

## KARAKTERISASI ENZIM $\alpha$ -AMILASE PENGGEREK BATANG KUNING (*Scirpophaga Incertulas*) PADA TANAMAN PADI DI JEMBER

Characterization of  $\alpha$ -Amylase Enzyme in Stem Borer (*Scirpophaga Incertulas*) Pests on Rice Plants in Jember

Amri, M. N. S. dan W. I. D. Fanata<sup>1\*</sup>

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Jl. Kalimantan 37 Jember

\* e-mail: irham.amin97@gmail.com

### ABSTRACT

Rice stem borer is one of the most common pests that attack rice plants with an attack intensity of up to 90%. This pest attacks rice plants in various stages of growth ranging from the vegetative to generative phase. The rice stem borer damages plant tissue systems by eating the stems and converting them into carbides in the form of starch from rice plants. Control of stem borer using biotechnology can be done by inhibiting the metabolic cycle of the insect. This control method is carried out by stopping the  $\alpha$ -amylase enzyme using a protein inhibitor available in rice seeds.  $\alpha$ -amylase is an enzyme that plays a role in the degradation process of starch into simpler forms, both in microorganisms, plants and humans. The research was conducted at the Agrotechnology laboratory, Jember University. The research began with the isolation and purification of the  $\alpha$ -amylase enzyme from the brown planthopper and then continued with testing the  $\alpha$ -amylase activity using the Bernfeld method. The test parameters include the effect of temperature, pH, and substrate concentration on the activity of the  $\alpha$ -amylase enzyme.

### INTISARI

Hama ulat grayak (*S. litura*) adalah salah satu hama yang memiliki kisaran inang cukup luas dan dapat merusak tanaman disetiap musim tanam. Kedelai merupakan salah satu tanaman pangan yang kaya protein dan karbohidrat dan sangat potensial ditanam karena nilai ekonomisnya cukup tinggi, sebagai bahan pembuat tempe, tahu dan kecap serta sebagai penyubur tanah dengan cara meningkatkan unsur nitrogen dalam tanah. Serangan ulat grayak dapat menyebabkan kerugian hingga 80% dan pada serangan berat menyebabkan poso (gagal panen). Salah satu pengendalian hama ulat grayak secara biologi dilakukan berdasarkan konsep pengendalian hama terpadu. Parasitoid merupakan serangga yang berperan sebagai agen pengendali hayati yang membunuh hama dengan cara memparasit serangga hama mulai dari telur, larva hingga imago. Inventarisasi parasitoid sangat penting dilakukan untuk mengetahui keragaman jenis parasitoid di suatu area dan mengetahui kemampuan serangga parasitoid dalam mengendalikan suatu hama sehingga dapat diketahui peran parasitoid dalam menekan populasi hama. Penelitian ini menggunakan analisis diskriptif dan Variabel yang diamati yaitu indeks keragaman jenis, tingkat parasitasi, kelimpahan jenis dan indeks kesamaan jenis di daerah yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan ditemukannya 2 jenis serangga parasitoid larva *S. litura* yaitu *S. manilae* dan *Drino sp.* di kedua lahan pengamatan sehingga nilai indeks kesamaan jenis parasitoid di kedua lahan pengamatan tergolong cukup tinggi. Keanekaragaman jenis parasitoid larva *S. litura* di kedua lahan masih terbilang rendah karena nilai  $H' < 1$ . Tingkat parasitasi *S. litura* oleh parasitoid di kedua lahan masih belum optimal. Parasitoid larva *S. manilae* sangat mendominasi di kedua lahan pengamatan.

**How to cite:** Karakterisasi Enzim  $\alpha$ - Amilase Penggerek Batang Kuning (*Scirpophaga incertulas*) pada Tanaman Padi di Jember. *Berkala Ilmiah Pertanian*1(1):Xx-Xx

### PENDAHULUAN

Padi adalah bahan pangan pokok yang utama masyarakat di Asia Tenggara, khususnya Indonesia. Peningkatan produksi dan produktivitas padi harus diupayakan berbanding lurus dengan pertambahan jumlah populasi penduduk. Saat ini diasumsikan konsumsi beras penduduk 139 kg dalam satu keluarga setiap tahun. Serangan hama dan penyakit serta perubahan kondisi iklim menjadi tantangan serius dalam upaya meningkatkan produksi padi (Resiani dan Sunanjaya, 2016). Penggerek batang padi adalah salah satu hama yang paling sering menyerang tanaman padi dengan intensitas serangan sampai 90%. Hama ini menyerang tanaman padi pada berbagai fase pertumbuhan mulai dari fase vegetatif sampai generatif. Gejala yang ditimbulkan dari serangan hama penggerek batang secara umum ada 2 jenis, yaitu sundep dan beluk. Penggerek batang secara umum menyerang tanaman dari mulai fase vegetatif sampai generatif. Penggerek batang tergolong hama yang bersifat endemik dan dapat menyebabkan kehilangan hasil hingga 10-30%, bahkan dapat mengakibatkan gagal panen (puso) pada tahap serangan yang parah (Damayanti, et al., 2015). Penggerek batang menyerang pertanaman padi di seluruh wilayah Indonesia, sepanjang tahun baik pada musim kemarau maupun penghujan.

Penggerek batang padi merusak sistem pembuluh tanaman dengan memakan batang bati dan merubahnya menjadi karbohidrat dalam bentuk pati dari tanaman padi. Proses pencernaan amilum pada penggerek batang melibatkan enzim  $\alpha$ -amilase untuk memecah amilum agar dapat dicerna dan digunakan pada siklus krebs sebagai energi dalam daur hidup penggerek batang padi. Proses ini dapat dihambat dengan protein inhibitor  $\alpha$ -amilase yang bisa didapat dari

tumbuhan, manusia maupun mikroorganisme. Protein inhibitor ini dapat dijumpai pada beberapa jenis tanaman pangan seperti gandum (*Triticum aestivum*), jelai (*Hordeum vulgareum*), sorgum (*Sorghum bicolor*), gandum hitam (*Secale cereale*), padi (*Oryza sativa*), dan beberapa tanaman legume seperti kacang gude (*Cajanus cajan*), kacang tunggak merah (*Vigna unguiculata*), dan kacang (*P. vulgaris*) (Franco et al., 2002).

Pengendalian penggerek batang memanfaatkan bioteknologi dapat dilakukan dengan menghambat siklus metabolisme pada serangga tersebut. Metode pengendalian ini dilakukan dengan cara menghentikan kinerja enzim  $\alpha$ -amilase menggunakan protein inhibitor yang tersedia pada biji padi.  $\alpha$ -amilase merupakan enzim yang berperan dalam proses degradasi pati menjadi bentuk yang lebih sederhana, baik pada mikroorganisme, tumbuhan dan manusia (Franco et al., 2002). Amilase dapat ditemui pada beberapa organisme baik pada tanaman maupun hewan karena memiliki substrat yang bersifat universal, dimiliki oleh hampir seluruh organisme (Aiyer, 2005). Substrat berupa amilum dikonversi oleh amilase dengan memecah ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosida dan  $\alpha$ -1,6-glikosida (Supriyatna, 2015). Berdasarkan daerah awal kerjanya enzim amilase dibedakan menjadi dua yakni endoamilase dan eksoamilase. Endoamilase memecah amilum dari bagian tengah molekul dan disebut  $\alpha$ -amilase, sedangkan eksoamilase memecah amilum dari bagian luar molekul dan disebut  $\beta$ -amilase (Sumardjo, 2009). Enzim  $\alpha$ -amilase merupakan kelompok enzim yang merombak amilum menjadi senyawa turunan yang berukuran lebih kecil. Senyawa baru yang terbentuk dapat berupa glukosa, maltosa dan dekstrin (Sutiarniharja, 2008). Pemanfaatan inhibitor enzim untuk mengendalikan hama dilakukan karena efeknya yang merugikan bagi pertumbuhan dan perkembangan serangga dengan mengganggu proses pencernaan makanan. Pemahaman

biokimia dan fisiologi pencernaan serangga sangat penting ketika mengembangkan metode pengendalian hama serangga menggunakan inhibitor enzim. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengekstraksi  $\alpha$ -amilase dari sistem pencernaan penggerek padi dan mengetahui karakteristiknya berdasarkan pada parameter pengaruh pH, suhu, dan konsentrasi substrat terhadap aktivitasnya.

## METODOLOGI

### Waktu dan Tempat

Penelitian dengan judul "Identifikasi Dan  $\alpha$ -Amilase Penggerek Batang Padi Kuning (*Scirpophaga Incertulas*) pada Tanaman Padi di Jember" telah dilaksanakan di Laboratorium Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember pada bulan Mei 2019 sampai dengan selesai.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan berupa mortar, mikropipet, chamber elektroforesis, UV transiluminator, Frezer. Bahan yang digunakan berupa  $\beta$ -siklodekstrin, amilum, agarose, NaCl, CaCl<sub>2</sub>, reagen 3,5-dinitrosalicylic acid, native PAGE, aquades, KI<sub>2</sub>, buffer natrium phospat, buffer glisin-hidroklorik, buffer sitrat-fosfat, buffer karbonat-bikarbonat, coomassie brilliant biru R-250.

### Prosedur Penelitian.

#### 1. Isolasi dan Pemurnian $\alpha$ amilase dari *Scirpophaga incertulas*

Isolasi dan Pemurnian  $\alpha$ -amilase dari *Scirpophaga incertulas* dilakukan dengan pembekuan 2 gr sampel *Scirpophaga incertulas* dengan menggunakan suhu -20 ° C selama 30 menit. Kemudian *Scirpophaga incertulas* yang telah dibekukan digerus menggunakan mortar dengan 8 ml natrium fosfat 20 mM buffer pH 7 lalu disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang bersih digunakan sebagai bahan  $\alpha$ -amilase (20mg/ml) (Wissesing, et al, 2010).

#### 2. Deteksi aktifitas enzim $\alpha$ -amilase

Supernatan yang didapatkan melalui proses isolasi diuji untuk mengetahui adanya aktifitas enzim  $\alpha$ -amilase. Pengujian dilakukan dengan metode *starch agar plate*. Medium agar yang mengandung 2% pati digunakan dalam metode ini. Media agar dilubangi pada 4 titik, dan diletakkan larutan enzim pada 4 titik tersebut. Medium agar diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 37°C dan kemudian ditambahkan Iodine. Indikasi adanya aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar titik yang ditambahkan enzim penggerek batang kuning.

#### 3. Pengujian aktifitas enzim $\alpha$ amilase

Aktivitas  $\alpha$ -amilase diukur menggunakan metode Bernfeld. 20  $\mu$ l enzim  $\alpha$ -amilase hasil isolasi dari penggerek batang kuning ditambahkan 475  $\mu$ l buffer reaksi amilum 1%. Campuran reaksi kemudian divortex hingga homogen lalu diinkubasi pada suhu 30°C selama 10, 20 dan 30 menit. Reaksi diakhiri dengan menambahkan 500  $\mu$ l reagen 3,5-dinitrosalicylic acid, lalu dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit. Campuran reaksi didinginkan dan selanjutnya absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm.

#### 4. Pengujian pengaruh suhu terhadap enzim $\alpha$ amilase

Pengaruh suhu pada Aktivitas  $\alpha$ -amilase ditentukan dengan inkubasi 20  $\mu$ l  $\alpha$ -amilase dan 475  $\mu$ l buffer reaksi amilum 1% di suhu yang berbeda, yakni 30, 35, 40, 45 dan 45°C. Kondisi pH disesuaikan dengan hasil optimum yang didapatkan pada pengujian sebelumnya. Perlakuan suhu dilakukan dengan 2 interval inkubasi yang berbeda, 10 dan 20 menit. Reaksi dihentikan untuk menambahkan 500 $\mu$ l regent 3,5-dinitrosalicylic. Aktivitas enzim diukur pada spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm.

#### 5. Pengujian pengaruh pH terhadap enzim $\alpha$ amilase

Pengaruh pH pada  $\alpha$ -amilase diukur pada nilai pH yang berbeda. pH disesuaikan menggunakan campuran buffer K-Phosphate dan aquadest sebanyak 50 ml. Penambahan Hcl dan NaOH dilakukan untuk mengatur nilai pH pada angka 5, 6, 7, dan 8. Campuran 20  $\mu$ l  $\alpha$ -amilase dan 475  $\mu$ l buffer reaksi amilum 1% diinkubasi pada 30°C selama 10 menit. Reaksi dihentikan untuk menambahkan 500 $\mu$ l regent 3,5-dinitrosalicylic. Aktivitas enzim diukur diukur pada spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm.

#### 6. Pengujian pengaruh konsentrasi substrat terhadap enzim $\alpha$ -amilase

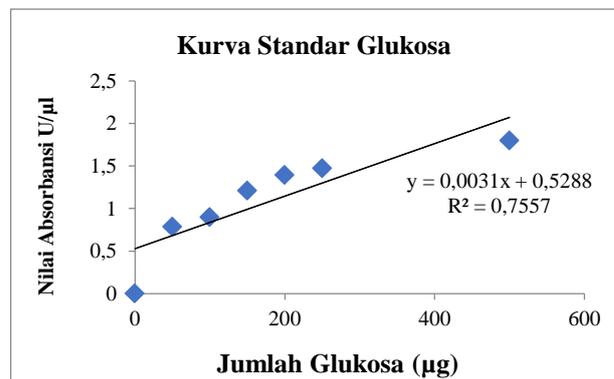
Pengaruh konsentrasi substrat terhadap enzim  $\alpha$ -amilase diukur pada beberapa sampel dengan konsentrasi larutan stock amilum 5  $\mu$ g/ $\mu$ l dengan volume 0, 10, 20, 40, 80, 120, 160 $\mu$ l. Larutan pati sesuai jumlah yang ditentukan ditambahkan 20 $\mu$ l ekstrak enzim  $\alpha$ -amilase dan 475  $\mu$ l buffer reaksi amilum 1% dan aquadest hingga mencapai 1 ml sehingga menghasilkan konsentrasi 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; dan 0,8  $\mu$ g/ $\mu$ l. Campuran diinkubasi selama 10 menit. Kondisi pH dan suhu disesuaikan dengan kondisi optimum yang didapatkan pada pengujian sebelumnya. Reaksi dihentikan untuk menambahkan 500  $\mu$ l reagent 3,5-dinitrosalicylic. Selanjutnya aktivitas enzim diukur pada spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm

#### 7. Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati pada penelitian ini diantaranya sebagai berikut :

#### Penentuan Nilai Kurva Standar Glukosa

Pengukuran aktivitas enzim ditentukan dengan menggunakan metode Lowry dan larutan standar BSA (Bovine Serum Albumin) dengan variasi konsentrasi standar yang diukur pada panjang gelombang 560 nm sehingga diperoleh kurva standar. Dari kurva standar ini kemudian dibuat persamaan garis lurus untuk menghitung aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase (Melisha,2016). Kurva standar glukosa sebagai berikut :



Gambar 1. Persamaan garis lurus untuk menghitung aktivitas enzim

Perhitungan aktivitas enzim dalam variabel pengaruh pH, suhu dan konsentrasi substrat menggunakan persamaan linier yang didapatkan dari kurva standar glukosa sebagai berikut :

$$y = 0,0031x + 0,5288$$

$$R^2 = 0,7557$$

Keterangan : y = nilai absorbansi (hasil spektrofotometer) sampel  
x = aktivitas enzim (U/ml)  
R<sup>2</sup> = koefisien determinasi

#### Perhitungan Protein terlarut enzim $\alpha$ -amilase Penggerek Batang Kuning

Kadar protein ditentukan dengan metode Bradford dengan terlebih dahulu mengukur larutan standar BSA dengan variasi konsentrasi 0, 5, 10, 15, 20, dan 30  $\mu$ l. Jumlah kadar protein terlarut dihitung menggunakan persamaan regresi linier (Utami dkk, 2016)

$$y = ax + b$$

Keterangan : y = absorbansi sampel  
a = konstanta regresi (slope)  
b = konstanta (intersep)  
x = kadar protein pada sampel

**Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase Penggerek Batang Kuning**

Pemberian perlakuan dengan menggunakan beberapa pH tertentu terhadap enzim  $\alpha$ -amilase Penggerek Batang Kuning

**Pengaruh Suhu terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase Penggerek Batang Kuning**

Pemberian perlakuan dengan menggunakan beberapa pH tertentu terhadap enzim  $\alpha$ -amilase Penggerek Batang Kuning.

**Pengaruh Substrat terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase Penggerek Batang Kuning**

Pemberian perlakuan dengan menggunakan beberapa pH tertentu terhadap enzim  $\alpha$ -amilase Penggerek Batang Kuning.

**Nilai Kinetika Enzim**

Dalam reaksi enzim dikenal kecepatan reaksi hidrolisis, penguraian atau reaksi katalisasi lain yang disebut *Velocity* (V). Nilai V dari suatu reaksi enzimatis akan meningkat dengan bertambahnya konsentrasi substrat [S], akan tetapi setelah [S] meningkat lebih lanjut akan sampai pada kecepatan yang tetap. Pada konsentrasi enzim tetap atau tertentu nilai V hamper linier dengan S. Pada Kondisi V tidak dapat bertambah lagi dengan bertambahnya [S] disebut kecepatan maksimum (Vmax). Vmax merupakan salah satu parameter kinetika enzim. Parameter kinetika enzim lain adalah konstanta *Michaelis-Menten*, yang dikenal sebagai Km. Km merupakan konsentrasi substrat yang separuh dari lokasi aktifnya telah terisi, yaitu bila kecepatan reaksi enzim telah mencapai setengah dari Vmax. Penentuan Km dan Vmax untuk menentukan kecepatan maksimal enzim  $\alpha$ -amilase menggunakan persamaan Michaelis-Menten (Ratnayani dkk, 2015)

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m + [S]}{V_{max}[S]} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

- Keterangan :  $V_0$  = laju/ kecepatan awal enzim  
 $V_{max}$  = laju/ kecepatan maksimal enzim  
 $K_m$  = konstanta Michaelis-Menten (konsentrasi substrat pada saat kecepatan setengah dari  $V_{max}$ )  
 $S$  = konsentrasi substrat

**8. Analisa data**

Data dianalisis dengan analisa statistik deskriptif untuk menganalisis data dengan cara mendeskripsikan atau menggambarkan data yang telah terkumpul sebagaimana adanya.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Aktivitas Enzim  $\alpha$ -amilase**

Supernatan yang didapatkan melalui proses isolasi dari wereng coklat diuji pada medium agar yang telah ditambahkan iodine untuk mendeteksi adanya enzim  $\alpha$ -amilase. Hasilnya pengujian pada medium agar, tampak munculnya zona bening yang menunjukkan adanya aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dalam menghidrolisis senyawa pati seperti pada gambar 2. Enzim  $\alpha$ -amilase yang didapatkan kemudian diuji menggunakan metode dinitrosalicic acid (DNS) untuk mengetahui reaksi aktivitasnya berdasarkan pada paramater yang telah ditetapnya.



**Gambar 2.** Hasil pengujian aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase pada media agar.

Hasil pengujian reaksi menunjukkan bahwa enzim  $\alpha$ -amilase memiliki reksi yang baik dalam interval inkubasi yang berbeda. Pada interval 10 menit, nilai absorbansi menunjukkan hasil 0,784. Reaksi juga menunjukkan peningkatan berbanding lurus dengan interval inkubasi pada 20 dan 30 menit.

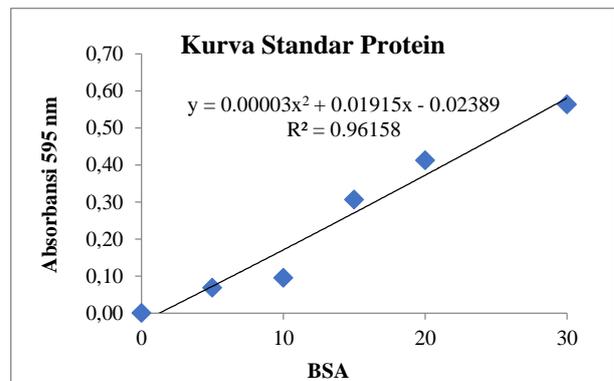
**Tabel 1.** Uji reaksi enzim  $\alpha$ -amilase wereng coklat

Interval Inkubasi (Menit)	Nilai Absorbansi 560 nm
10	0,784
20	1,412
30	1,848

Berdasarkan hasil pengamatan menyatakan bahwa nilai absorbansi yang tinggi menunjukkan adanya akumulasi gula dalam bentuk glukosa yang lebih banyak. Reagen DNS yang sama pada semua sampel penelitian, kadar glukosa 0  $\mu$ g menghasilkan nilai absorbansi 0,87,21 dengan nilai tertinggi pada kadar glukosa 500  $\mu$ g nilai absorbansinya sebesar 1,801. Pada kadar glukosa 50  $\mu$ g nilai absorbansi sebesar 0,786, tidak jauh berbeda dengan kadar glukosa 100  $\mu$ g nilainya 0,899. Kadar glukosa 150, 200, dan 250 nilai absorbansinya juga tidak jauh berbeda yaitu 1,21, 1,396, dan 1,473. Dapat disimpulkan bahwa tingginya nilai serapan absorbansi yang diperoleh menggambarkan konsentrasi glukosa yang tinggi pada larutan yang diuji. Pada proses hidrolisis pati, enzim yang memiliki aktivitas rendah akan berpengaruh pada keefektifannya. Enzim  $\alpha$ -amilase yang memiliki aktivitas rendah dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu kestabilan dan nilai keefektifannya (Reddy *et al.*, 2003).

**Kadar protein terlarut enzim  $\alpha$ -amilase Penggerek Batang**

Hasil absorbansi dari larutan protein standar BSA digunakan untuk membuat kurva standar protein. Kadar protein enzim  $\alpha$ -amilase Penggerek Batang Kuning didapatkan melalui substitusi nilai absorbansi protein enzim  $\alpha$ -amilase pada persamaan regresi dari kurva standar protein. Hasilnya, kadar protein enzim  $\alpha$ -amilase menunjukkan nilai 21,424  $\mu$ g/5 $\mu$ L atau setara dengan 4,28  $\mu$ g/ $\mu$ L.



**Gambar 3.** Kurva Standar Protein

**Tabel 2** Kadar Protein terlarut Penggerek Batang Kuning

Protein Sampel	Nilai Absorbansi 595 nm	Kadar Protein ( $\mu$ g/ $\mu$ L)
Penggerek Batang Kuning	0,410	4,28

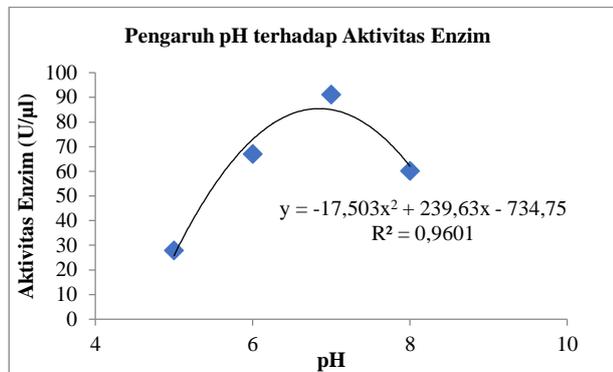
**Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase**

Nilai pH yang berbeda menunjukkan pengaruh terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase, hal ini ditinjau dari nilai absorbansi dan aktivitas enzim yang diperoleh seperti pada tabel 3.

**Tabel 3** Pengaruh pH pada aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase penggerek batang

Buffer pH	Interval Inkubasi	Nilai Absorbansi	Aktivitas Enzim (U/ $\mu$ L)
5	10 Menit	0,088	27,85
6	10 Menit	0,209	66,89
7	10 Menit	0,284	91,08
8	10 Menit	0,188	60,11

Nilai pH paling optimum berdasarkan hasil pengujian yaitu berada pada pH 7 dengan nilai absorbansi tercatat 0,284 dengan lama interval inkubasi sebesar 10 menit dan aktivitas enzim pada pH 7 menunjukkan sebesar 27,85 U/ $\mu$ l. Kondisi pada pH 6 menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda pada kondisi optimum dengan nilai absorbansi 0,209 pada interval inkubasi 10 menit dengan hasil aktivitas enzim sebesar 66,89 U/ $\mu$ l sedangkan dengan penambahan buffer pH yaitu sebesar 8 didapati nilai absorbansi sebesar 0,188 dengan interval inkubasi 10 menit dan aktivitas enzim 60,11 U/ $\mu$ l. Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase terjadi penurunan signifikan pada kondisi pH 5 dengan nilai absorbansi sebesar 0,088 dengan interval inkubasi 10 menit dengan aktivitas enzim sebesar 27,85 U/ $\mu$ l. Berdasarkan data pengujian didapati bahwa penurunan pH dibawah pH optimum berpengaruh pada aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang dapat diamati dari perubahan nilai absorbansi dan aktivitas enzim. Pengaruh kondisi pH yang berbeda terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase penggerek batang kuning dapat diamati pada tabel.



Gambar 4 Grafik pengaruh pH terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase

**Pengaruh Suhu terhadap Enzim  $\alpha$ -amilase**

Pengujian pengaruh perlakuan suhu terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan pada kondisi pH 7 yang menunjukkan kondisi optimum berdasarkan data tabel 4.3. Suhu memberikan pengaruh yang berbeda terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase hasil ekstraksi dari penggerek padi, hal ini ditunjukkan pada nilai absorbansi dan aktivitas enzim yang diperoleh seperti pada tabel 4.4.

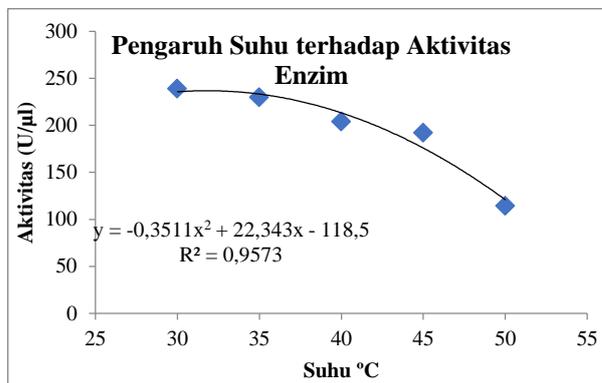
**Tabel 4. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase penggerek padi**

Suhu ( $^{\circ}$ C)	Interval Inkubasi	Nilai Absorbansi	Aktivitas enzim (U/ $\mu$ l)
30	10 Menit	0,743	239,14
35	10 Menit	0,714	229,79
40	10 Menit	0,634	203,98
45	10 Menit	0,597	192,05
50	10 Menit	0,356	114,31

Suhu 30 $^{\circ}$ C menghasilkan kondisi optimum terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase, hal ini ditunjukkan dengan hasil pengukuran nilai absorbansi yang paling tinggi, yakni 0,743 dengan nilai aktivitas enzim sebesar 239,14 U/ $\mu$ l pada inkubasi 10 menit dibandingkan dengan nilai absorbansi pada kondisi suhu lainnya. Rentang suhu 35–50 $^{\circ}$  C menunjukkan nilai absorbansi yang lebih rendah namun tidak berbeda jauh dibandingkan pada kondisi suhu 30 $^{\circ}$  C. Suhu yang semakin tinggi menghasilkan kondisi yang memicu penurunan aktivitas enzim. Hal ini ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang semakin menurun seiring peningkatan suhu. Nilai terendah dihasilkan pada kondisi suhu 50 $^{\circ}$  C dengan nilai absorbansi 0,356 dan nilai aktivitas sebesar 114,31 U/ $\mu$ l interval inkubasi 10 menit. Pengaruh kondisi suhu dan peningkatannya terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase disajikan pada gambar 5.

Suhu memberikan pengaruh yang berbeda terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase hasil ekstraksi dari penggerek padi. Pada hasil penelitian didapatkan bahwa aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase meningkat pada suhu 30 $^{\circ}$ C dengan nilai absorbansi 0,743 yang diinkubasi selama 10 menit. Sebaliknya, suhu di atasnya menghasilkan penurunan aktivitas enzim, yang ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang

semakin menurun seiring peningkatan suhu (Tabel 5). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Istia'nah *dkk.* (2020), tentang karakterisasi enzim amilase dari bakteri *Bacillus megaterium* pada berbagai kondisi suhu, pH dan konsentrasi substrat, diketahui bahwa pada suhu 37 $^{\circ}$ C, bakteri tersebut dapat mencapai aktivitas enzim tertinggi sebesar 1,279 U/ml dan justru mengalami penurunan pada suhu 45 $^{\circ}$ C, dengan aktivitas enzim sebesar 1,202 U/ml. Hasil penelitian dari Vaseekaran *et al.* (2010), memperoleh kesimpulan bahwa enzim amilase dapat aktif menghidrolisis pati pada suhu 25 hingga 95 $^{\circ}$  C dengan tingkat aktivitas yang bervariasi.



Gambar 5. Grafik pengaruh Suhu terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase

Aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh kondisi suhu. Adanya perubahan suhu menjadi penyebab terjadinya pelipatan molekul protein enzim, yang kemudian berpengaruh pada ketepatan posisi sisi aktif enzim untuk menghidrolisis substratnya (Capriyanti, 2014). Pengaruh suhu pada aktivitas enzim disebabkan oleh rangkaian asam amino enzim yang memiliki sistem kerja yang kaitannya erat dengan suhu lingkungan (Tarigan *dkk.*, 2015). Kerusakan enzim dapat disebabkan oleh perlakuan suhu diatas ambang toleransinya, untuk melakukan denaturasi enzim hanya diperlukan waktu singkat dengan kondisi suhu 100 $^{\circ}$  C (Soeka, 2010).

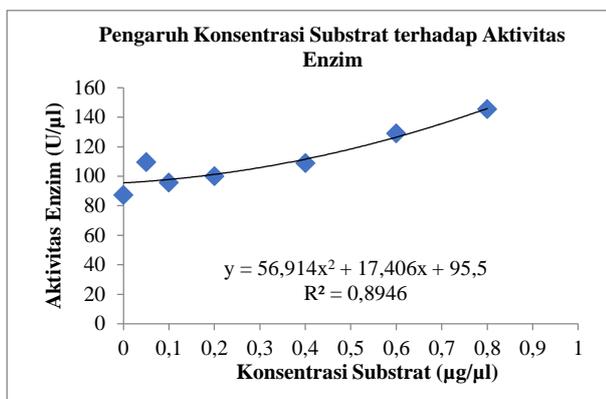
**Pengaruh Konsentrasi Substrat terhadap Enzim  $\alpha$ -amilase**

Konsentrasi substrat amilum yang ditambahkan mempengaruhi aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase berdasarkan pada pengujian yang dilakukan. Hal ini ditinjau dari nilai absorbansi dan aktivitas enzim yang diperoleh seperti pada tabel 5.

**Tabel 5 Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase penggerek padi**

Konsentrasi Substrat ( $\mu$ g/ $\mu$ l)	Jumlah Enzim ( $\mu$ g)	Nilai Absorbansi	Aktivitas enzim (U/ $\mu$ l)
0	85,6	0,272	87,21
0,05	85,6	0,341	109,42
0,1	85,6	0,298	95,6
0,2	85,6	0,311	99,79
0,4	85,6	0,339	108,82
0,6	85,6	0,401	128,82
0,8	85,6	0,452	145,27

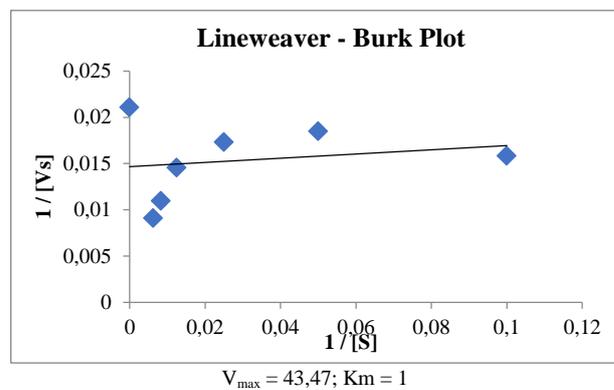
Penambahan konsentrasi substrat berkaitan pada peningkatan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase penggerek padi. Nilai absorbansi tertinggi yaitu 0,452 dihasilkan pada penambahan substrat amilum sebesar 0,8  $\mu$ g dan didapati nilai aktivitas enzim sebesar 145,27 U/ $\mu$ l. Tingginya aktivitas enzim juga dapat diamati pada penambahan konsentrasi sebesar 0,05  $\mu$ g dan 0,6  $\mu$ g yang nilai absorbansinya lebih tinggi dari keadaan kontrolnya yaitu sebesar 0,272 dan 0,401. Aktivitas enzim pada umumnya mengalami peningkatan seiring dengan pertambahan konsentrasi substrat amilum yang ditambahkan. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase penggerek batang dapat diamati pada tabel.



Gambar 6. Grafik pengaruh konsentrasi Substrat terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase

Karakterisasi enzim juga dilihat dari pengaruh konsentrasi substrat optimum penggerek padi dalam memproduksi enzim amilase. Penambahan konsentrasi substrat berkaitan pada peningkatan aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase penggerek padi, Jumlah enzim yang ditambahkan pada masing-masing perlakuan adalah 20  $\mu$ l atau setara dengan 330  $\mu$ g, mengacu pada kadar protein terlarut. Nilai absorbansi tertinggi yaitu 0,452 dihasilkan pada penambahan substrat amilum sebesar 160  $\mu$ L. Aktivitas enzim pada umumnya mengalami peningkatan seiring dengan pertambahan konsentrasi substrat amilum yang ditambahkan. Berdasarkan gambar 5, menunjukkan bahwa penambahan substrat dapat merangsang aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase penggerek padi mencapai optimum sejalan dengan kenaikan konsentrasi substratnya. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi substrat dapat dilakukan hingga mencapai titik maksimal, dimana aktivitas enzim mencapai titik tertingginya. Apabila penambahan konsentrasi substrat yang ditambahkan mengakibatkan penurunan aktivitas enzim maka penambahan harus dihentikan.

Perlakuan pemberian beragam konsentrasi substrat dengan konsentrasi enzim yang tetap bertujuan untuk mengetahui perbandingan konsentrasi substrat yang tetap pada suatu konsentrasi enzim sehingga dapat tercapai aktivitas enzim maksimal. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat memiliki korelasi. Aktivitas meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi substrat hingga mencaoi titik tertentu (Soeka, 2010). Hasil penelitian Rahmansyah dan I Made (2003), menunjukkan bahwa, konsentrasi substrat yang ditingkatkan secara bertahap reaksi hidrolisis pati mengalami peningkatan. Peningkatan tersebut terjadi ketika substrat dapat memenuhi kebutuhan sisi aktif enzim, namun apabila jumlah substrat telah melebihi kebutuhan sisi aktif enzim dapat mengakibatkan adanya kompetisi diantara substrat itu sendiri yang justru mengakibatkan hambatan pembentukan kompleks enzim-substrat. Menurut Purwoko (2009), saat konsentrasi substrat yang diberikan telah dapat mencapai nilai aktivitas enzim maksimal dengan konsentrasi enzim tertentu, maka penambahan substrat yang berikutnya harus didukung dengan penambahan konsentrasi enzim. Hal tersebut dikarenakan pada saat aktivitas enzim optimal seluruh sisi aktif telah ditempati oleh substrat, maka ketika jumlah substrat akan ditambah maka perlu penambahan sisi aktif enzim pula sehingga aktivitas enzim tidak mengalami penurunan.



Gambar 7. Lineweaver – Burk plot dari aktivitas enzim alfa amilase wereng batang coklat pada konsentrasi substrat yang berbeda.

Hasil analisis Lineweaver—burk menunjukkan maximal velocity ( $V_{max}$ ) dari enzim  $\alpha$ -amilase wereng coklat tercatat pada angka 43,47 U/mg protein dan  $K_m$  1%. Nilai  $K_m$  memiliki hubungan yang berbanding terbalik dengan konsentrasi substrat yang dibutuhkan untuk mensaturasi sisi aktif enzim  $\alpha$ -amilase. Sehingga semakin rendah nilai  $K_m$  maka mengindikasikan ikatan yang kuat (Stryer, 1995). Nilai  $K_m$  enzim  $\alpha$ -amilase penggunaan substrat amilum ini tidak jauh berbeda dengan hasil yang didapatkan Zibae *et al* (2012). Enzim  $\alpha$ -amilase dari spesies *Andrallus spinidens* memiliki  $V_{max}$  7.14 U/mg protein dan  $K_m$  1.04% pada substrat pati.

## KESIMPULAN

1. Aktivitas enzim tertinggi diperoleh dari perlakuan dengan suhu 30°C yakni sebesar 239,14 unit. Perlakuan dengan peningkatan suhu hingga 50°C menurunkan aktivitas enzim hingga 63,20% menjadi 114,31 U/mL. Semakin tinggi perlakuan suhu aktivitas enzim semakin menurun.
2. Enzim  $\alpha$ -amilase yang diekstraksi dari sampel *Scirpophaga incertulas* bekerja dengan optimal pada kondisi pH normal (7.0). Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dengan konsentrasi 20  $\mu$ L memiliki efektifitas tertinggi dalam bekerja dengan penambahan substrat dengan konsentrasi 160  $\mu$ L dengan dibuktikan dengan peningkatan aktivitas enzim jika dibandingkan dengan perlakuan penambahan substrat dengan konsentrasi yang lebih rendah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aiyer, P.V. 2005. Amylases and Their Applications. International Rice Research Institute. Los Banos. *African Journal of Biotechnology*. 4: 125–1529.
- Capriyanti, Y., 2014, Optimasi Kondisi Produksi Enzim Amilase dari Bakteri Laut *Bacillus* sp. {Skripsi}. Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Damayanti, E., M. Gatot, and K. Sri. 2015. Perkembangan populasi larva penggerek batang dan musuh alaminya pada tanaman padi (*Oryza sativa* L). *Jurnal Hama dan Penyakit Tanaman* 3 (2): 18-24. Franco, O. L., D. J. Ridgen, F. R. Melo, dan M. F. Grossi-de-Sá. 2002. *Plant  $\alpha$ -Amylase Inhibitors and Theirs Interaction with Insect  $\alpha$ -Amylases (Structure, Function and Potential for Crop Protection)*. *Eur. J. Biochem*, 269: 397-412.
- Franco, O. L., D. J. Ridgen, F. R. Melo, dan M. F. Grossi-de-Sá. 2002. *Plant  $\alpha$ -Amylase Inhibitors and Theirs Interaction with Insect  $\alpha$ -Amylases (Structure, Function and Potential for Crop Protection)*. *Eur. J. Biochem*, 269: 397-412.

- Istia'nah, D., Ulfah Utami, dan Ahmad Barizi. 2010. Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus megaterium* pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*. 2(1): 11-17.
- Melisha., Harpeni E. dan Supono. 2016. Produksi Pengujian Aktivitas Amilase *Bukholderia cepacia* terhadap Substrat Yang Berbeda. *e-JRTBP*. 5(1) : 559-560.
- Purwoko, Tjahjadi. 2009. Fisiologi Mikroba. Jakarta: Bumi Aksara.
- Rahmansyah, M. dan I Made Sudiana. 2003. Optimasi Analisis Amilase Dan Glukanase Yang Diekstrak Dari Miselium *Pleurotus ostreatus* Dengan Asam 3,5 Dinitrosalisilat. *Berk. Penel. Hayati*: 9 (7-12).
- Ratnayani, K., A. A. I. A. M. Laksmiwati, dan M. Sudiarto. 2015. Penentuan Laju Reaksi Maksimal (Vmaks) dan Konstanta Michaelis-Menten (Km) Enzim Lipase Pankreas pada Substrat Minyak Kelapa, Minyak Sawit, dan Minyak Zaitun. *Kimia* 9(1):93-97.
- Reddy NS, A Nimmagadda, and KRSS Rao. 2003. An overview of the microbial  $\alpha$ -amylase family. *African J. Biotechnol.* 2, 645-648.
- Resiani, N. M. D., dan Sunanjaya I W. 2016. Tingkat Parasitasi Parasitoid Telur PBPK Pada Pertanaman Padi dengan Beberapa Ketinggian Tempat. *Informatika Pertanian*. 25(01) : 99-100.
- Soeka, Yati Sudaryati. 2010. Optimasi Dan Karakterisasi  $\alpha$ -Amilase Dariisolat aktinomisetes Yang Berasal Dari Kalimantan Timur. *Berita Biologi*. 10(3): 361-367.
- Sumardjo, Darmin. 2009. Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta. Jakarta: EGC.
- Supriyatna, A., Dea A., Ayu Agustin J., Dyna, H., 2015. *Aktivitas Enzim Amilase, Lipase, dan Protease dari Larva*. ISSN 1979-8911. 9 (2) : 18-20.
- Sutiamiharja N, 2008. *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofilik dari Sumber Air Panas Gurukinayan Karo Sumatera Utara*. USU Repository. Sumatera Utara.
- Tarigan, W. F., Sumardi., dan Setiawan, W.A. 2015. Karakterisasi Enzim Selulase dari Bakteri Selulolitik *Bacillus sp* (Skripsi]. Prodi Biologi, Universitas Lampung.
- Utami, P., S. Lestari, dan S. D. Lestari. 2016. Pengaruh Metode Pemasakan Terhadap Komposisi Kimia dan Asam Amino Ikan Seluang ( *Rasbora argyrotaenia* ). *Teknologi Hasil Perikanan*, 5(1):73-84.
- Vaseekaran, S., Balakumar, S., and Arasaratnam, V. 2010. Isolation and Identification of a Bacterial Strain Producing thermostable  $\alpha$ -Amylase. *Tropical Agricultural Biology*. 22(1): 1-11.
- Wisessing A., and Kiattawee C. 2012. Amylase Inhibitors in Plants : Structures, Functions and Applications. *Functional Plant Science and Biotechnology*. 6 : 31-33.
- Zibae A., Hoda H., dan Fazeli-Dinan M. 2012. Purification and biochemical properties of a salivary  $\alpha$ -amylase in *Andrallus spinidens* Fabricius (Hemiptera: Pentatomidae). *Invertebrate Survival Journal*, 9(1): 48-57.