

Analisis Potensi Produksi Enzim Amilase oleh Beberapa Spesies *Bacillus* serta Penentuan Aktivitasnya secara Kualitatif dan Kuantitatif

Geliz Luh Titisari^a, Nurul Haviza^a, Aken Puti Nandi Nanti^a, Syafrizayanti^a,
Prima F. Hillman^{a*}

^a Departemen Kimia, Universitas Andalas, Padang 25156, Indonesia

*Corresponding author: prima.fitria@sci.unand.ac.id

Abstract

This study evaluated the amylolytic potential and extracellular amylase production of *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, and *Bacillus cereus* using qualitative and quantitative approaches. Screening was conducted using starch agar medium, where the formation of clear hydrolysis zones indicated amylase activity. Growth curve analysis was performed to determine the optimal harvest phase for enzyme production. Enzyme production was carried out in a nutrient medium containing starch, and the crude enzyme extract was tested for activity using the Somogyi–Nelson method. The results showed that all *Bacillus* species tested exhibited amylolytic activity, with *B. subtilis* showing the highest amylolytic index (1.97 ± 0.05), whereas *B. cereus* demonstrated the greatest enzymatic performance, with an enzyme activity of 0.221 ± 0.017 U/mL and a specific activity of 5.25 ± 1.31 U/mg protein. These findings indicate that *B. cereus* possesses superior physiological and genetic potential to produce high levels of extracellular amylase compared to *B. subtilis* and *B. thuringiensis*. Therefore, *B. cereus* can be considered a promising candidate for industrial amylase production, and further optimization of fermentation conditions is suggested to enhance enzyme yield and catalytic efficiency.

Keywords

amylase production
enzyme specific activity
Bacillus cereus
Bacillus thuringiensis
Bacillus subtilis

Received: October 2025

Revised: November 2025

Accepted: May 2026

Available online: June 2026

1. Pendahuluan

Enzim adalah biokatalisator makromolekul yang berperan untuk memulai maupun meningkatkan laju ribuan reaksi biokimia dan metabolisme dalam sel hidup^[1]. Amilase adalah istilah umum untuk enzim yang menghidrolisis pati dan glikogen. Amilase dapat dibagi menjadi α -amilase dan β -amilase menurut jenis isomer hidrolisatnya. Enzim Amilase (1,4- α -D-glukano hidrolase, adalah salah satu enzim yang memiliki kemampuan untuk mengkatalisis pemecahan pati dan turunannya dengan menghidrolisis ikatan α -1,4-glukosidik. Putusnya ikatan glukosidik α - (1-4) dalam pati dan kompleks polisakarida lainnya menghasilkan oligosakarida yang lebih kecil^[2], serta membebaskan gugus pereduksi^[4]. Amilase mewakili sekitar 30% dari seluruh pasar enzim di dunia. Protease adalah yang pertama^[5].

Amilase banyak digunakan dalam produksi industri, misalnya dalam industri pengolahan pati menjadi glukosa, maltose, berbagai jenis dekstrin, dll^[6]. Di bidang tekstil, amilase dimanfaatkan pada proses *desizing*

untuk menghilangkan lapisan pati pada kain, termasuk pada serat sintesis dan sutra berkualitas tinggi. Sementara itu, dalam bidang farmasi dan medis, amilase digunakan sebagai komponen enzim industri, enzim diagnostik, serta obat pencernaan untuk membantu pemecahan karbohidrat dalam tubuh, selain itu, enzim amilase juga banyak dimanfaatkan pada industri pangan, fermentasi, kertas, pakan ternak, hingga deterjen^[7]. Luasnya aplikasi amilase dalam berbagai bidang industri menyebabkan kebutuhan terhadap enzim ini terus meningkat. Oleh karena itu, penelitian mengenai penemuan sumber-sumber baru penghasil amilase menjadi semakin penting dan menarik untuk dilakukan.

Diantara makhluk hidup, tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme memiliki kemampuan untuk memproduksi amilase^[5]. Amilase yang diproduksi oleh mikroorganisme lebih disukai karena ketersediaannya yang luas dan memiliki potensi besar dalam memenuhi kebutuhan industri pengolahan pati, salah satunya adalah bakteri dari genus *Bacillus*. Genus ini dikenal se-

bagai penghasil enzim ekstraseluler yang tahan terhadap kondisi ekstrem seperti suhu tinggi dan pH yang bervariasi. Amilase yang diisolasi dari spesies *Bacillus* yang berbeda memiliki sifat yang berbeda secara signifikan, seperti pH dan suhu optimum serta kebutuhan ion logam, setiap isolat *Bacillus* juga memiliki kemampuan produksi dan karakteristik enzimatis yang berbeda, tergantung pada kondisi pertumbuhan dan faktor genetiknya^[8].

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi beberapa spesies bakteri diantaranya *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, dan *Bacillus cereus* dalam memproduksi enzim amilase serta mengevaluasi aktivitasnya. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai spesies atau isolat yang paling potensial untuk dikembangkan sebagai sumber amilase industri yang efisien dan ekonomis.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan Kimia

Media Nutrient Agar, Nutrient Broth, pati, iodin, pepton, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KCl, reagen Bradford, Reagen Carrez, reagen nelson, reagen fosfomolibdat, serta akuades.

2.2. Peralatan

Cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, spatula, kaca arloji, bunsen, jarum ose, tabung reaksi, *waterbath shaker*, sentrifus, dan spektrofotometer UV-Vis.

2.3. Mikroorganisme

Isolat bakteri *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, serta *Bacillus thuringiensis* didapatkan dari stok gliserol Laboratorium Biokimia departemen Kimia Universitas Andalas yang diisolasi dari tanah tempat pembuangan akhir (TPA) Air dingin kota Padang^[9].

2.4. Prosedur Penelitian

2.4.1. Skrining Bakteri dengan Aktivitas Enzim Amilase

Media untuk skrining aktivitas enzim amilase dibuat dengan melarutkan 0,5 g pepton; 0,3 g NaCl; 0,2 g pati; dan 2,0 g agar dalam 100 mL akuades, kemudian diatur pH media hingga 7^[10]. Media ini kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan ditunggu hingga mengeras. Isolat tunggal bakteri yang telah berusia 24 jam diinokulasikan pada permukaan agar untuk diuji Sekresi amilase. Agar diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan kemudian diwarnai dengan larutan iodin 1%. Isolat positif memiliki aktivitas amilase dideteksi dengan

pembentukan zona bening pati terhidrolisis di sekitar koloni pada lempeng pati^[11]. Skrining dilakukan dengan menentukan nilai Indeks amilolitik bakteri *Bacillus subtilis*. Indeks Amilolitik ditentukan dengan rumus berikut^[12]:

$$\text{Indeks Amilolitik (IA)} = \frac{\text{Diameter zona bening (DZB)}}{\text{Diameter koloni bakteri (DKB)}}$$

2.4.2. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri

Media yang digunakan dalam pembuatan kurva bakteri merupakan media *Nutrient Broth* (NB). Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri dilakukan dengan tahapan berikut, sebanyak 2 ose *Bacillus subtilis* hasil peremajaan diinokulasikan ke dalam 150 ml media NB. Inokulum diinkubasi pada shaker inkubator dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 30°C. Inokulum diambil 10 ml dengan interval waktu tertentu dan diukur jumlah sel dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm^[13].

2.4.3. Produksi Enzim

Sebanyak 1 loop strain isolat bakteri diinokulasikan ke dalam 5 ml media produksi yang dibuat dengan melarutkan 5,0 g pepton; 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,5 g KCl; dan 1,0 g pati dalam 1 Liter akuades^[10], dan diinkubasi selama 24 jam. Sebanyak 2 ml inokulum ditambahkan secara aseptik ke dalam labu produksi, erlenmeyer 250 ml yang berisi 50 ml media produksi, kemudian diinkubasi dengan agitasi pada 180 rpm pada suhu 37°C hingga fase stasioner. Pada akhir fermentasi, sel bakteri dipisahkan dengan ekstrak enzim dengan sentrifugasi pada 5000 rpm pada suhu 4°C, supernatan kemudian dikumpulkan dan digunakan untuk pengujian aktivitas amilase^[1].

2.4.4. Pengujian Aktivitas Enzim dan Aktivitas Spesifik

Enzim amilase diuji berdasarkan aktivitasnya dalam memecah pati menjadi molekul lebih kecil seperti gula-gula pereduksi. Campuran reaksi yang berisi 1 mL:1% pati sebagai substrat, 50 mM PBS pH 7, serta ekstrak enzim, diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C. Analisis kadar gula yang dipecah oleh enzim amilase dilakukan secara spektrofotometri dengan metode Somogyi-Nelson. Kurva standar glukosa dibuat dengan variasi konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/mL. Sebanyak 1 mL sampel yang telah dipersiapkan serta larutan standar berbagai konsentrasi ditambahkan dengan 1 mL reagen Nelson kemudian dipanaskan dengan *waterbath* selama 20 menit. Setelah itu sampel didinginkan hingga mencapai suhu ruang (25°C) lalu

ditambahkan dengan 1 mL reagen fosfomolibdat dan divortex, kemudian ditambahkan dengan 7 mL akuades. Selanjutnya sampel dianalisis dengan mengukur serapannya pada panjang gelombang 540 nm^[14]. Aktivitas enzim dihitung dalam satuan Unit Enzim (U), yaitu jumlah enzim yang diperlukan untuk menghasilkan 1 μmol gula reduksi (maltosa atau glukosa) per menit. Rumus yang digunakan^[15]:

$$\text{Aktivitas Enzim} \left(\frac{\text{U}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{C} \times \text{H}}{\text{BM glukosa} \times \text{t} \times \text{E}}$$

Keterangan:

C	: Konsentrasi glukosa ($\mu\text{g/mL}$)
BM Glukosa	: 180 $\mu\text{g}/\mu\text{mol}$
H	: Total volume enzim-substrat (mL)
E	: Volume Enzim (mL)
t	: Waktu inkubasi (menit).

Penentuan protein dilakukan untuk menentukan konsentrasi enzim amilase yang didapatkan. Deret standar protein yaitu BSA (*Bovine serum albumin*) dibuat dengan variasi: 0; 20; 40; 60; 80; dan 100 $\mu\text{g/mL}$. 0,5 mL dari masing-masing deret standar protein serta sampel ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Pereaksi Bradford ditambahkan sebanyak 10 mL ke masing-masing tabung reaksi yang sudah terisi oleh sampel tadi. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 10 menit. Nilai absorbansi larutan standar diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Hasil nilai absorbansi larutan standar diplotkan untuk mendapatkan persamaan garis lurus. Grafik dibuat hingga mendapatkan persamaan $y = ax + b$. Setelah itu dilakukan penghitungan Aktivitas spesifik enzim dengan rumus^[15]:

$$\text{Aktivitas Spesifik} \left(\frac{\text{U}}{\text{mg}} \right) = \left(\frac{\text{Aktivitas Enzim (U/mL)}}{\text{Kadar Protein (mg/mL)}} \right)$$

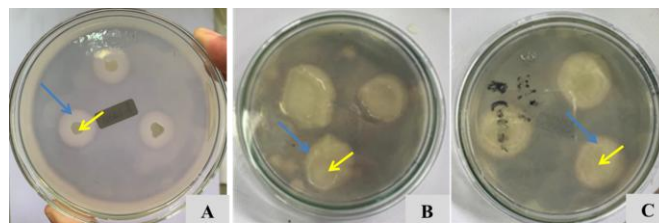
3. Hasil dan Diskusi

3.1. Indeks Amilolitik

Skrining terhadap bakteri dilakukan untuk menentukan ada atau tidaknya aktivitas amilase yang dihasilkan oleh masing-masing spesies bakteri *Bacillus*. Hasil skrining ditampilkan pada Gambar 1 dan Tabel 1.

Hasil skrining awal ini menunjukkan bahwa ketiga jenis spesies bakteri *Bacillus* termasuk ke dalam jenis bakteri amilolitik yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim amilase. Adapun nilai Indeks amilolitik terbesar dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* yaitu

sebesar 1,97. Nilai indeks amilolitik dipengaruhi oleh kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim, difusi enzim di dalam agar, laju pertumbuhan mikroba, ukuran koloni, serta kondisi media, maka dari itu, nilai indeks amilolitik belum bisa menyatakan secara kuantitatif aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh masing-masing bakteri.



Keterangan:

→ Zona bening
→ koloni

Gambar 1. Diameter zona bening dan koloni *Bacillus subtilis* (a), *Bacillus cereus* (b), dan *Bacillus Thuringiensis* (c)

Tabel 1. Diameter zona bening dan koloni bakteri

Diameter	Zona bening (mm)	Koloni (mm)	Indeks amilolitik
<i>Bacillus subtilis</i>	11,3 ± 0,28	5,73 ± 0,25	1,97 ± 0,05
<i>Bacillus cereus</i>	26,9 ± 2,00	19,8 ± 3,36	1,37 ± 0,12
<i>Bacillus Thuringiensis</i>	12,6 ± 2,64	12,6 ± 0,69	1,01 ± 0,25

*pengukuran dilakukan dengan 3 kali pengulangan (n=3)

Penelitian sebelumnya yang melakukan pengujian indeks amilolitik terhadap bakteri *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari tanah yang dicampur dengan limbah kulit singkong menunjukkan indeks amilolitik sebesar 3,12^[16], penelitian lainnya mendapatkan nilai amilolitik sebesar 5,89^[17]. Enzim amilase berperan dalam menghidrolisis pati (amilum), yang merupakan polisakarida, menjadi molekul yang lebih kecil seperti maltosa, glukosa, dan dekstrin. Prinsip dasar dari uji yodium adalah reaksi spesifik antara yodium dan pati, yang menghasilkan kompleks berwarna biru hingga ungu, tergantung pada struktur pati yang ada. Warna yang terbentuk akan berubah atau memudar ketika pati terurai menjadi produk yang lebih kecil akibat aktivitas enzim amilase^[18].

Yodium (I_2) dalam larutan lugol dapat berinteraksi dengan rantai pati yang memiliki struktur heliks. Interaksi ini terjadi karena molekul yodium tersusun di dalam rongga heliks dari molekul amilosa (komponen linear dari pati), menghasilkan kompleks berwarna

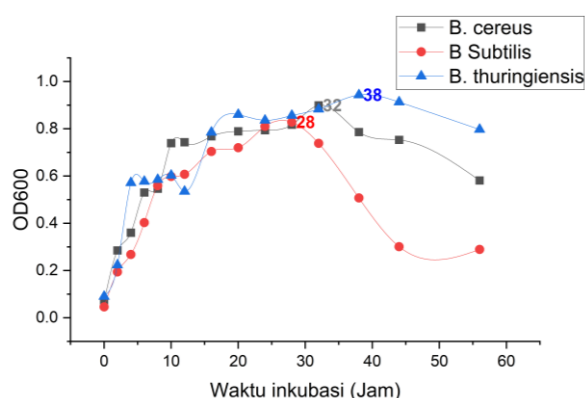
biru^[19]. Kompleks ini hanya terbentuk jika struktur heliks cukup panjang, sehingga oligomer pati pendek seperti maltosa atau dekstrin tidak dapat membentuk kompleks serupa. Saat enzim amilase memecah pati menjadi molekul-molekul kecil, struktur heliks menjadi terganggu, sehingga kompleks pati-yodium tidak dapat terbentuk atau warnanya memudar. dengan demikian, intensitas warna yang dihasilkan dapat menjadi indikator keberadaan dan jumlah pati dalam larutan, yang secara langsung mencerminkan aktivitas enzim amilase^[19].

3.2. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Produksi enzim oleh mikroorganisme, termasuk *Bacillus*, sangat dipengaruhi oleh fase pertumbuhan selnya. Oleh karena itu, analisis kurva pertumbuhan bakteri menjadi dasar penting dalam menentukan waktu optimal pemanenan enzim amilase agar aktivitas yang dihasilkan mencapai tingkat maksimum. Kurva pertumbuhan bakteri umumnya terdiri dari empat fase utama, yaitu fase lag, fase log (eksponensial), fase stasioner, dan fase kematian^[20], ^[21].

Produksi optimal enzim amilase umumnya terjadi pada fase stasioner awal hingga pertengahan. Pada fase ini, pertumbuhan sel mulai melambat akibat keterbatasan nutrisi dan akumulasi produk metabolik, sehingga bakteri mulai mengalihkan aktivitas metabolismenya ke arah produksi metabolit sekunder, termasuk enzim ekstraseluler seperti amilase. Pada fase ini, sel telah mencapai kepadatan optimum, dan sekresi enzim ke medium mencapai titik maksimum^[22], oleh karena itu, periode pemanenan enzim yang ideal biasanya berada pada akhir fase logaritmik atau awal fase stasioner.

Hasil Kurva pertumbuhan bakteri yang ditampilkan pada Gambar 2 menunjukkan bahwa masing masing bakteri *Bacillus* memiliki waktu pemanenan yang berbeda berdasarkan awal fase stasionernya.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan bakteri

Bakteri *Bacillus subtilis* mengawali fase stasionernya pada jam ke-28, *Bacillus cereus* pada jam ke-32, dan *Bacillus thuringiensis* berada pada fase awal stasioner setelah 38 jam. Pada bakteri, Fase stasioner dapat bervariasi secara signifikan karena beberapa faktor, termasuk ketersediaan nutrisi, adaptasi metabolik, dan pengaruh genetik. Keberagaman intraseluler dan faktor genetik berkontribusi pada variasi fenotipik dalam populasi bakteri, mempengaruhi bagaimana sel yang berbeda merespons kondisi fase stasioner. menyebabkan variasi dalam kelangsungan hidup bakteri

3.3. Aktivitas Enzim dan Aktifitas spesifik Enzim Amilase Kasar

Aktivitas enzim menyatakan ukuran kemampuan suatu enzim (seberapa cepat) untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis pati (amilum) menjadi gula sederhana^[23], adapun Aktivitas spesifik menunjukkan jumlah unit enzim per miligram protein. Satuan ini digunakan untuk mengukur kemurnian enzim dalam campuran^[24]. Enzim Amilase menghidrolisis pati dengan mekanisme pengikatan molekul substrat (seperti pati) ke sisi aktif enzim. Enzim ini bekerja secara endoenzimatis, memecah ikatan glikosidik α -1,4 secara acak di dalam molekul substrat. Produk utama dari reaksi ini adalah oligosakarida dan disakarida seperti maltose dan glukosa, yang merupakan salah satu jenis gula pereduksi. Metode Somogyi-Nelson digunakan dalam penelitian ini untuk mendeteksi adanya gugus gula pereduksi yang terbentuk akibat aktivitas enzim amilase^[25], ^[26].

Hasil penelitian pada Tabel 2 menunjukkan bahwa Bakteri *B. cereus* memiliki aktivitas enzim tertinggi yaitu sebesar 0,221 U/mL, yang berarti setiap 1 mL ekstrak enzim mampu mengubah 0,221 μ mol substrat per menit, sedangkan aktifitas spesifiknya sebesar 5,25 U/mg.

Tabel 2. Aktivitas enzim dan aktivitas spesifik enzim amilase dari masing-masing bakteri

Bakteri	Konsentrasi Glukosa (μ g/mL)	Konsentrasi protein terlarut (μ g/mL)	Aktivitas Enzim (U/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
<i>B.cereus</i>	133,07 $\pm$ 10,21 8	43,933 $\pm$ 11,01 5	0,221 $\pm$ 0,01 7	5,25 $\pm$ 1,3 1
<i>B.subtilis</i>	42,423 $\pm$ 4,497	27,266 $\pm$ 4,163	0,070 $\pm$ 0,00 7	2,61 $\pm$ 0,1 5
<i>B.thuringiensis</i>	63,961 $\pm$ 1,200	29,266 $\pm$ 3,055	0,106 $\pm$ 0,00 2	3,67 $\pm$ 0,4 2

*pengukuran dilakukan dengan 3 kali pengulangan (n=3)

Penelitian sebelumnya juga telah melaporkan adanya aktivitas spesifik enzim amilase kasar dari *B. cereus* sebesar 1.11 U/mg tanpa adanya pemurnian^[27], sedangkan aktivitas lebih tinggi diproduksi oleh bakteri *B. cereus* strain PW4 melalui kondisi produksi yang teroptimasi nilai aktivitas enzim 141.91 U/mL^[28], sedangkan informasi mengenai aktivitas spesifik enzim amilase yang dihasilkan oleh *B. cereus* dilaporkan oleh Annamalai mencapai 43,9 U/mg setelah dilakukan pemurnian dengan kromatografi DEAE-cellulase^[29].

Rendahnya aktivitas enzim dapat dikaitkan dengan beberapa faktor, termasuk kondisi produksi enzim. Kondisi optimal untuk produksi enzim amilolitik pada spesies *Bacillus* bervariasi, dengan penelitian menunjukkan bahwa aktivitas maksimum terjadi pada suhu inkubasi enzim yaitu pada suhu 50°C dan tingkat pH (sekitar 6,5-7)^[30] selain itu pemilihan strain dan optimalisasi kondisi pertumbuhan sangat penting untuk meningkatkan potensi amilolitik^[31].

Sementara itu, rendahnya aktivitas spesifik dapat dipengaruhi oleh kadar protein dan kemurnian enzim. Penelitian oleh Bano (2011) yang melakukan pemurnian pada enzim yang diisolasi dari spesies *Bacillus* mendapatkan kemurnian enzim sebesar 96,3 kali lipat, menunjukkan aktivitas spesifik enzim yang besar mencapai 1773 U/mg^[32], penelitian lain menunjukkan aktivitas spesifik sebesar 13,19 U/mg dengan adanya pemurnian parsial enzim α -amilase dari *B. subtilis* (MTCC 121)^[8].

Studi sebelumnya melaporkan bahwa *B. cereus* memiliki kemampuan fisiologis dan genetik dalam mensintesis enzim ekstraseluler dalam jumlah besar. *B. cereus* memiliki banyak gen yang mengkode amilase, seperti AmyC, AmyP, dan AMYs, dengan AMYs sangat penting untuk produksi amilase ekstraseluler^[33]. *B. cereus* juga dikenal sebagai bakteri yang adaptif terhadap variasi kondisi lingkungan dan mampu memproduksi berbagai enzim hidrolitik, termasuk amilase, protease, dan lipase, yang berperan dalam degradasi substrat kompleks seperti pati. Enzim-enzim ini umumnya bersifat termostabil dan aktif pada rentang pH yang luas, sehingga mendukung efisiensi katalitiknya^[34].

Beberapa penelitian melaporkan bahwa *B. cereus* menghasilkan amilase dengan aktivitas spesifik yang lebih besar dibandingkan *B. subtilis*^[35]. Hal ini mengindikasikan bahwa *B. cereus* tidak hanya memproduksi lebih banyak enzim, tetapi juga menghasilkan enzim dengan efisiensi katalitik lebih tinggi terhadap substrat pati, lalu dibandingkan dengan

B. thuringiensis, *B. cereus* menunjukkan aktivitas yang lebih besar karena *B. thuringiensis* lebih dikenal menghasilkan kristal toksin (*Cry protein*) sebagai metabolit utama pada fase stasioner, sehingga sebagian energi sel digunakan untuk pembentukan toksin tersebut, bukan untuk sintesis enzim amilase. Hal ini dapat menjelaskan mengapa produksi amilase *B. thuringiensis* cenderung lebih rendah^[36], ^[37]. Dengan demikian, dari hasil perbandingan ini dapat disimpulkan bahwa *B. cereus* berpotensi menjadi kandidat yang lebih unggul untuk aplikasi industri penghasil amilase, terutama untuk proses-proses yang membutuhkan enzim dengan aktivitas tinggi, stabilitas baik, dan efisiensi katalitik tinggi.

4. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ketiga jenis bakteri *Bacillus* berpotensi menjadi kandidat yang baik untuk aplikasi industri penghasil amilase, *Bacillus cereus* memiliki kemampuan yang cukup baik dengan nilai aktivitas enzim $0,221 \pm 0,017$ U/mL dan aktivitas spesifik enzim $5,25 \pm 1,31$ U/mg. Pengembangan lebih lanjut dapat dilakukan melalui optimasi kondisi fermentasi (pH, suhu, dan sumber karbon) atau rekayasa genetik terhadap bakteri penghasil enzim amilase untuk meningkatkan ekspresi dan stabilitas enzim tersebut.

Kontribusi Penulis

Konseptualisasi: P.F.H.

Kurasi Data: G.L.H., N.H., A.P.N.N.

Analisis Formal: G.L.H., N.H., A.P.N.N.

Investigasi: G.L.H., N.H., A.P.N.N.

Metodologi: P.F.H., S.S.

Supervisi: P.F.H., S.S.

Validasi: G.L.H.

Visualisasi: G.L.H., N.H., A.P.N.N.

Penulisan – draf asli: G.L.H., P.F.H.

Penulisan – peninjauan & penyuntingan: G.L.H., N.H., A.P.N.N., P.F.H., S.S.

Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dalam pengerjaan dan penulisan manuskrip.

Daftar Pustaka

- [1] A. M. Abd-Elaziz, E. A. Karam, M. M. Ghanem, M. E. Moharam, and A. L. Kansoh, "Production of a novel α -amylase by *Bacillus atrophaeus* NRC1 isolated from honey: Purification and characterization," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 148, pp. 292–301, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.120>.

- [2] F. L. Inman, H. Walters, L. D. Holmes, N. Carolina, and N. Carolina, "Using α - Amylase from *Bacillus subtilis* as a Catalyst for the Production of Sweet Potato Biofuels .," p. 1600, 2012.
- [3] W. Aehle, "Enzymes in Industry: Production and Applications," in *Enzymes in Industry*, 2007, pp. 13–33.
doi:<https://doi.org/10.1002/9783527617098.ch2>.
- [4] X. Wu, Y. Wang, B. Tong, X. Chen, and J. Chen, "Purification and biochemical characterization of a thermostable and acid-stable alpha-amylase from *Bacillus licheniformis* B4-423," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 109, pp. 329–337, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.004>.
- [5] G. Rajagopalan and C. Krishnan, " α -Amylase production from catabolite derepressed *Bacillus subtilis* KCC103 utilizing sugarcane bagasse hydrolysate," *Bioresour. Technol.*, vol. 99, no. 8, pp. 3044–3050, 2008, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.001>.
- [6] J. E. Nielsen and T. V. Borchert, "Protein engineering of bacterial α -amylases," *Biochim. Biophys. Acta - Protein Struct. Mol. Enzymol.*, vol. 1543, no. 2, pp. 253–274, 2000, doi: [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(00\)00240-5](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(00)00240-5).
- [7] N. Jaiswal and O. Prakash, "Immobilization of Soybean α -amylase on Gelatin and its Application as a Detergent Additive," *Asian J. Biochem.*, vol. 6, no. 4, pp. 337–346, 2011.
- [8] D. Raul, T. Biswas, S. Mukhopadhyay, S. Kumar Das, and S. Gupta, "Production and Partial Purification of Alpha Amylase from *Bacillus subtilis* (MTCC 121) Using Solid State Fermentation," *Biochem. Res. Int.*, vol. 2014, no. 1, p. 568141, Jan. 2014, doi: <https://doi.org/10.1155/2014/568141>.
- [9] F. S. N. REANTO, "IDENTIFIKASI BAKTERI DARI TANAH TEMPAT PEMBUANGAN AKHIR (TPA) AIR DINGIN KOTA PADANG DAN KARAKTERISASI KEMAMPUANNYA DALAM MENDEGRADASI LOW DENSITY POLYETHYLENE (LDPE)," Andalas University, 2024.
- [10] Q. Hu and J. Liu, "Production of α -Amylase by *Bacillus subtilis* QM3 and its Enzymatic Properties," *OALib*, vol. 08, no. 03, pp. 1–8, 2021, doi: [10.4236/oalib.1107291](https://doi.org/10.4236/oalib.1107291).
- [11] S. A. Ahmed, M. A. A. Abdella, G. M. El-Sherbiny, A. M. Ibrahim, A. R. El-Shamy, and S. M. M. Atalla, "Application of one -factor- at-a-time and statistical designs to enhance α -amylase production by a newly isolate *Bacillus subtilis* strain-MK1," *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 22, p. 101397, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbab.2019.101397>.
- [12] I. B. W. Gunam, I. G. A. Sujana, I. M. M. Wijaya, Y. Setiyo, I. W. W. P. Putra, and L. Suriati, "Isolation and selection of amylase-producing microbes isolated from ragi tape and cassava tape available on the markets," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 913, no. 1, 2021, doi: [10.1088/1755-1315/913/1/012041](https://doi.org/10.1088/1755-1315/913/1/012041).
- [13] D. Istia'nah, U. Utami, and A. Barizi, "Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus megaterium* pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat," *J. Ris. Biol. dan Apl.*, vol. 2, no. 1, p. 11, 2020, doi: [10.26740/jrba.v2n1.p11-17](https://doi.org/10.26740/jrba.v2n1.p11-17).
- [14] N. Sari, M. Razali, and K. Kunci, "Penetapan Kadar Glukosa Reduksi dari Sirup Glukosa Hasil Hidrolisa Selulosa dari Limbah Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L) dengan Asam Klorida," *J. Indones. Soc. Intergrated Chem.*, vol. 13, no. 2, pp. 98–104, 2021, [Online]. Available: <https://doi.org/10.22437/jisic.v13i2.14731>
- [15] U. Hasanah and T. Ardyati, "Amylolytic Activity of Bacterial Strains Isolated from Sago," no. June, 2020.
- [16] W. F. E. Hanzen, U. S. Hastuti, S. P. Makkadafi, P. M. Al Asna, and F. S. A. Nugraheni, "ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI AMILOLITIK DARI TANAH YANG TERCAMPUR LIMBAH KULIT UBI KAYU DI BONDOWOSO, JAWA TIMUR," *Annu. Res. Rep.*, 2017, [Online]. Available: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:192286736>
- [17] Y. K. Basitoh, E. Suarsini, and S. Prabaningtyas, "Eksplorasi bakteri amilolitik Potensial dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Telaga Ngebel," *Ilmu Hayat*, vol. 3, no. 2, pp. 52–63, 2019, [Online]. Available: <https://journal2.um.ac.id/index.php/jih/article/view/22595/8256>
- [18] M. Borkowska, W. Białas, M. Kubiak, and E. Celińska, "Rapid micro-assays for amylolytic activities determination: customization and validation of the tests," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 103, no. 5, pp. 2367–2379, 2019, doi: [10.1007/s00253-018-09610-0](https://doi.org/10.1007/s00253-018-09610-0).
- [19] S. Pesek and R. Silaghi-Dumitrescu, "The Iodine/Iodide/Starch Supramolecular Complex," 2024. doi: [10.3390/molecules29030641](https://doi.org/10.3390/molecules29030641).
- [20] Y. P. Khasa and S. Mohanty, "Growth Physiology and Kinetics BT - Fundamentals of Bacterial Physiology and Metabolism," R. Gupta and N. Gupta, Eds., Singapore: Springer Singapore, 2021, pp. 137–179. doi: [10.1007/978-981-16-0723-3_5](https://doi.org/10.1007/978-981-16-0723-3_5).
- [21] B. Sasidhar, "Optimization of α -Amylase Synthesis by *Bacillus velezensis*: A Comparative Study of Taguchi Experimental Design and Box-Behnken Design for Enhanced Enzyme Production," *Asian J. Pharm.*, vol. 19, no. 01 SE-ORIGINAL ARTICLES, Mar. 2025, doi: [10.25077/jku.15.1.1-7.2026](https://doi.org/10.25077/jku.15.1.1-7.2026)

- 10.22377/ajp.v19i01.6105.
- [22] A. N. Yadav *et al.*, "Chapter 20 - Metabolic Engineering to Synthetic Biology of Secondary Metabolites Production," V. K. Gupta and A. B. T.-N. and F. D. in M. B. and B. Pandey, Eds., Amsterdam: Elsevier, 2019, pp. 279–320. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63504-4.00020-7>.
- [23] J. LI, "Kinetics of β -Amylase-catalyzed Hydrolysis of Corn Starch," *Food Sci.*, 2009, [Online]. Available: https://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-SPKX200917045.htm
- [24] B. Vengadaramana and V. Arasaratnam, "Purification and comparison properties of crude enzyme with purified α -amylase from *Bacillus licheniformis* ATCC 6346," *Eur. J. Exp. Biol.*, vol. 1, no. 3, 2011, [Online]. Available: <https://www.imedpub.com/articles/purification-and-comparison-properties-of-crude-enzyme-with-purified-amylase-from-bacillus-licheniformis-atcc-6346.pdf>
- [25] S. Das, U. Raucci, R. P. P. Neves, M. J. Ramos, and M. Parrinello, "How and When Does an Enzyme React? Unraveling α -Amylase Catalytic Activity with Enhanced Sampling Techniques," *ACS Catal.*, vol. 13, no. 12, pp. 8092–8098, Jun. 2023, doi: 10.1021/acscatal.3c01473.
- [26] M. Marengo *et al.*, "Evaluation of Porcine and *Aspergillus oryzae* α -Amylases as Possible Model for the Human Enzyme," *Processes*, vol. 10, p. 780, Apr. 2022, doi: 10.3390/pr10040780.
- [27] M. Krishma and S. Radhathirumalaiarasu, "Isolation , Identification and Optimization of Alkaline Amylase Production from *Bacillus cereus* Using Agro-Industrial Wastes," vol. 6, no. 1, pp. 20–28, 2017.
- [28] D. P. Elechi, O. C. Jason, A. Onyewuchi, and O. Akuma, "Optimization of *B. cereus* PW4 alpha amylase production by OVAT technique," vol. 20, no. 01, pp. 83–90, 2022.
- [29] N. Annamalai, R. Thavasi, S. Vijayalakshmi, and T. Balasubramanian, "Extraction, Purification and Characterization of Thermostable, Alkaline Tolerant α -Amylase from *Bacillus cereus*," *Indian J. Microbiol.*, vol. 51, no. 4, pp. 424–429, Oct. 2011, doi: 10.1007/s12088-011-0160-z.
- [30] D. Barman and M. S. Dkhar, "Amylolytic activity and its parametric optimization of an endophytic bacterium *Bacillus subtilis* with an ethno-medicinal origin," *Biologia (Bratisl.)*, vol. 70, no. 3, pp. 283–293, 2015, doi: 10.1515/biolog-2015-0047.
- [31] Vijayalakshmi, K. Sushma, S. Abha, and P. Chander, "Isolation and Characterization of *Bacillus Subtilis* KC3 for Amylolytic Activity," vol. 2, no. 5, pp. 336–341, 2012.
- [32] S. Bano, S. A. Ul Qader, A. Aman, M. N. Syed, and A. Azhar, "Purification and characterization of novel α -amylase from *Bacillus subtilis* KIBGE HAS.," *AAPS PharmSciTech*, vol. 12, no. 1, pp. 255–261, Mar. 2011, doi: 10.1208/s12249-011-9586-1.
- [33] Q. Huang *et al.*, "Production of extracellular amylase contributes to the colonization of *Bacillus cereus* 0–9 in wheat roots," *BMC Microbiol.*, vol. 22, no. 1, p. 205, 2022, doi: 10.1186/s12866-022-02618-7.
- [34] A. Acharya and S. Subedi, "Efficient Extraction and Optimization of Amylase and Protease from *Bacillus* Species: A Comprehensive Study," *J. Appl. Res. Plant Sci.*, vol. 6, no. 1, pp. 34–47, May 2025, doi: 10.38211/joarps.2025.06.304.
- [35] O. Ajayi and O. Fagade, "Purification profile of β -amylase from *Bacillus* species," *Sci. Res. essays*, Jun. 2013.
- [36] I. M. Al-Far, "Bacillus thuringiensis and its pesticidal crystal proteins," *Int. J. Fauna Biol. Stud.*, vol. 7, no. 3, pp. 157–162, 2020, [Online]. Available: <https://www.faunajournal.com/archives/?year=2020&vol=7&issue=3&part=C&ArticleId=705>
- [37] V. Savini and P. Fazii, "Chapter 12 - *Bacillus thuringiensis* Insecticide Properties," V. B. T.-T. D. F. of *B. cereus* Savini, Ed., Academic Press, 2016, pp. 139–155. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801474-5.00012-8>.