

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas enzim alfa-amilase dalam proses hidrolisis karbohidrat. Aktivitas enzim diukur secara kualitatif melalui perubahan warna larutan uji menggunakan uji iodium dan uji benedict. Uji iodium mendeteksi keberadaan amilosa (pati), sedangkan uji benedict mendeteksi keberadaan gula reduksi (produksi hidrolisis pati).

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Kupang. Penelitian ini menggunakan alfa-amilase sebagai enzim dan amilum 2% sebagai substrat. Hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.1 sampai Tabel 4.4

Tabel 4.1 Pengaruh pH terhadap enzim alfa-amilase pada uji iodium

pH	Tes iodium		Keterangan
	Warna sebelum	Warna sesudah	
pH Control			
Maltosa (1)	Putih	Coklat	Negatif
Maltosa (2)	Putih	Coklat	Negatif
Normal			
pH 7(1)	Putih	Coklat	Negatif
pH 7(2)	Putih	Coklat	Negatif
Asam			
pH 2 (1)	Putih	Biru Kehitaman	Positif
pH 2 (2)	Putih	Biru Kehitaman	Positif
Basa			
pH 10 (1)	Putih	Biru Kecoklatan	Positif
pH 10 (2)	Putih	Biru Kecoklatan	Positif

Menurut Wahyuni (2017), enzim sebagai protein memiliki struktur tiga dimensi yang sensitif terhadap perubahan pH. Pada kondisi pH optimum, konfigurasi sisi aktif

enzim tetap stabil sehingga substrat dapat terikat secara efisien. Berdasarkan Tabel 4.1, terlihat bahwa pada pH 2 dan pH 10, larutan berubah warna menjadi biru kehitaman dan biru kecoklatan, yang mengindikasikan hasil positif terhadap amilum (uji iodin), artinya enzim tidak aktif dalam menghidrolisis pati pada pH ekstrem. Sedangkan pada pH 7 (netral), warna berubah menjadi coklat, menandakan tidak ada lagi kandungan amilum karena telah dipecah oleh enzim menjadi maltosa dan glukosa.

Namun, hasil warna coklat seharusnya menunjukkan negatif (tidak ada amilum), tetapi perbedaan intensitas warna seperti coklat kehitaman yang masih mengandung sedikit warna gelap dapat disebabkan oleh berbagai faktor. Menurut Wahyuni (2022), kualitas larutan atau ketidakstabilan pereaksi dapat menyebabkan deviasi warna. Selain itu, larutan maltosa yang kurang murni atau pencampuran yang tidak homogen juga dapat mengganggu hasil, menghasilkan warna coklat kehitaman dibandingkan kuning cerah yang seharusnya muncul.

Tabel 4.2 Pengaruh pH terhadap enzim alfa-amilase pada uji benedict.

Ph	Tes Benedict		Keterangan
	Warna Sebelum	Warna sesudah	
Control			
Maltosa	Biru	Endapan Orange	positif (+3)
Maltosa	Biru	Endapan Orange	positif (+3)
Normal			
pH 7 (1)	Biru	Jingga	positif (+3)
pH 7 (2)	Biru	Jingga	positif (+3)
Asam			
pH 2 (1)	Biru	Biru	Negatif
pH 2 (2)	Biru	Biru	Negatif
Basa			
pH 10 (1)	Biru	Kuning Kehijauan	positif (+1)
pH 10 (2)	Biru	Kuning Kehijauan	positif (+1)

Hasil uji Benedict memperkuat temuan uji iodin. Pada pH 7, reaksi menunjukkan perubahan warna menjadi jingga, yang menandakan adanya gula reduksi dalam jumlah tinggi

(+3), menunjukkan aktivitas enzim optimal. Sementara itu, pada pH 2, tidak terjadi perubahan warna (tetap biru), menunjukkan enzim tidak aktif. Pada pH 10, warna berubah menjadi kuning kehijauan, menunjukkan aktivitas enzim rendah (+1).

Menurut penelitian oleh Irdawati dkk. (2015) dan Hikmah dkk. (2022), pH ekstrem menyebabkan denaturasi enzim karena merusak ikatan hidrogen dan elektrostatik yang mempertahankan bentuk aktif enzim. Enzim alfa-amilase dari sumber manusia cenderung memiliki pH optimum di sekitar netral, yaitu pH 7. Penelitian oleh Mauliya (2023) menunjukkan bahwa enzim dari sumber berbeda dapat memiliki pH optimum yang bervariasi, namun sebagian besar tetap berada di kisaran 6–7 untuk sumber biologis manusia atau hewan.

Tabel 4.3 Pengaruh Suhu terhadap enzim alfa-amilase pada uji iodine

Suhu	Tes Iodin		Keterangan
	Warna Sebelum	Warna sesudah	
Maltosa Control(1)	Putih	Coklat	Negatif
Maltosa Control(2)	Putih	Coklat	Negatif
10°C (1)	Putih	Biru Kecoklatan	Positif
10°C (2)	Putih	Biru Kecoklatan	Positif
25°C (1)	Putih	Coklat	Negatif
25°C (2)	Putih	Coklat	Negatif
37°C (1)	Putih	Kuning	Negatif
37°C (2)	Putih	Kuning	Negatif
80°C (1)	Putih	Kuning	Negatif
80°C (2)	Putih	Kuning	Negatif

Menurut Ischack dkk (2017) dan Wahyuni (2017), suhu mempengaruhi energi kinetik molekul substrat dan enzim. Pada suhu 37°C, hasil uji iodine menunjukkan warna kuning, yang merupakan hasil negatif terhadap amilum—indikasi bahwa enzim berhasil menghidrolisis pati. Namun pada suhu 10°C, warna berubah menjadi biru kecoklatan,

menandakan reaksi belum berjalan dengan baik. Di suhu 80°C, hasil tetap negatif tetapi perlu diwaspadai bahwa aktivitas enzim mungkin sudah menurun karena denaturasi akibat suhu tinggi.

Hasil warna coklat kehitaman yang muncul pada suhu 10°C dapat dijelaskan oleh Nurprialdi dkk. (2023), yang menyatakan bahwa perubahan warna yang tidak sepenuhnya jernih atau kuning dapat disebabkan oleh reagen yang tidak optimal atau endapan sisa pati yang belum larut secara sempurna akibat suhu yang rendah. Suhu rendah menyebabkan aktivitas enzim alfa-amilase menjadi sangat lambat, sehingga proses hidrolisis pati tidak berjalan efisien dan menghasilkan sisa pati yang belum terurai, yang kemudian membentuk endapan berwarna gelap. Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian Milham (2021), yang menemukan bahwa pada suhu 10°C, aktivitas enzim amilase sangat menurun karena energi kinetik molekul terlalu rendah untuk memungkinkan interaksi efektif antara enzim dan substrat. Oleh karena itu, kondisi suhu yang terlalu rendah berkontribusi pada hasil reaksi yang kurang optimal baik dari segi warna maupun aktivitas enzimatik.

Tabel 4.4 Pengaruh Suhu terhadap enzim alfa-amilase pada uji benedict

Suhu	Tes Benedict		Keterangan
	Warna Sebelum	Warna sesudah	
Maltosa Control(1)	Biru	Endapan Orange	positif (+3)
Maltosa Control(2)	Biru	Endapan Orange	positif (+3)
10°C (1)	Biru	Hijau	positif (+1)
10°C (2)	Biru	Hijau	positif (+1)
25°C (1)	Biru	Kuning Kehijauan	positif (+2)
25°C (2)	Biru	Kuning Kehijauan	positif (+2)
37°C (1)	Biru	Jingga	positif (+3)
37°C (2)	Biru	Jingga	positif (+3)
80°C (1)	Biru	Kuning Kehijauan	positif (+2)
80°C (2)	Biru	Kuning Kehijauan	positif (+2)

Suhu 37°C, larutan menunjukkan warna jingga (+3), menandakan kadar gula reduksi yang tinggi dan aktivitas enzim optimal. Sebaliknya, pada suhu 10°C hanya terjadi perubahan warna menjadi hijau (+1), yang menunjukkan aktivitas enzim sangat rendah karena energi kinetik molekul terlalu kecil untuk memfasilitasi reaksi. Pada suhu 80°C, terjadi penurunan aktivitas yang ditunjukkan dengan warna kuning kehijauan (+2), kemungkinan akibat denaturasi enzim.

Menurut Nurprialdi dkk. (2023), suhu di atas titik optimum dapat menyebabkan enzim kehilangan struktur tiga dimensi aktifnya akibat proses denaturasi, sehingga efektivitas pengikatan substrat menjadi menurun secara signifikan. Penelitian tersebut mengindikasikan bahwa suhu optimal untuk aktivitas enzim alfa-amilase adalah sekitar 37°C. Pernyataan ini sejalan dengan hasil penelitian Milham (2021), yang menunjukkan bahwa pada suhu melebihi 60°C, struktur protein enzim mulai mengalami kerusakan permanen, yang menyebabkan penurunan drastis dalam aktivitas katalitik. Suhu tinggi memang dapat meningkatkan laju reaksi secara umum, namun jika melebihi ambang toleransi enzim, maka justru akan merusak struktur aktif enzim dan menurunkan efisiensinya.