sebagai medium produksi a-amilase dapat digunakan berbagai macam sumber karbohidrat seperti tepung jagung (maizena), kentang, singkong, sagu, ubi jalar, dedak, gandum, dedak beras serta sumber karbohidrat lainnya. Pengaruh berbagai jenis tepung komersial untuk *Nocardia* no.7 menunjukkan bahwa dari pati terlarut dan maizena merupakan substrat karbon yang sangat baik. Pada penelitian Bansode (2010) pati terlarut merupakan sumber karbon yang sangat baik sebagai zat makanan untuk bakteri. *Bacillus cereus* hasil seleksi dari brem bali menghasilkan amilase sebesar 377,50 x 10^2 U/ml/menit setelah diinkubasi selama 44 jam dalam media tepung ketan pH 7 pada suhu50°C(Naiola,2001).

Enzim berfiingsi secara optimal pada suhu dan pH tertentu, sehingga penyimpangan-penyimpangan dari keadaan optimum mengakibatkan berkurangnya aktivitas enzim dengan nyata. Hal ini khas bagi semua enzim. Keragaman pH yang ekstrim bahkan dapat merusak enzim, seperti juga suhu yang tinggi, pendidihan selama beberapa menit akan mendenaturasikan (menghancurkan) kebanyakan enzim. *Nocardia* no. 7 menghasilkan aktivitas tertingginya pada pH 7,5 dan 8,0 dengan suhu inkubasi 40°C, sedangkan aktivitas maksimum dari *Saccharomyces cerevisiae* W3O3A rekombinan dicapai pada pH 7,0 suhu 40°C (Thantowi *et al,* 2002). Tetapi dibandingkan dengan *Bacillus* spp. DA5.2.3 dan L5 yang diisolasi dari udang, aktivitas masing-masing sebesar 2,1 U/ml dan 0,5 U/ml diinkubasi selama 24 jam (Jamilah *et al.* ,2009) aktivitas dari *Nocardia* no. 7 masih lebih besar. Aktivitas a-amilase dari *Bacillus* sp. K-12 yang tertinggi didapat dari sumber karbon pati terlarut pada pH 7,5 dengan suhu inkubasi 42°C (Kiran *et al,* 2005).

Menurut Vihinen & Manstala (1989) bahwa pH optimum amilase bervariasi dari 2-10,5, namun sebagian besar aktif dengan baik pada pH 5-8.

Pada umumnya terdapat hubungan optimum antara konsentrasi enzim dan substrat bagi aktivitas maksimum. Konsentrasi substrat yang amat rendah, kecepatan reaksipun amat rendah, tetapi kecepatan ini akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat. Laju aktivitas enzim akan meningkat dengan meningkatnya kadar substrat sampai suatu titik. Sekali enzim jenuh dengan substrat, penambahan kadar substrat tidak akan berpengaruh pada kecepatan reaksi (Volk dan Wheeler, 1988). Michaelis-Menten mendefinisikan suatu tetapan yang sekarang dinyatakan sebagai Km, yang bermanfaat dalam menyatakan hubungan yang tepat antara konsentrasi substrat dan kecepatan reaksi enzimatik. Merupakan dasar bagi semua aspek kinetika kerja enzim. Jika diketahui K_m dan V_{maks} maka dapat dihitung kecepatan reaksi suatu enzim pada setiap konsentrasi substrat. Unsur kunci di dalam persamaan Michaelis- Menten adalah K_m yang bersifat khas bagi enzim tertentu, dengan substrat spesifik pada kondisi suhu dan pH tertentu. *Nocardia* no.7 memiliki karakter biokimia aktivitas a-amilase pada suhu 40°C dan pada pH 7,5

masing-masing sebesar 15,76 dan 31,11 U/ml. Nilai K_m dan V_{mats} *Nocardia* no. 7 masing-masing 71.10"^{2}%(b/v) dan 7,62 U/ml/menit. Hasil dari *B. cereus* didapat nilai untuk Km dan Vm masing-masing 36.10^2 % dan 89,36 U/ml/menit (kondisi pH 7,0; suhu 40°C; inkubasi lOmenit).

KESIMPULAN

Telah diseleksi dari 41 Aktinomisetes penghasil a-amilase yang berasal dari Bangkirai, Kalimantan Timur koleksi Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong. Didapat 2 isolat yang mempunyai aktivitas a-amilase nisbi dengan nilai sama dengan 3, yaitu *Nocardia* no.7 dan *Streptomyces* no. 100. Dalam medium yang mengandung pati terlarut, isolat *Nocardia* no.7 penghasil a-amilase tertinggi dibanding dari isolat *Streptomyces* no. 100 setelah diinkubasi 2 hari. *Nocardia* no.7 memiliki karakter biokimia aktivitas a-amilase pada suhu 40°C dan pada pH 7,5 masing-masing sebesar 15,76 dan 31,11 U/ml. Nilai K_m dan V_{maks} *Nocardia* no. 7 masing-masing 71 .10"^{2}%(b/v) dan7,62U/ml/menit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Diucapkan terima kasih kepada Dra Elidar Naiola atas bantuannya sehingga penelitian ini dapat terlaksana, serta saran-saran dalam penulisan makalah.

DAFTARPUSTAKA

Alam R, Y Teramoto dan S Hayashida. 1989. Characteristic of raw starch digestible saccharifying a-amylase from *Bacillus substilis* 3018. *Annual Report of ICBiotech.* Osaka University, Japan.

Bansode SD. 2010. Screening of nutritional components for a- amylase production in submerged fermentation by *Bacteria* Isolated from soil using Plackett-Burman Design. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2(1), 91-98.

Bernfeld O. 1995. Amylases a & B. In: *Methods in Enzymology and Related of Biochemistry 1.* SP Colowick and NO Kaplan (Eds). Academic Press, New York.

Jamilah I, A Meryandini, I Rusmana, A Suwanto and NR Mubarik. 2009. Activity of proteolilytic and amylolytic enzymes from *Bacillus* spp. isolated from shrimp ponds. *J. Microbiology Indonesia* 3(2), 67-71.

Kim CH. **1995.** Characterization and substrate specificity of an endo-B-l,4-D-glucanase I (Avicelase I) from an extracellular multienzyme complex of *Bacillus circulans. Appl Environ Microbial* 61, 959-965.

Kiran O, U Comlekcloglu and B Arihan. 2005. Effects of carbon sources and various chemicals on the production of a novel amylase from thermophillic *Bacillus* sp. K-12. *Turk J.Biol.* 29, 99-103.

Madigan MT, JM Martiko and J Parker. 2003. *Biology of Microorganisms.* Tenth Edition. Pearson Education, Inc. USA.

Mangunwardoyo W, M **Takano and I Shibasaki. 1982.** Preservation and Utilization of a Concentrated Seed Culture for Bacterial Amylase Production. *Annual Reports of ICME* 5, Osaka University, Osaka, Japan.

Naiola E. **2001.** Karakterisasi amilase dari isolat bakteri yang berasal dari Bali dan Lombok. *Jurnal Biologi Indonesia* 3(1), 32-42.

Nigam P **and** D **Singh. 1995.** Enzyme and microbial system involved in starch processing. *Enzyme Microb Technol* **17,** 770-778.

Nikolov Z and PJ Reilly. 1993. Enzymatic depolymerization of starch. In: JS Dordick (Ed.). *Biocatalysists for Industry,* 37-62. Plenum, New York.

Nurkanto A. 2007. Identifikasi aktinomisetes tanah hutan pasca-kebakaran Bukit Bangkirai, Kalimantan Timur dan potensinya sebagai pendegradasi selulosa dan pelarut fosfat. *J. Biodiversitas* 8(4), 314-319.

Nurkanto A, M Rahmansyah dan A Kanti, 2008. *Teknik lsolasi Aktinomisetes.* LIPI-Press.

Sadikin M. 2002. *Biokimia Enzim.* Widya Medika, Jakarta..

Thontowi A, Puspaningsih, S Hadi, Purkan, Ni'mahtuzahroh dan B Irawan. 2002. Pencirian produksi amilase oleh *Saccharomyces cerevisiae* W303A rekombinan. *J. Biologi Indonesia* **3(3),** 169-174.

Vihinen M and P Manstala. 1989. *Critical Reviews in Biochemistry and Moleculer Biology* 24, issue 4. Departement of Biochemistry. University of Turku. Turku.

Volk WA and MF Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar.* Jilid 1. S Adisoemarto (Ed.). Erlangga, Jakarta. Terjemahan dari *Basic Microbiology* 5* Ed.