

**ISOLASI, OPTIMALISASI PRODUKSI, DAN KARAKTERISASI  
AMILASE EKSTRASELULER DARI BAKTERI HALOFILIK ISOLAT  
TAMBAK GARAM DESA LES, KECAMATAN TEJAKULA, KABUPATEN  
BULELENG, BALI**

**Oleh**

**Putu Samkhya Ananda Maheswari, NIM 2253015010**

**Program Studi D4 Kimia Terapan**

**ABSTRAK**

Peningkatan pemanfaatan amilase sebagai biokatalis pada industry menyebabkan permintaan terhadap enzim ini meningkat secara signifikan. Untuk itu diperlukan Upaya untuk meningkatkan kapasitas produksi amilase, salah satunya melalui eksplorasi mikroba penghasil amilase yang unggul. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi, mengoptimalisasi dan mengkarakterisasi amilase ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri halofilik isolat tambak garam Desa Les, Kecamatan Tejakula, Kabupaten Buleleng, Bali. Penelitian ini diawali dengan mengisolasi bakteri halofilik dari sampel air garam dan tanah garam yang diperoleh dari tambak garam menggunakan media Luria Bertani. Aktivitas amilase ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri selanjutnya diuji secara kualitatif menggunakan media starch agar (SA) dan secara kuantitatif menggunakan media produksi amilase. Selanjutnya dilakukan skrining untuk memperoleh isolate bakteri penghasil amilase terbaik. Bakteri isolate terbaik diidentifikasi melalui analisis filogenetik menggunakan gen 16s rRNA. Produksi amilase oleh bakteri terbaik selanjutnya dioptimalkan melalui optimalisasi media produksi dan waktu inkubasi. Amilase selanjutnya diproduksi dan dikarakterisasi terhadap beberapa parameter, yaitu: pH, temperatur, kadar garam, dan kation divalent. Aktivitas amilase diukur dengan metode spektrofotometri menggunakan reagen *dinitrosalicylic acid* (DNS). Hasil penelitian memperoleh beberapa bakteri halofilik yang menunjukkan kemampuan menghasilkan amilase ekstraseluler. Satu isolate bakteri, yaitu TG5 adalah penghasil amilase terbaik dengan aktivitas sebesar 0,63 U/mL. Berdasarkan analisis foligenetik, isolat TG5 memiliki 99,92% kemiripan dengan bakteri *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* starin BDW 1.1.3 Hasil optimalisasi media produksi diperoleh kadar optimum, yaitu: CaCl<sub>2</sub> (0,0003% b/v), NaCl (5,436% b/v), dan starch (0,1% b/v), dan hasil optimalisasi waktu inkubasi diperoleh nilai optimal

pada waktu 14 jam. optimalisasi media produksi dan waktu inkubasi mampu meningkatkan aktivitas amilase dari 0,63 U/mL menjadi 1,20 U/mL. Hasil karakterisasi, amilase ekstraseluler menunjukkan aktivitas optimum pada pH 7, temperatur 52,2°C, dan kadar garam 3% b/v dengan aktivitas sebesar 1,86 Unit/mL. Amilase ekstraseluler memiliki toleransi yang baik terhadap kadar garam (NaCl) dari 0%-9%. Hasil uji pengaruh beberapa ion logam menunjukkan belum ditemukan kation yang mampu meningkatkan aktivitas amilase, sementara ion-ion  $Pb^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ , dan  $Sn^{2+}$  mampu menurunkan aktivitas amilase secara signifikan. Selain itu, ion  $Cu^{2+}$  dapat menyebabkan amilase dari bakteri halofilik isolat TG5 kehilangan aktivitas katalisisnya. Keberadaan EDTA menurunkan aktivitas amilase ekstraseluler secara signifikan, sehingga termasuk golongan *metalloenzyme*. Berdasarkan hasil yang diperoleh, amilase ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri halofilik *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* TG5 ini memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai biokatalis untuk keperluan industri.

kata kunci: bakteri halofilik, tambak garam, amilase ekstraseluler, *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*.



**ISOLATION, OPTIMIZATION OF PRODUCTION, AND  
CHARACTERIZATION OF EXTRACELLULAR AMYLASE FROM  
HALOPHILIC BACTERIA ISOLATE OF SALT POND LES VILLAGE,  
TEJAKULA DISTRICT, BULELENG DISTRICT, BALI**

By

**Putu Samkhya Ananda Maheswari, NIM 2253015010**

**D4 Applied Chemistry Study Program**

**ABSTRACT**

The increasing use of amylase as a biocatalyst in industry has caused demand for this enzyme to increase significantly. For this reason, efforts are needed to increase amylase production capacity, one of which is through exploring superior amylase-producing microbes. The aim of this research was to isolate, optimize and characterize extracellular amylase produced by halophilic bacteria from salt pond isolates in Les Village, Tejakula District, Buleleng Regency, Bali. This research began by isolating halophilic bacteria from samples of salt water and salt soil obtained from salt ponds using Luria Bertani media. The activity of extracellular amylase produced by bacteria was then tested qualitatively using starch agar (SA) media and quantitatively using amylase production media. Next, screening was carried out to obtain the best amylase-producing bacterial isolates. The best bacterial isolates were identified through phylogenetic analysis using the 16s rRNA gene. Amylase production by the best bacteria is then optimized through optimizing the production media and incubation time. Amylase is then produced and characterized for several parameters, namely: pH, temperature, salt content and divalent cations. Amylase activity was measured by spectrophotometric methods using reagents *dinitrosalicylic acid* (DNS). The research results showed that several halophilic bacteria showed the ability to produce extracellular amylase. One bacterial isolate, namely TG5, was the best amylase producer with an activity of 0.63 U/mL. Based on phylogenetic analysis, the TG5 isolate had 99.92% similarity to bacteria *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* strain BDW 1.1.3. The results of optimizing the production media obtained optimum levels, namely: CaCl<sub>2</sub> (0.0003% w/v), NaCl (5.436% w/v), and starch (0.1% w/v), and the results of incubation time optimization obtained optimal values at 14 hours. Optimization of production media and incubation time able to increase amylase activity from 0.63 U/mL to 1.20 U/mL. The characterization results showed that extracellular amylase showed optimum activity at pH 7, temperature 52.2°C, and a salt content of 3% w/v with an activity of 1.86 Units/mL. Extracellular amylase has good tolerance to salt levels (NaCl) from 0%-9%. The results of tests on the influence of several metal ions show that no cations have been found that can increase amylase activity, while

$Pb^{2+}$  ions,  $Fe^{2+}$ , and  $Sn^{2+}$  able to reduce amylase activity significantly. In addition,  $Cu^{2+}$  ions can cause amylase from halophilic bacteria isolate TG5 to lose its catalytic activity. The presence of EDTA reduces extracellular amylase activity significantly, so it is included in the group *metalloenzyme*. Based on the results obtained, extracellular amylase is produced by halophilic bacteria *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* TG5 has the potential to be developed as a biocatalyst for industrial purposes.

**key words:** halophilic bacteria, salt ponds, extracellular amylase, *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*.

