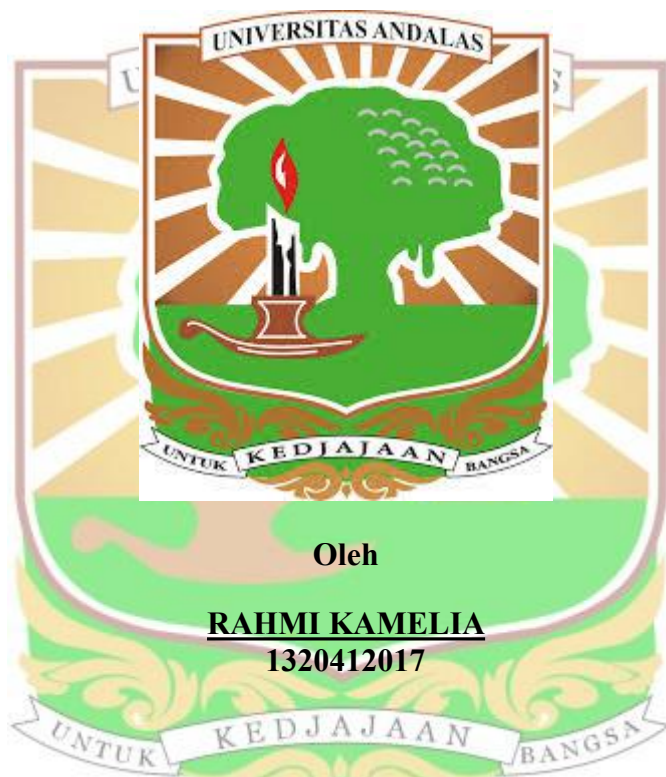


**Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Enzim Kitinolitik Ekstraseluler dari  
Bakteri Rizosfer UBCR\_12 dan Aplikasinya Sebagai Senyawa Antijamur  
Terhadap Jamur *Colletotrichum Gloeosporioides***

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan masa studi pada  
program Pascasarjana Kimia Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Andalas**



**Oleh**

**RAHMI KAMELIA**

**1320412017**

**DOSEN PEMBIMBING :**

**Prof. Dr. Sumaryati Syukur**

**Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Jamsari, M.P**

**PROGRAM PASCA SARJANA KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2018**

**Partial Purification and Characterization of Extracellular Chitinolytic from Rhizosphere Bacteria Strain UBCR\_12 As Antifungal to Fungal Pathogen *Colletotrichum Gloeosporioides***

By : Rahmi Kamelia

(Supervised by . Dr. Sumaryati Syukur and Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Jamsari, M.P.)

Abstract

Chitinolytic (EC.3.2.1.1.14) are glycosyl hydrolases that catalyze the hydrolytic degradation of chitin, an insoluble linear  $\beta$ -1,4-linked polymer of N-acetylglucosamine (GlcNAc). Chitinolytic has received increased attention because of their wide range of applications, including as a protective agent against plant-pathogenic fungi and production of oligosaccharides as biologically active substances (antibacterial, antifungal, antihypertensive activity and as food enhancer). The objectives of this study were to isolate and characterize extracellular chitinolytic from rhizosphere bacteria strain UBCR\_12 and investigate the activity enzyme as antifungal to fungal -plant pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. Bacterial strain UBCR\_12 was grown aerobically in LB (Luria Bertani) medium contained 2% (w/v) colloidal chitin and 1 %(w/v) of gelatin, pH 7.0, at 30 °C for 7 days incubation. The crude enzyme extract was concentrated by saturated ammonium sulphate fractionation. One unit of enzyme was defined as the amount of (GlcNAc) produced from hydrolysis of substrate colloidal chitin by 1  $\mu$ g of chitinolytic enzyme at pH 7 and at temperature 30 °C for 1 hour enzymatic reaction. The 20-80 % ammonium sulphate fraction of bacterial strain UBCR\_12 showed the highest activity at pH 8.0 and belongs to metalloenzyme since addition of 1 mM EDTA resulted in 33.25 % lost of activity. The enzyme activity was activated by  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , and  $\text{Zn}^{2+}$  confirming its metalloenzyme activity. Extracellular chitinolytic showed antifungal activity by inhibiting *C. gloeosporioides* 44.24 % after 7 days application.

Keywords: extracellular chitinolytic, rhizosphere bacteria, antifungal, *Colletotrichum gloeosporioides*.

**Pemurnian Parsial dan Karakterisasi Enzim Kitinolitik Ekstraseluler dari  
Bakteri Rizosfer UBCR\_12 dan Aplikasinya Sebagai Senyawa Antijamur  
Terhadap Jamur *Colletotrichum Gloeosporioides***

Oleh : Rahmi Kamelia

(dibawah bimbingan Prof. Dr. Sumaryati Syukur dan Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Jamsari,  
M.P.)

Abstrak

Enzim kitinolitik (EC.3.2.1.1.14) merupakan kelompok enzim glikosil hidrolase yang mengkatalisis degradasi polimer kitin, suatu polimer linear dari monomer N-asetilglukosamin (NAG) yang terikat oleh ikatan  $\beta$ -1-4 ikatan glikosida. Enzim kitinolitik diaplikasikan untuk produksi *single cell protein* (SCP), preparasi senyawa bioaktif oligosakarida dan mekanisme pertahanan tanaman terhadap inhibisi dari mikroba patogen. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengkarakterisasi enzim kitinolitik ekstraseluler dari bakteri isolat UBCR\_12 serta aplikasinya sebagai senyawa antijamur terhadap jamur *Colletotrichum gloeosporioides*. Bakteri isolat UBCR\_12 ditumbuhkan secara aerob pada media LB (Luria Berthani) yang mengandung 1% gelatin (b/v), 2% (b/v) inducer koloidal kitin pada pH 7.0, suhu 30 °C selama 7 hari. Enzim kitinolitik ekstrak kasar dipekatkan dengan fraksinasi amonium sulfat. Satu unit aktifitas didefinisikan sebagai jumlah NAG yang dihasilkan dari hidrolisis substrat koloidal kitin oleh 1  $\mu$ g enzim kitinolitik pada suhu 30 °C, pH 7 selama 1 jam reaksi. Enzim kitinolitik fraksi 20-80% menunjukkan aktifitas tertinggi dengan aktifitas pada pH 8.0 dan termasuk pada kelompok metaloenzim. Penambahan ion  $Fe^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , dan  $Zn^{2+}$  meningkatkan aktifitas enzim kitinolitik dan penambahan EDTA 1 mM menurunkan aktifitas sebesar 33.25 %. Fraksi 20-80% ammonium sulfat menunjukkan aktifitas antijamur dengan kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* sebesar 44.24% setelah 7 hari aplikasi.

Kata kunci : kitinolitik ekstraseluler, bakteri rizosfer, senyawa antijamur,  
*Colletotrichum gloeosporioides*

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah mengkaruniakan kenikmatan yang tak terhingga jumlahnya serta atas segala kemudahan, kekuatan, dan kesabaran yang diberikanNya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Dalam penyusunan tesis ini penulis banyak mendapat bimbingan, arahan, nasihat, bantuan serta dorongan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada:

1. Ayahanda Syahril (Alm), Ibunda Riska Ahmad dan suami tercinta Zuhairan Yunmi Yunan yang senantiasa mendo'akan keberhasilan penulis serta seluruh keluarga besar atas bantuan moril maupun materil yang telah diberikan.
2. Ibu Prof. Dr. Sumaryati Syukur dan Bapak Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Jamsari, M.P., selaku Komisi Pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, motivasi dan bantuan kepada penulis.
3. Bapak dan Ibu Dosen Staf / Pengajar yang telah bersedia membagi ilmu.
4. Teman –teman di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas dan Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Universitas Andalas yang selalu memberikan motivasi, berbagi ilmu, dukungan dan bantuan.

Penulis menyadari manusia adalah makhluk yang tidak sempurna, meskipun penulis berupaya melakukan yang terbaik. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran demi meningkatkan kesempurnaan tesis ini, semoga tesis ini bermanfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin ya rabbal 'alamin.

Padang, Maret 2018

Penulis