



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

KARAKTERISASI ENZIM KITINASE DARI BAKTERI KITINOLITIK ASAL AIR LAUT KABUPATEN PASAMAN BARAT UNTUK HIDROLISIS SENYAWA KITIN

SKRIPSI



**GUSTIAN ILHAM
04162076**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2010**

**KARAKTERISASI ENZIM KITINASE DARI BAKTERI
KITINOLITIK
ASAL AIR LAUT KABUPATEN PASAMAN BARAT UNTUK
HIDROLISIS SENYAWA KITIN**

SKRIPSI

Oleh :
GUSTIAN ILHAM
04162076

*Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Peternakan Universitas Andalas Padang*

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS**

2010

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG**

Kami dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang ditulis oleh:

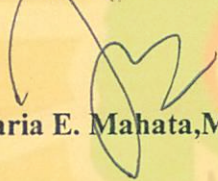
**GUSTIAN ILHAM
04 162 076**

**Karakterisasi Enzim Kitinase Dari Bakteri Kitinolitik Asal Air Laut Kabupaten
Pasaman Barat Untuk Hidrolisis Senyawa Kitin.**

Diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana peternakan.

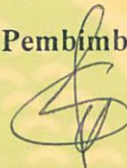
Menyetujui

Pembimbing I



Dr. Ir. Maria E. Mahata, MS

Pembimbing II



Dr. Ir. Nuraini, MS

Tim Penguji

Nama

Tanda Tangan

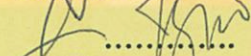
Ketua

Dr. Ir. Maria Endo Mahata, MS



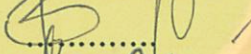
Sekretaris

Dr. Ir. Ahadiyah Yuniza, MS



Anggota

Dr. Ir. Nuraini, MS



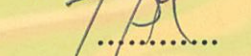
Anggota

Dr. Ir. Ade Djulardi, MS



Anggota

Dr. Adrizal, S.Pt, MSi



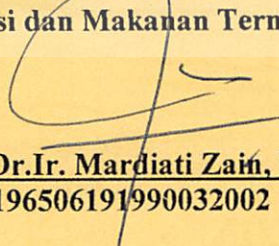
Mengetahui :

**Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Andalas Padang**



**Dr. Ir. Jafriur, MSP
NIP. 19600245193986031005**

**Ketua Jurusan
Nutrisi dan Makanan Ternak**



**Prof. Dr. Ir. Mardiaty Zain, MS
NIP. 1965061919990032002**

Tanggal Lulus : 25 Agustus 2010



Sesungguhnya sesudah kesulitan ada kemudahan maka apabila kamu telah selesai (sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Tuhan Mu lah hendaknya kamu berharap.

(Q.S. Al Jatsiah 12-13)

Tiada kata yang dapat saya aturkan kecuali ucapan rasa syukur dan terima kasih kepada kedua orang tua atas segala daya dan upayanya dengan bercucuran keringat membiayai kuliah saya hingga tamat. Dan tak ku lupakan buat kakak dan adikku (jan bosan2 manolongan uda diak)

Tidak lupa ku ucapkan beribu terima kasih kepada Ibu Dr Maria Endo Mahata, MS dan Ibu Dr Nurani, MS yang telah mengorbankan tenaga dan pikirannya (jangan bosan2 ya buk bantuin aan)

Buat temanku kitin group (Ni epi, wino, yossepe, yeni, nesta dan rita) terima kasih atas bantuan dan dorongan semangatnya, semuanya tak akan ku kupakan.

Dan buat rekan- rekan Nu3C 04 tetap kompak ya, serta buat temanku si tempang (kalil), si janguik (boby) serta pengusaha sukses (arvid) tetap semangat kawan (jan tiru lo awak capek selah jan tunggu lo kanai usia dek rektor)

TERIMA KASIH UNTUK SEMUA

**KARAKTERISASI ENZIM KITINASE DARI BAKTERI
KITINOLITIK ASAL AIR LAUT KABUPATEN PASAMAN BARAT
UNTUK HIDROLISIS SENYAWA KITIN**

Gustian Ilham, di bawah bimbingan
Dr. Ir. Maria Endo Mahata, MS dan Dr. Nuraini, MS
Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan
Universitas Andalas Padang. 2010

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan sifat atau karakter enzim kitinase isolat 6B dan 8B yang dibandingkan dengan karakter kitin dari *Serratia marcescens* untuk menghidrolisis senyawa kitin. Penelitian ini menggunakan enzim kitinase dari 2 isolat unggul hasil seleksi air laut kabupaten Pasaman Barat. Penelitian ini dirancang dalam bentuk percobaan laboratorium secara deskriptif menggunakan metode Schale. Peubah yang diamati adalah Aktivitas spesifik (Unit/mg protein), pH optimum, pH stabilitas, suhu optimum, suhu stabilitas, pengaruh kation terhadap aktivitas enzim kitinase.

Hasil penelitian didapatkan Aktivitas spesifik kitinase ekstraseluler isolat 6B adalah 1.84 Unit/mg protein dan isolat 8B 0.72 Unit/mg protein. pH optimum 6B dan 8B yaitu pH 5 dan pH 6, sedangkan pH stabilitas untuk 6B pH 3 - 7 dan 8B pH 3 - 6. Suhu optimum isolat 6B 50⁰C dan 8B 40⁰C, sedangkan suhu stabilitas 6B pada suhu 20⁰C - 60⁰C dan 8B pada suhu 20⁰C - 60⁰C. Kation Cu²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺ dan Fe²⁺ dapat menaikkan aktivitas isolat 6B (94%, 50%, 105%, 20%) dan kation Ca²⁺, Mg²⁺, Cu²⁺ dan Zn²⁺ menaikkan aktivitas isolat 8B (50%, 105%, 121%, 35%), sedangkan kation Co²⁺ dan Ca²⁺ menurunkan aktivitas isolat 6B (43% dan 51%) dan kation Co²⁺ dan Fe²⁺ menurunkan aktivitas isolat 8B (97% dan 58%). Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa karakter isolat 6B lebih baik dalam menghidrolisis kitin dibandingkan dengan isolat 8B.

Kata kunci: Bakteri kitinolitik, enzim kitinase, pH, suhu, kation.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, karena dengan rahmat dan hidayat-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian sampai penulisan skripsi dengan judul “ Karakterisasi Enzim Kitinase Dari Bakteri Kitinolitik Asal Air Laut Kabupaten Pasaman Barat Untuk Hidrolisis Senyawa Kitin “.

Penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya pada ibu Dr.Ir. Maria Endo Mahata,MS selaku pembimbing I, dan ibu Dr.Ir. Nuraini, MS selaku pembimbing ke II dan Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis mulai dari penulisan proposal, pelaksanaan penelitian sampai penulisan skripsi. Tidak lupa pula ucapan terima kasih kepada teman satu tim yang saling bekerja sama dalam melaksanakan penelitian ini, dan juga kepada sahabat yang telah memberikan semangat dan dorongan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah perbendaharaan ilmu pengetahuan kita.

Padang, Juli 2010

GUSTIAN ILHAM

DAFTAR ISI

	<u>Halaman</u>
KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bakteri Kitinolitik Air Laut.....	5
2.2 Senyawa Kitin dan Enzim Kitinase.....	6
2.3 Karakter Enzim Kitinase	8
2.3.1 Aktivitas Kitinase (U/ml) dan Aktivitas Spesifik (U/mg)	8
2.3.2 pH Optimum dan pH Stabilitas	9
2.3.3 Suhu Optimum dan Suhu Stabilitas	10
2.3.4 Pengaruh Kation Terhadap Aktivitas Enzim Kitinase	11
III. MATERI DAN METODEN PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	13
3.2 Metode Penelitian	13
3.3 Pelaksanaan Penelitian	14
3.3.1 Produksi Enzim Kitinase Dari Isolat 6B dan 8B	14
3.3.1.1 Tahap I : Prekultur Bakteri pada Medium Luria Bertani.....	14
3.3.1.2 Tahap II: Kulturisasi Bakteri pada Medium Cair Kitin Koloid.....	14
3.3.2 Karakterisasi Enzim Kasar Kitinase Ekstraseluler	15
3.3.2.1 Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein).....	15
3.3.2.1.1 Pengukuran Protein Enzim Lowry (1951).....	15
3.3.2.1.2 Pembuatan Protein Standar.....	16

3.3.2.1.3 Pengukuran Protein Terlarut Sampel Enzim Kirinase.....	16
3.3.2.1.4 Pengukuran Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein).....	16
3.3.2.2 Penentuan pH Optimum Enzim Kitinase Ekstraseluler.....	17
3.3.2.3 Penentuan pH Stabilitas Enzim Kitinase Ekstraseluler.....	17
3.3.2.4 Penentuan Suhu Optimum Enzim Kitinase Ekstraseluler	18
3.3.2.5 Penentuan Suhu Stabilitas Enzim Kitinase Ekstraseluler.....	18
3.3.2.6 Penentuan Kation Yang Menghambat Aktivitas Enzim Kasar KitinaseEkstraseluler	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Aktivitas Spesifik Enzim Kitinase.....	20
4.2 pH Optimum dan pH Stabilitas Enzim Kitinase	21
4.3 Suhu Optimum dan Suhu Stabilitas Enzim Kitinase.....	23
4.4 Pengaruh Ion Terhadap Aktivitas Enzim Kitinase.....	25
V. KESIMPULAN	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	35
RIWAYAT HIDUP	46

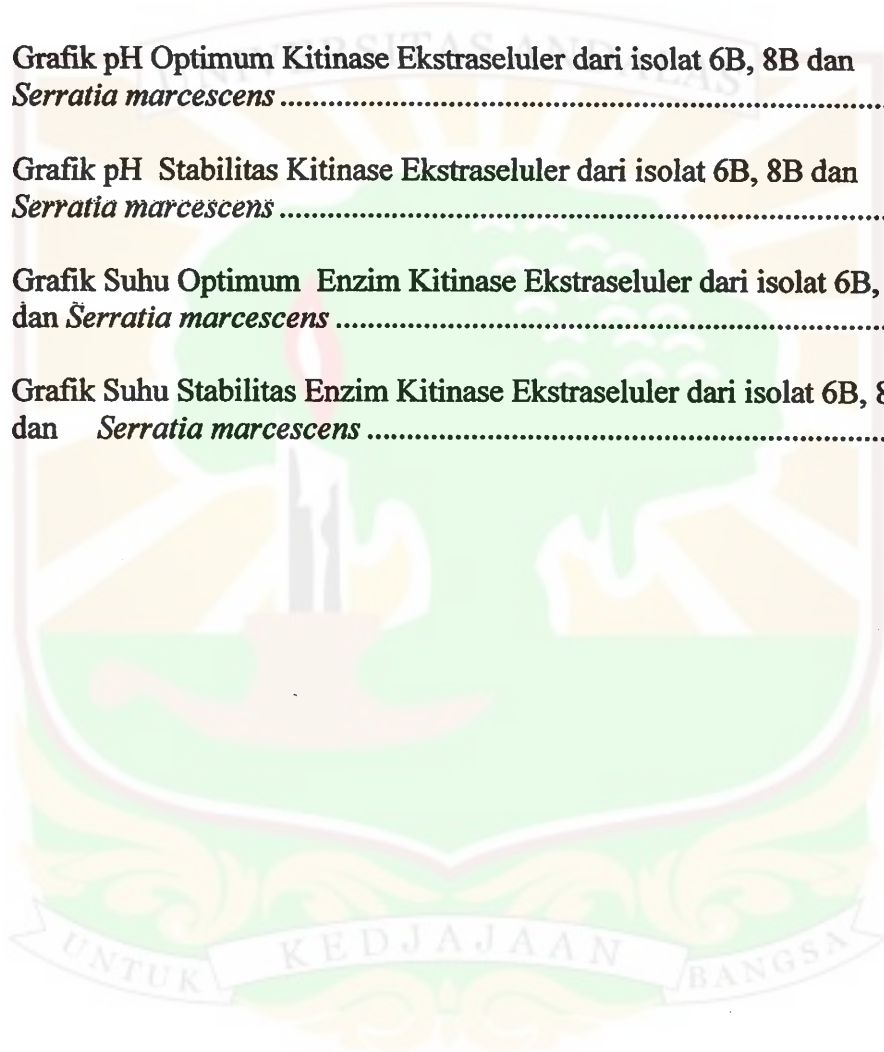
DAFTAR TABEL

Tabel	Teks	Halaman
1.	Pengaruh Ion Terhadap Aktifitas Enzim Kitinase Ekstraseluler dari isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i> .	26



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Halaman
1.	Struktur Kitin, Kitosan, dan Selulosa (Skjak-Braek and Sanford, 1989). Sumber: http:// p3gi. net / images / opini. Kitinase-G1.pdf).....	7
2.	Grafik Aktifitas Spesifik Enzim Kitinase Ekstraseluler dari isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	20
3.	Grafik pH Optimum Kitinase Ekstraseluler dari isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	21
4.	Grafik pH Stabilitas Kitinase Ekstraseluler dari isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	23
5.	Grafik Suhu Optimum Enzim Kitinase Ekstraseluler dari isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	24
6.	Grafik Suhu Stabilitas Enzim Kitinase Ekstraseluler dari isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	25



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Teks	Halaman
1.	Protein Terlarut Enzim.....	35
2.	Aktivitas Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	38
3.	Aktivitas Spesifik (U/mg) Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	39
4.	pH Optimum Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	40
5.	pH Stabilitas Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	41
6.	Suhu Optimum Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	42
7.	Suhu Stabilitas Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	42
8.	Pengaruh Kation Terhadap Aktivitas Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	43
9.	Diameter Zona Bening Kitinase Isolat 6B, 8B dan <i>Serratia marcescens</i>	44
10.	Gambar Zona Bening Isolat 6B dan 8B.....	45

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Laut adalah habitat dari mikroorganisme seperti bakteri, virus dan kapang. Pada air laut banyak terdapat bakteri kitinolitik karena terdapat hewan *Arthropoda* seperti kepiting, udang yang secara berkala mengganti kulitnya dengan kulit yang baru. Kulit hewan *Arthropoda* tersusun atas kitin bersama protein, dan garam CaCO_3 membentuk senyawa kompleks untuk mencegah evaporasi dan melindungi diri dari pemangsa.

Kitin merupakan polimer dari monomer N-Asetilglukosamin yang mempunyai ikatan β 1,4 glikosidik. Ikatan ini sangat kuat dan dapat dihidrolisis oleh enzim kitinase. Menurut Tsujibo *et al.* (1998) jumlah kitin sangat berlimpah dilingkungan air laut, setiap tahun disintesis 10^{11} metric ton, namun di dalam air laut tersebut tidak ditemukan senyawa kitin karena kitin telah dihidrolisis oleh mikroba yang ada di air laut sebagai sumber karbon dan nitrogen untuk kelangsungan hidup makhluk hidup dilautan. Beberapa bakteri kitinolitik yang berasal dari air laut di beberapa tempat di dunia yang telah dilaporkan di antaranya *Aeromonas*, *Alteromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Spirillum*, *Moraxela*, *Pasteurella* dan *Photobacterium* yang mampu mendekomposisi kitin pada kulit luar kepiting (Vogan *et al.*, 2002).

Limbah udang merupakan limbah dari pengolahan udang beku tanpa kulit yang diekspor ke luar negeri. Limbah ini sangat potensial sebagai pakan ternak karena mengandung protein tinggi berkisar 30,30 – 52,70 % (Mirzah, 1990; Rosefeld *et al.*, 1997; Gernat, 2001; Fanimio *et al.*, 2004; Mahata *et al.*, 2005; Okoye *et al.*, 2005).

Namun penggunaan limbah udang sebagai pakan ternak unggas terbatas karena kandungan kitin yang tinggi. Oleh sebab itu sebelum diberikan kepada ternak unggas, limbah udang harus diolah terlebih dahulu dengan cara dekomposisi kitin yang dikandungnya secara hidrolisis menggunakan enzim kitinase. Enzim ini dapat dihasilkan oleh bakteri kitinolitik asal air laut. Mahata *et al.* (2006), telah menghidrolisis limbah udang dengan menggunakan enzim kitinase dari *Serratia marcescens* yang berasal dari tanah di daerah Matsue, Jepang sehingga kandungan kitin limbah udang turun dari 18,7% menjadi 7,24%.

Kabupaten Pasaman Barat terletak 0° 55 LU - 0° 11 LS dan 99° BT - 100° 21 BT yang mempunyai 4 kecamatan wilayah pantai laut yang berhadapan langsung dengan Samudera Hindia. Kabupaten Pasaman Barat sebelah utara berbatasan dengan kecamatan Natal, sebelah selatan berbatasan dengan Sikaba, sebelah timur berbatasan dengan Lembah Malintang dan disebelah barat berbatasan dengan Samudra Hindia. Kabupaten Pasaman Barat mempunyai garis pantai ± 100 km. Jumlah produksi udang di laut Kabupaten Pasaman Barat adalah sekitar 669,7 Ton/tahun (Dinas Kelautan dan Perikanan Pasaman Barat, 2006). Berdasarkan informasi potensi udang yang ada dilaut Kabupaten Pasaman Barat menunjukkan bahwa dilaut tersebut terdapat hewan *Arthropoda* yang mengganti kulitnya secara berkala dan juga terdapat bakteri kitinolitik untuk menghidrolisis kitin yang ada pada kulit hewan *Arthropoda* tersebut. Hasil penapisan bakteri kitinolitik dari air laut Kabupaten Pasaman Barat ditemukan dua isolat unggul yang aktif menghasikanl enzim kitinase yaitu isolate 6B dan 8B (Saputra,2009). Karakterisasi enzim kitinase dari kedua isolat perlu diketahui untuk menciptakan kondisi optimum yang

dibutuhkan oleh enzim dari kedua isolat dalam menghidrolisis senyawa kitin. Kondisi optimum enzim yang perlu diketahui adalah aktivitas enzim, aktivitas spesifik (Unit/mg protein), pH optimum, pH stabilitas, suhu optimum, suhu stabilitas, dan pengaruh kation. Aktivitas spesifik menunjukkan kemampuan enzim dalam menghidrolisis kitin terhadap aktivitasnya (Unit/ml enzim) di bandingkan dengan protein yang dikandungnya. pH optimum menunjukkan pH pada saat enzim dapat bekerja maksimum, sedangkan pH stabilitas diukur untuk mengetahui rentangan pH pada saat aktivitas enzim masih stabil. Suhu optimum menunjukkan suhu pada saat enzim dapat bekerja maksimum, sedangkan suhu stabilitas untuk mengetahui rentangan suhu pada saat enzim masih stabil aktivitasnya. Aktivitas enzim juga dapat dipengaruhi oleh kation tertentu, beberapa kation dapat meningkatkan dan menurunkan aktivitas enzim. Oleh sebab itu di lakukan penelitian ini untuk mengetahui karakter enzim kitinase yang dihasilkan oleh isolat 6B dan 8B.

1.2. Perumusan Masalah

Bagaimanakah karakter enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri isolat 6B dan 8B dari air laut Kabupaten Pasaman Barat ?

1.3. Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan sifat atau karakter enzim kitinase isolat 6B dan 8B, yang dibandingkan dengan karakter kitinase dari *Serratia marcescens* untuk menghidrolisis senyawa kitin.

1.4 Hipotesis Penelitian

Enzim kitinase dari isolat 6B dan 8B dapat menghidrolisis senyawa kitin.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. Bakteri Kitinolitik Air Laut

Air laut merupakan gudang bakteri kitinolitik karena banyak terdapat hewan *Arthropoda* seperti udang dan kepiting yang secara berkala mengganti kulitnya (Vogan *et al.*, 2002), selanjutnya dinyatakan bakteri kitinolitik asal air laut berperan besar dalam pendauran senyawa kitin dilautan menjadi bentuk senyawa yang lebih sederhana, dan hewan *Arthropoda* secara berkala mengganti kulitnya yang kaya akan kitin untuk dilepaskan kelautan.

Beberapa spesies bakteri kitinolitik yang ada di air laut untuk menghidrolisis kitin yang telah diketahui antara lain *Harvey Cytophage*, *Hahella Ganghwen sp*, *Aeromonas*, *Alteromonas*, *Chromobakterium*, *Enterobakter*, *Ewingella*, *Pseudoalteromonas*, *Serratia*, *Vibrio* (Chermin *et al.*, 1998). Pleban *et al.*, 1997 dan Gao *et al.*, 2003 menyatakan bakteri *Bacillus* akan menghasilkan kitinase. Selanjutnya dinyatakan bakteri ini menghasilkan enzim kitinase ekstraseluler untuk menghidrolisis senyawa kitin menjadi monomer N- Asetilglukosamin dan digunakan sebagai sumber karbon dan nitrogen bagi mikroorganisme. Bakteri jenis *Vibrio* dikenal sebagai penghasil enzim kitinase yang aktif, keberadaan bakteri ini pada kulit udang dapat merusak struktur kutikel kulitnya karena senyawa kitin dihidrolisis oleh enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut (Vogan *et al.*, 2002).

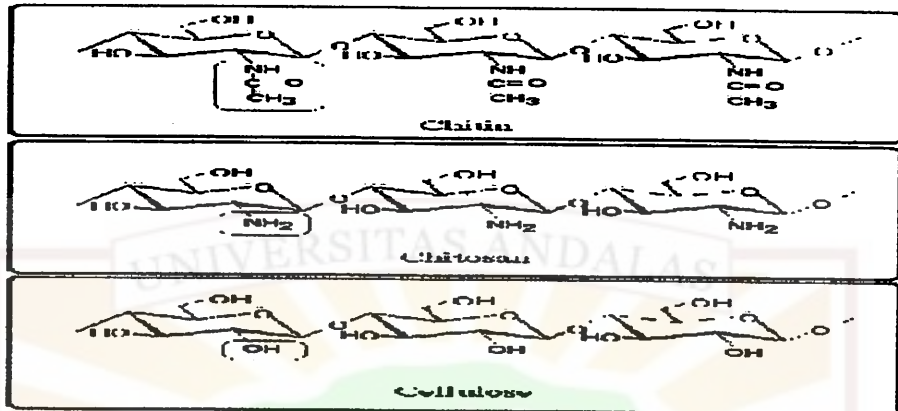
Beberapa isolat bakteri kitinolitik yang telah berhasil diisolasi dari hasil perikanan dan biota laut adalah isolat JB4 dan T5a1 dari terasi, serta isolat 34bs dari spons (Uria dan Chasanah, 2005; Zilda dan Chasanah, 2005). Menurut Noviendri

et al. (2006) enzim kitinase dari isolat JB4 diketahui memiliki kemampuan yang paling baik dibandingkan enzim kitinase isolat-isolat yang telah diisolasi tersebut. Bakteri air laut tidak secara penuh menguraikan kitin sampai ketingkat molekul, meskipun ada laporan pada penguraian dan katabolisme dari kitin oligasakarida oleh bakteri *Vibrio funisii* (Bassler *et al.*, 1991). Montgomery dan Kirchman (1993) telah mengidentifikasi dua enzim kitinase bakteri air laut dari *Vibrio harveyi*. Bakteri kitinolitik air laut dari *Bacillus* sp. Strain P1-7S lebih efisien mendegradasi β – kitin dibandingkan dengan α – kitin (Shingemasa *et al.*, 1994).

2. 2. Senyawa Kitin dan Enzim kitinase

Senyawa kitin adalah polimer N, asetil, D glukosamina yang dihubungkan oleh ikatan β 1, 4 glikosidik, senyawa ini merupakan komponen utama penyusun kulit *Arthropoda* dan juga sebagai komponen dinding sel jamur, kapang, dan bakteri (Minoru *et al.*, 2002). Dalam senyawa kitin nomor dua terbanyak jumlahnya setelah selulosa (Park *et al.*, 1997; Yi-Wang *et al.*, 2001; Minoru *et al.*, 2002). Struktur kimia kitin sama dengan selulosa namun gugus hidroksil (CH) pada atom C nomor 2 dari struktur glukosa selulosa diganti dengan gugus N- asetil sebagai struktur kitin. Senyawa kitin tidak larut dalam air, namun kitosan yang dikenal sebagai turunannya dapat larut dalam asam (Minoru *et al.*, 2002). Kitosan merupakan polimer linear glukosamin yang dihubungkan oleh ikatan β 1,4 glikosidik, senyawa ini berasal dari kitin yang dideasetilasi dengan variasi residu N asetil yang berbeda-beda. Perbedaan struktur kitosan dengan kitin terletak pada atom C nomor 2. Pada atom C nomor 2 dari kitosan dengan gugus amino dan gugus asetilnya telah dihilangkan karena proses deasetilasi (Yun *et al.*, 2005).

Struktur kimia kitin, kitosan, dan selulosa dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar I. Struktur Kitin, Kitosan, dan Selulosa (Skjak-Braek and Sanford, 1989). Sumber: [http:// p3gi. net / images / opini. Kitinase-G1.pdf](http://p3gi.net/images/opini.Kitinase-G1.pdf)

Menurut Watkins *et al.* (1982), dan Lee and Evonne (2002) jumlah kitin yang terdapat pada limbah udang berkisar antara 14-27 %. Kitin dihidrolisis oleh enzim kitinase yang dihasilkan bakteri menjadi senyawa-senyawa sederhana dan dimanfaatkan sebagai sumber karbon untuk keperluan hidupnya (Flach *et al.*, 1992).

Menurut Tsujibo *et al.* (1992) kitinase merupakan enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh cendawan dan bakteri. Kitinase merupakan enzim yang memiliki aktivitas katalik untuk menghidrolisis kitin menjadi senyawa sederhana yaitu dalam bentuk monomer N-asetil, D-glukosamina atau dalam bentuk dimer, trimer, dan tetramer (Park *et al.*, 1997 dan Yi-Wang *et al.*, 2001). Menurut Yun *et al.* (2005) kitinase merupakan enzim yang mengkatalisir hidrolisis kitin menjadi monomernya glukosamina. Kitinase dapat di temukan pada bakteri, jamur, kapang, serangga, dan tanaman (Park *et al.*, 1997). Pada kapang dan jamur kitinase diperlukan untuk pemisah sel selama proses pertumbuhan karena kitin merupakan salah satu komponen dinding selnya (Kuranda and Robinnis, 1991).

2. 3. Karakter Enzim Kitinase

Menurut Suhartono (1989) dengan mempelajari faktor-faktor yang mempengaruhi reaksi enzimatik dapat dipelajari sifat-sifat (karakter) enzim secara khusus, dijelaskannya sifat-sifat (karakter) enzim kitinase yang menyangkut aktivitasnya dapat dilihat sebagai berikut :

1. Aktivitas Enzim (Unit/ml) dan Aktivitas Spesifik Enzim Kitinase (Unit/mg Protein)

Pengukuran aktivitas enzim kitinase dapat dilakukan dengan beberapa metode, diantaranya dengan menggunakan metode Schale yang dimodifikasi (Imoto dan Yagashita, 1971), metode ini menggunakan 20 μ l enzim ditambahkan buffer McIlvaine pH 7 dan dicampur dengan kitin koloid (0,5 ml). Metode Splinder (1997) yang dimodifikasi, metode ini dilakukan dengan menggunakan substrat koloidal kitin dengan konsentrasi 1,5% (b/v), larutan enzim (150 μ l) ditambahkan ke dalam campuran yang mengandung 300 μ l koloidal kitin. Menurut Splinder (1997) satu Unit aktivitas kitinase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan satu μ mol gula reduksi yang ekuivalen dengan N-asetilglukosamin selama 1 menit.

Hwan *et al.* (2006) menemukan aktivitas kitinase kasar tertinggi dari *Commercial steam bromelain* dan *Panaibalillus illinoisensis* adalah 0,143 Unit/ml dan 3,4 unit/ml. Noviendri *et al.* (2006) menemukan aktivitas kitinase tertinggi dari isolat JB4 sebesar 0,014 U/ml.

Thompson *et al.* (2001) menemukan aktivitas spesifik kitinase dari bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* C3 dan *Pseudomonas aeruginosa* yaitu

0,14 dan 1,12 Unit/mg protein. Aktivitas spesifik kitinase yang dipurifikasikan dari *Aspergillus fumigatus* T J-407 sebesar 3,36 Unit/mg protein (Xia *et al.*, 2001). Nugroho *et al.* (2003) menemukan aktivitas spesifik endokitinase dari *Trichoderma viride* TNJ63 adalah 11,59 Unit/mg protein.

2. pH Optimum dan pH Stabilitas Kitinase.

Somashekar *et al.* (1996) menemukan pH optimum enzim kitinase yang dihasilkan bakteri dan kapang umumnya berkisar antara 4 sampai 8, sedangkan menurut Koga *et al.* (1999) umumnya pH optimum kitinase yang dihasilkan oleh mikroorganisme (bakteri, jamur dan kapang) berkisar antara 3,5 sampai 8. pH 7 merupakan pH optimum enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri *Enterobacter* sp G-1 (Park *et al.*, 1997). pH optimum kitinase yang diekstrak dari *Bombyx mori* adalah 6.0 (Banat *et al.*, 1999). Penelitian Xia *et al.* (2001) menemukan bahwa pH optimum kitinase yang dihasilkan *Aspergillus fumigatus* YJ-407 adalah 5. Zhu *et al.* (2003) menemukan pH optimum kitinase dari *Acinetobacter* sp.C-17 pada pH 7. Menurut Suhartono (1989) dan Rahayu *et al.* (2004) pada umumnya enzim aktif pada pH netral atau pada kisaran pH 5-9. pH optimum kitinase dari isolat JB 4 seperti yang dilaporkan Noviendri *et al.* (2006) dicapai pada pH 8, pH yang sama juga dilaporkan oleh Jayanti (2002) yang menggunakan isolat 12.2 dan 13.9 dan penelitian Purwani *et al.* (2004) menggunakan *Bacillus* sp 13.26 serta penelitian Wang dan Chang (1997) yang menggunakan *Pseudomonas aeruginosa* K-187. Lorito *et al.* (1994) melaporkan pH optimum endokitinase

dari *Trichoderma harzianum* P1 dan *Gliocadium virens* 41 yaitu 4,5 dan 5. Nugroho *et al.* (2003) menemukan pH optimum endokitinase dari *Trichoderma viride* TNJ63 adalah 5,5.

pH stabilitas dari bakteri *Enterobacter* sp. G-1 berkisar pada pH 5-10 (Park *et al.*, 1997). Penelitian Xia *et al.* (2001) menemukan pH stabilitas dari *Aspergillus fumigatus* YJ-407 adalah 4-8. Yi Wang *et al.* (2001) dan Min Wen *et al.* (2002) menemukan pH stabilitas kitinase dari bakteri *Bacillus* sp. NCTU2 berkisar pada pH 2,5-8. Banat *et al.* (1999) menemukan pH stabilitas dari bakteri *Bombyx mori* adalah pH 4-10.

3. Suhu Optimum dan Suhu Stabilitas Kitinase

Berdasarkan suhu optimum enzim kitinase dapat digolongkan kedalam dua golongan yaitu mesofilik (suhu optimumnya berkisar antara 25-45 °C) dan Termotabil (berkisar antara 45-85 °C). Kisaran suhu optimum kitinase umumnya berkisar antara 30-60 °C (Somasheker *et al.*, 1996). Park *et al.* (1997) menemukan suhu optimum kitinase dari *Enterobacter* sp G-1 adalah 40 °C. Suhu optimum kitinase dari *Aspergillus flavus* yang dilaporkan Xia *et al.* (2001) adalah 60 °C. Sheng *et al.* (2002) melaporkan suhu optimum kitinase dari *Bacillus brevis* adalah 60 °C. Suhu optimum dari bakteri *Bacillus cereus* S1 yang dilaporkan Kurakake *et al.* (2000) adalah 60 °C. Min We *et al.* (2002) juga menemukan suhu optimum kitinase dari *Bacillus* sp. NCTU2 berada pada suhu 50-60 °C. Wang & Chang (1997) menemukan bahwa dua kitinase yang dihasilkan dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* K-187 mempunyai suhu optimum 40 dan 50 °C. Endokitinase dari *Trichoderma*

harzianum P1 dan *Gliocadium virens* 41 yang dilaporkan Lorito *et al.* (1994) memiliki suhu optimum 50 dan 35 °C. Nugroho *et al.* (2003) menemukan suhu optimum endokitinase dari *Trichoderma viride* TNJ63 pada suhu kamar (30°C)

Park *et al.* (1997) menemukan suhu stabilitas dari bakteri *Enterobacter* sp G-1 adalah dibawah 50°C. Xia *et al.* (2001) menemukan kestabilan aktivitas dari bakteri *Aspergillus flavus* adalah pada suhu dibawah 45 °C. Suhu stabilitas dari bakteri *Bacillus cereus* yang dilaporkan oleh Yi Wang *et al.* (2001) adalah 4 – 70°C. Purwani *et al.* (2004) melaporkan suhu stabilitas kitinase dari bakteri *Bacillus* sp. 13.26 adalah 60-80 °C, dan *Bacillus* K-29-14 pada suhu 70 °C (Rahayu *et al.*, 2004).

4. Pengaruh Kation Terhadap Aktivitas Kitinase.

Menurut Jolles dan Muzzarelli (1999), umumnya kation metal Hg^{2+} , Ag^+ dan kation Cu^{2+} dapat menghambat aktivitas beberapa kitinase. Park *et al.* (1997) melaporkan aktivitas kitinase *Enterobacter* sp. G-1 tidak terpengaruh oleh kation Ca^{2+} dan Na^+ , Cl^- . Penelitian Xia *et al.* (2001), menyimpulkan aktivitas kitinase dari *Aspergillus fumigatus* YJ-407 dihambat oleh Hg^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ , Fe^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+} . Aktivitas kitinase dari *Bacillus brevis* terhambat dengan keberadaan kation Ag^+ (Sheng *et al.*, 2002). Howard *et al.* (2004) menyatakan aktivitas enzim kitinase dari *Microbulbifer degradans* 2-40 dihambat oleh Ni^{2+} , Sr^{2+} , Cu^{2+} dan kehilangan aktivitasnya

jika berikatan dengan Hg^+ , aktivitasnya tidak dihambat oleh kation Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ca^+ dan K^+ .

Penambahan kation Ca^{2+} pada enzim kitinase dari *Enterobacter* sp. NRG4 dapat meningkatkan aktivitas kitinase (Dahiya *et al.*, 2005). Penelitian Park *et al.* (2002) menemukan penambahan kation Cu^{2+} dapat meningkatkan aktivitas kitinase dari bakteri *Vibrio* sp. 98CJ11027. Rahayu *et al.* (2004) menemukan kation Co^{2+} dapat meningkatkan aktivitas kitinase dari bakteri *Bacillus* K-129-14.

Wang & Chang (1997) melaporkan bahwa kation Mn^{2+} , Mg^{2+} dan Zn^{2+} dapat menghambat aktivitas kitinase dari *Pseudomonas aeruginosa* K-187. Mahata (2007) melaporkan aktivitas kitinase dari bakteri *Serratia marcescens* dan *Enterobacter* sp G1 tidak dihambat oleh Fe^{2+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} dan Co^{2+} dan aktivitas kitinase dari kedua bakteri sedikit meningkat setelah diberi perlakuan kation tersebut.

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

Hasil isolasi bakteri kitinolitik dari pantai Sasak Kabupaten Pasaman Barat dari penelitian terdahulu telah didapat sebanyak 9 isolat yang aktif menghasilkan enzim kitinase kemudian dipilih penghasil kitinase dari isolate unggul berdasarkan zona bening yang terbesar yang dihasilkannya yaitu isolate 6B dan 8B. Selanjutnya enzim kitinase kedua isolat tersebut dikarakterisasi dan dibandingkan dengan *Serratia marcescens* untuk dapat digunakan dalam menghidrolisis senyawa kitin.

3.1 MATERI PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan Penelitian : Enzim kitinase dari 2 isolat unggul bakteri kitinolitik yang telah diseleksi dari air laut Kabupaten Pasaman Barat yaitu isolat 6B dan 8B, enzim kitinase *Serratia marcescens* sebagai pembanding, Bufer McIlvaine pH 2-8, medium kitin koloid cair, medium kitin koloid padat, Reagen Schales, ion Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} .

Alat : Tabung reaksi 2 ml, inkubator, *spectrophotometer* (Spektronic 21), *shaker water bath* (aqua shaker Ch 4127), kompor gas, lemari es, pH meter (Hi 8010), *micro pipet* 1000 μl dan 200 μl , kuvet, timbangan, *vortex*, *magnetic stirrer*, tabung eppendorf 2 ml, *Sentrifus* (Ne sentrifuge 4045), *lamotte water sample*.

3.2 METODE PENELITIAN

Penelitian dirancang dalam bentuk percobaan laboratorium secara deskriptif. Karakter-karakter enzim yang diukur meliputi : Aktivitas spesifik Unit/mg protein,

pH stabilitas, pH optimum, Suhu stabilitas, Suhu optimum dan pengaruh metal ion dengan menggunakan metode Schale yang dimodifikasi (Imoto dan Yagashita, 1971).

3.3 PELAKSANAAN PENELITIAN

Dari penelitian terdahulu (Saputra 2009) telah diketahui isolate 6B dan 8B sebagai isolat unggul kitinolitik dari air laut kabupaten Pasaman Barat. Selanjutnya kitin ke 2 isolat di produksi untuk dikarakterisasi.

3.3.1. Produksi Enzim Kitinase Dari Isolat 6B dan 8B

Produksi enzim kitinase isolate 6B dan 8B dilakukan dalam 2 tahap:

3.3.1.1. Tahap 1 :Prekultur bakteri pada Luria Bertani

Koloni tunggal isolat 6B, 8B dan bakterium pembanding *Serratia marcescens* di kultur pada medium campuran Luria bertani steril (Pepton 1 %, ekstrak khamir 0.5 % dan Nacl 1 %) dengan perbandingan Luria bertani 5 ml dan kitin koloid 50 µl, kemudian dimasukan dalam pengocok bergoyang (*shaker water bath*, merek Aqua shaker Ch 4127) dengan kecepatan 120 rpm, suhu 30 °C selama 5 hari. Selanjutnya kultur bakteri tersebut di kulturisasi pada medium cair kitin koloid untuk produksi enzim.

3.3.1.2. Tahap II :Kulturisasi Bakteri Pada Medium Cair Kitin Koloid

Sebanyak 3 ml kultur bakteri dari medium Luria Bertani dikultur kembali pada 250 ml medium kitin koloid cair untuk produksi kitinase. Medium kitin koloid cair terdiri dari kitin koloid basah 2,5 gr, ekstrak khamir 0,0625 gr, pepton 0.0625 gr, K₂HPO₄ 0,175 gr, KH₂PO₄ 0,075 gr, Mg SO₄ 7H₂O 0,125 gr, kemudian diinkubasi pada pengocok bergoyang dengan kecepatan 120 rpm dan suhu inkubasi 30 °C selama 7 hari. Setiap hari masing-masing kultur diambil sebanyak 10 ml dan

didinginkan di kulkas pada suhu 4 °C selama 15 menit kemudian disentrifus (Ne centrifuge 4045) pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk merupakan kitinase kasar yang selanjutnya dipisahkan dari pellet (bakteri) dengan menggunakan *micro pipet* dan di simpan pada suhu 4 °C untuk dikarakterisasi selanjutnya.

3. 3. 2 Karakterisasi Enzim Kasar Kitinase Ekstraseluler

Karakterisasi enzim kitinase dari isolat 6B dan 8B dilakukan pada aktivitas enzim tertinggi. Penelitian sebelumnya menunjukkan aktivitas kitinase tertinggi dari isolat 6B terjadi pada hari ke 2 dan aktivitas kitinase tertinggi isolat 8b pada hari ke 6. Selanjutnya enzim kitinase yang di hasilkan ke 2 isolat di karakterisasi. Aktivitas enzim di ukur dengan metode Schales (Imoto & Yagashita, 1971).

3. 3. 2. 1 Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein)

Sebelum mengukur aktivitas spesifik terlebih dahulu diukur aktivitas enzim (Unit/ml) dan protein terlarut enzim (mg protein). Aktivitas enzim diukur dengan metode Schales yang dimodifikasi (Imoto dan Yagashita, 1971) dan pengukuran protein terlarut enzim menggunakan metode Lowry (1951).

3. 3. 2. 1. 1 Pengukuran Protein Enzim (Lowry (1951)).

Reagent yang digunakan adalah : Lowry A, Lowry B, Lowry C, Lowry D.

- Reagent Lowry A terdiri dari 2 % NaCO₃ dilarutkan dalam 100 ml aquades.
- Reagent Lowry B, 0,05 gr CuSO₄ dicampur dengan larutan K-Na tartarat 10 ml.
- Reagent Lowry C, terdiri dari campuran 50 ml Lowry A dengan 1 ml Lowry B (dibuat hanya pada waktu akan digunakan).
- Reagent Lowry D, Pereaksi Folin Ciocalteau dilarutkan dengan aquades dengan

perbandingan 1 : 1.

3.3.2.1.2 Pembuatan Protein Standar

Sebanyak 0,1 gram larutan Bovine Serum Albumin (BSA) dilarutkan dengan 100 ml aquades, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi ukuran 10 ml masing-masing dengan konsentrasi 0, 100, 200, 300, 400, 500 mg/ml protein standard dan ditambah air sampai volume total masing-masing tabung menjadi 4 ml. Selanjutnya masing-masing tabung reaksi di tambahkan 5,5 ml Lowry C dan dicampur merata dengan cara menggoyangkan dan biarkan selama 15 menit pada suhu kamar. Campuran kemudian ditambahkan 0,5 ml Lowry D ke dalam masing-masing tabung reaksi dan biarkan selama 30 menit sampai terbentuk warna biru. Setelah campuran berwarna biru ukur absorbannya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 650 nm dan buat kurva standarnya.

3.3.2.1.3 Pengukuran Protein Terlarut Sampel Enzim kitinase

Sebanyak 1 ml enzim kitinase dari masing-masing isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens* setelah diekstrak mulai dari 0-7 hari inkubasi masing-masing ditambahkan 5,5 ml Lowry C kemudian diaduk rata dan biarkan selama 15 menit. Setelah 15 menit ditambahkan 0,5 ml Lowry D dan diamkan selama 30 menit. Selanjutnya ukur absorban masing-masing enzim dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 650 nm.

3.3.2.1.4 Pengukuran Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein)

Setelah aktivitas enzim dan protein enzim diketahui maka dapat dihitung nilai aktivitas spesifik dari masing-masing enzim tersebut dengan rumus :

$$\text{Aktivitas spesifik (Unit/mg Protein)} = \frac{\text{Aktivitas Enzim (Unit/ml)}}{\text{Protein enzim (Unit/mg protein)}}$$

Enzim kitinase dari isolat 6B dan 8B dan *Serratia marcescens* yang memiliki aktivitas spesifik tertinggi dalam selang waktu 0 - 7 hari inkubasi selanjutnya dipilih untuk dikarakterisasi.

3. 3. 2. 2 Penentuan pH Optimum Enzim Kasar Kitinase Ekstraseluler

Sebanyak 20 µl sampel enzim kitinase dari masing-masing isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens* yang memiliki aktivitas spesifik tertinggi, masing-masing ditambahkan buffer McIlvaine mulai dari pH 2 sampai 8 secara bergantian sehingga total volume masing-masing enzim 1,5 ml. Untuk melihat aktivitas enzim kitinase masing-masing isolat pada pH optimumnya ditentukan dengan cara yang sama dengan cara kerja pengukuran aktivitas enzim.

3. 3. 2. 3 Penentuan pH Stabilitas Enzim Kasar Kitinase Ekstraseluler

Cara kerja untuk pengukuran pH stabilitas enzim kitinase sama dengan pengukuran pH optimum, namun pada pH stabilitas 20 µl enzim kitinase dari masing-masing isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens* terlebih dahulu dicampur dengan 180 µl buffer McIlvaine pH 2,3,4,5,6,7 dan 8 secara bergantian kemudian dikocok pada pengocok bergoyang selama 60 menit pada suhu 30 °C. Setelah itu campuran enzim ditambah buffer McIlvaine pH 7 sehingga total volumenya 1,5 ml. Selanjutnya untuk mengetahui variasi pH terhadap kestabilan aktivitas enzim kitinase ditentukan dengan cara kerja yang sama dengan pengukuran pH optimum.

3. 3. 2. 4 Penentuan Suhu Optimum Enzim Kasar Kitinase Ekstraseluler.

Sebanyak 20 µl sampel enzim kitinase dari masing-masing isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens* ditambahkan buffer McIlvaine pH 7 sampai total volumenya 1,5 ml (sampel enzim). Selanjutnya dibuat dengan cara yang sama dengan sampel enzim pada tabung reaksi yang lain sebagai kontrol enzim. Sampel enzim disimpan pada tabung es sedangkan kontrol enzim dipanaskan selama 15 menit pada suhu 100 °C setelah itu didinginkan pada tabung es selama 5 menit. Sampel dan kontrol enzim selanjutnya ditambahkan kitin koloid sebanyak 0,5 ml dan diinkubasi dalam pengocok bergoyang pada beberapa level suhu 20 – 70 °C secara bergantian selama 30 menit. Selanjutnya pengukuran aktivitas enzim sama dengan cara pengukuran aktivitas enzim sebelumnya.

3. 3. 2. 5 Penentuan Suhu Stabilitas Enzim Kasar Kitinase Ekstraseluler.

Cara kerja untuk pengukuran suhu stabilitas enzim kitinase sama dengan pengukuran suhu optimum, namun pada suhu stabilitas 20 µl enzim kitinase dari masing-masing isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens* terlebih dahulu diinkubasi dalam pengocok bergoyang pada berbagai level suhu 20 - 70 °C secara bergantian selama 60 menit (1 jam). Setelah itu campuran enzim ditambah buffer McIlvaine pH 7 sehingga total volumenya 1,5 ml. Cara kerja pengukuran aktivitas enzim selanjutnya sama dengan pengukuran aktivitas enzim sebelumnya.

3. 3. 2. 6 Penentuan Kation yang Menghambat Aktivitas Enzim Kasar Kitinase Ekstraseluler

Sebanyak 20 µl sample enzim kitinase dari masing-masing isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens* diinkubasi dengan 5 µl kation Mg^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+}

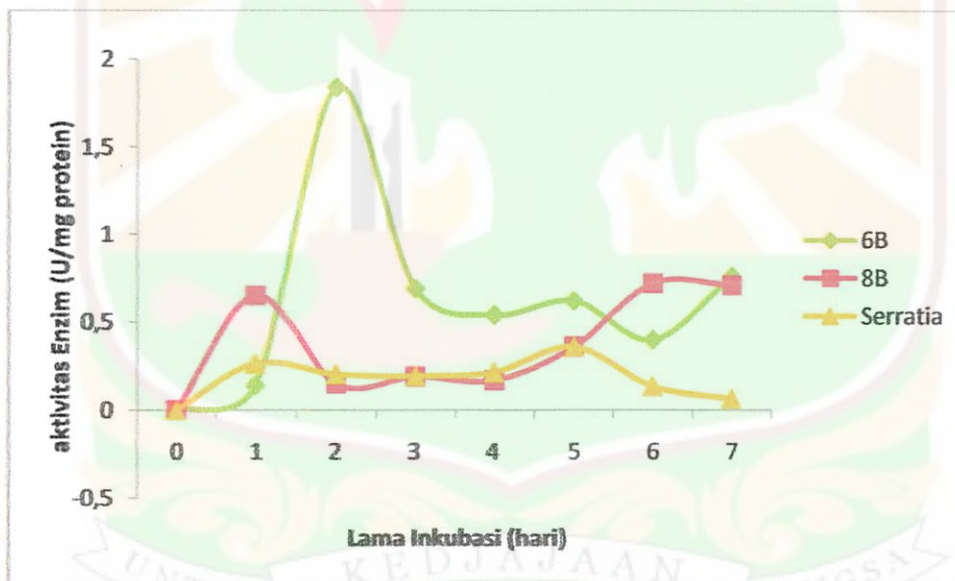
pada tabung reaksi yang berbeda (enzim sampel). Sebanyak 20 μ l enzim tanpa campuran kation diinkubasi pada pengocok bergoyang suhu 30 $^{\circ}$ C selama 60 menit (enzim kontrol). Selanjutnya masing-masing campuran enzim (kontrol dan sampel) ditambah buffer McIlvaine pH 7 sehingga total volumenya 1,5 ml. Untuk mengetahui pengaruh kation tersebut terhadap aktivitas enzim kitinase cara kerjanya sama dengan pengukuran aktivitas enzim sebelumnya.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Aktivitas Spesifik Enzim Kitinase

Aktivitas spesifik enzim kitinase dari isolat 6B dan 8B diukur dari nol hari sampai sepuluh hari inkubasi. Aktivitas spesifik kitinase dari isolat 6B dan 8B lebih tinggi dibandingkan aktivitas spesifik kitinase *Serratia marcescens*. Aktivitas spesifik kitinase dari isolat 6B tertinggi di dapat pada hari ke 2 inkubasi yaitu 1,84 Unit/mg protein dan aktivitas spesifik kitinase isolat 8B tertinggi diperoleh pada hari ke 6 yaitu 0,72 Unit/mg protein, sedangkan *Serratia marcescens* diperoleh pada hari ke 5 yaitu 0,361 Unit/mg protein (Grafik 1).



Grafik 1. Aktivitas Spesifik Kitinase (U/mg protein) Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*.

Aktivitas spesifik kitinase yang ditemukan pada penelitian ini lebih tinggi dari aktivitas spesifik kitinase kasar *Stenotrophomonas maltophilia* C3 yaitu 0,14 Unit/mg protein. Aktivitas spesifik kitinase isolat 6B lebih tinggi dari aktivitas spesifik

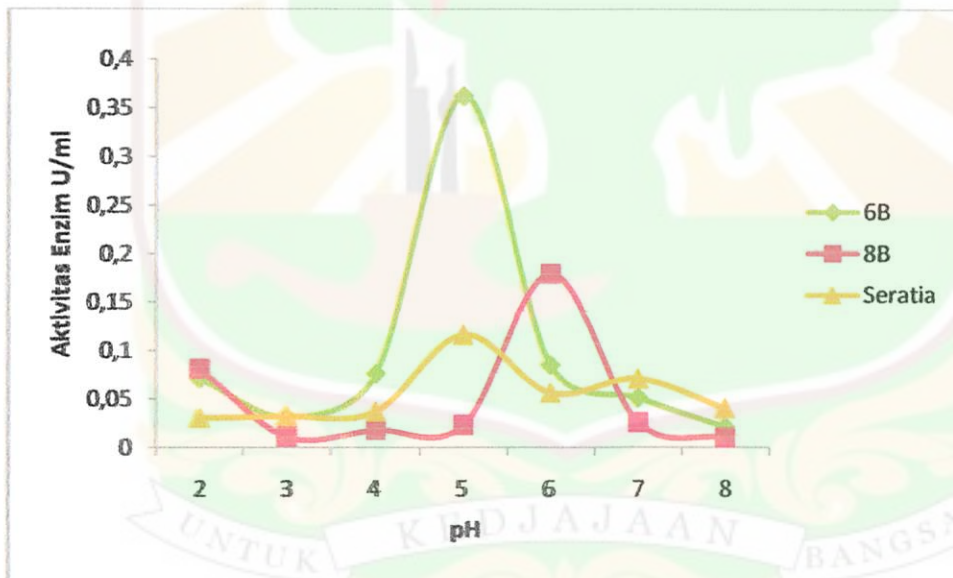
kitinase *Pseudomonas aeruginosa* strain 358 yang dipurifikasi yaitu 1,12 Unit/mg protein (Thompson *et al.*, 2001), tetapi aktivitas isolat 6B dan 8B lebih rendah jika dibandingkan dengan aktivitas kitinase spesifik yang ditemukan oleh Xia *et al.* (2001) pada *Aspergillus fumigatus* YJ-407 yaitu 3,36 Unit/mg protein.

Karakterisasi enzim kitinase lanjutan untuk pH, suhu dan pengaruh kation dari isolat 6B dilakukan pada hari ke 2 dan 8B dilakukan pada hari ke 6 inkubasi, sedangkan dari *Serratia marcescens* pada hari ke 5 inkubasi.

4.2. pH Optimum dan pH Stabilitas Enzim Kitinase

4.2.1. pH Optimum Kitinase

pH optimum kitinase isolat 6B dan 8B ditampilkan pada Grafik 2.



Grafik 2. pH Optimum Kitinase Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*.

Pada penelitian ini ditemukan pH Optimum kitinase dari isolat 6B adalah 5 dengan nilai aktivitas kitinase 0.362 (Unit/ml) dan isolat 8B pada pH 6 dengan aktivitas kitinase 0.179 (Unit/ml). Aktivitas kitinase dari isolat 6B dan 8B lebih tinggi

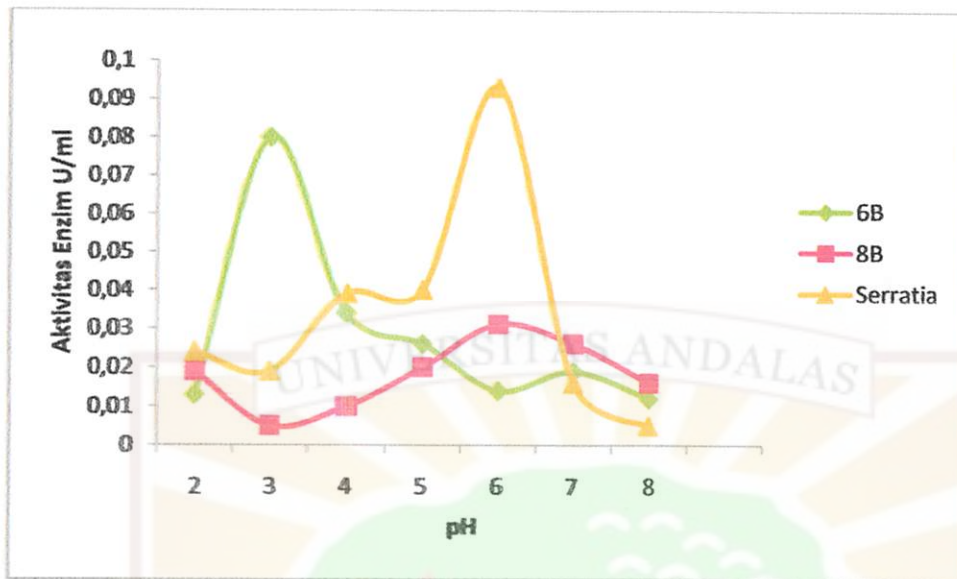
dari aktivitas kitinase *Serratia marcescens* yang didapat pada pH 5 dengan nilai aktivitas 0,116 (Unit/ml).

Aktivitas kitinase dari isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens* lebih aktif mendegradasi mikroorganisme (bakteri, jamur dan kapang) adalah pada pH 3,5 sampai pH 8. pH optimum kitinase dari isolat 6B, 8B dan bakteri *Serratia marcescens* yang diperoleh dari penelitian ini berada dalam kisaran pH optimum kitinase yang di laporkan tersebut.

Hasil penelitian dari beberapa peneliti lainnya melaporkan pH optimum kitinase yang dihasilkan bakteri bersifat basa yaitu pada pH 8 (Wang dan Chang, 1997; Jayanti, 2002; Purwani *et al.*, 2004; Noviendri *et al.* 2006). Menurut Suhartono (1989) dan Rahayu *et al.* (2004) pada umumnya enzim kitinase aktif pada pH netral dan pH asam atau basa (5-9). pH optimum kitinase isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens* yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh kedua peneliti tersebut.

4. 2. 2. pH Stabilitas Kitinase

pH stabilitas kitinase dari isolat 6B berada pada pH 3-7 dan isolat 8B berada pada pH 3-6, (Grafik 3). Isolat 6B mempunyai rentangan pH stabilitas yang lebih baik dari pada *Serratia marcescens* yang didapat pada pH 3-6.



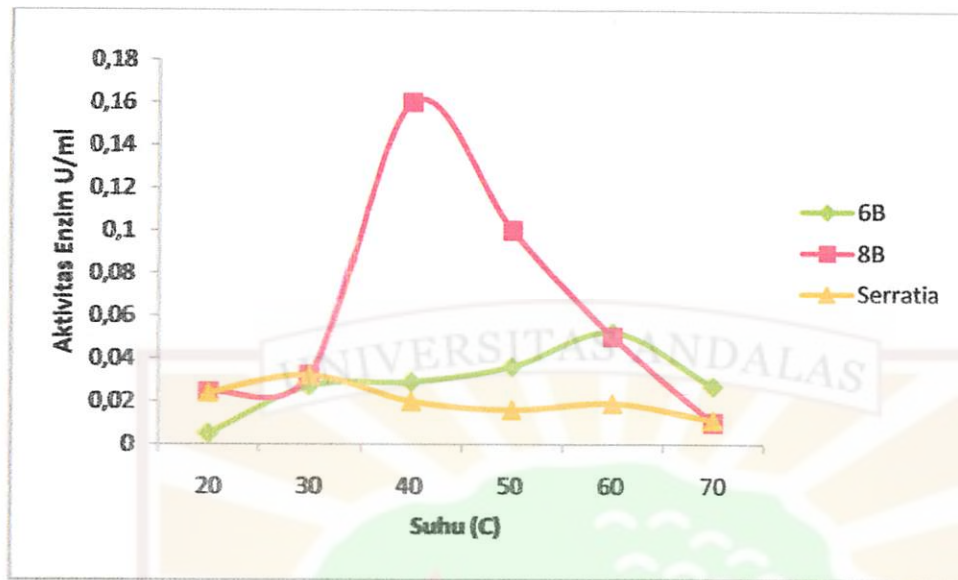
Grafik 3. pH Stabilitas Kitinase Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*.

Pada penelitian terdahulu ditemukan pH stabilitas kitinase dari bakteri *Bacillus* sp. NCTU2 berkisar pada 2,5-8 (Yi Wang *et al.*, 2001 dan Min Wen *et al.*, 2002), sedangkan Park *et al.* (1997) menyatakan pH stabilitas kitinase dari *Enterobacter* sp G-1 yang telah dipurifikasi yaitu dari pH 5-10. pH stabilitas kitinase yang diperoleh dari isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens* pada penelitian ini berada pada interval yang diperoleh oleh Yi Wang *et al.* (2001) dan Min Wen *et al.* (2002).

4.3. Suhu Optimum dan Suhu Stabilitas Enzim Kitinase

4.3.1. Suhu Optimum Kitinase

Pada penelitian ini diperoleh suhu optimum dari isolat 6B dan 8B serta nilai aktivitas kitinasenya secara berturut-turut adalah pada suhu 50⁰C diperoleh 0.046 (U/ml), suhu 40⁰C diperoleh 0.16 (U/ml), (Grafik 4). Isolat 6B dan 8B lebih toleran terhadap suhu tinggi dibandingkan dengan *Serratia marcescens* yang diperoleh pada suhu 30⁰C dengan nilai aktivitas kitinasenya 0.032 (U/ml).



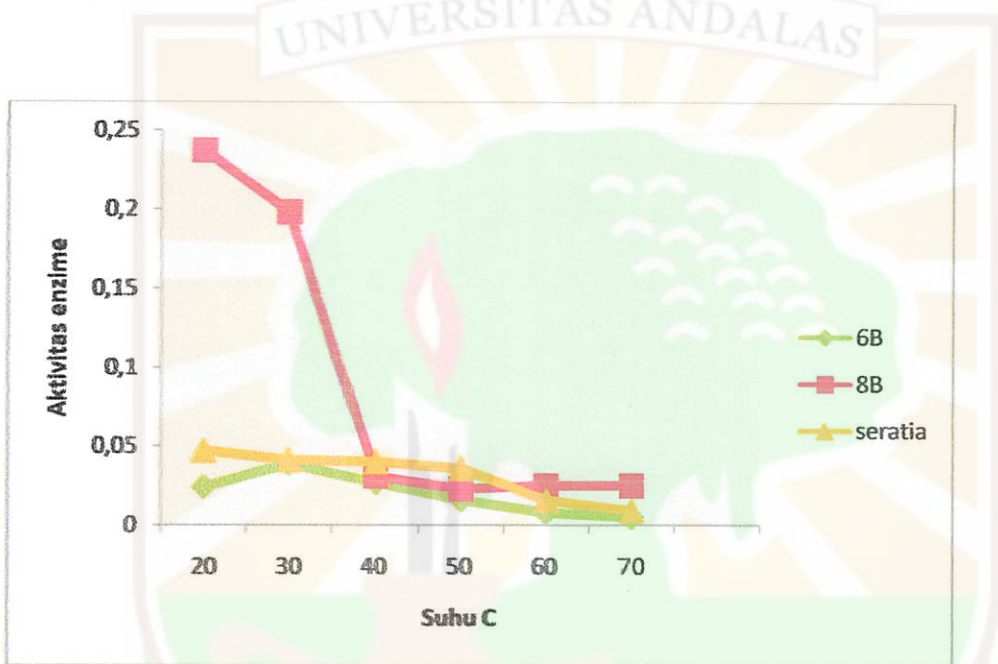
Grafik 4. Suhu Optimum Kitinase Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*.

Suhu optimum kitinase yang ditemukan pada penelitian ini berada pada level suhu optimum kitinase yang ditemukan oleh Somasheker *et al.* (1996) yaitu pada kisaran suhu 30-60 °C.

Enzim kitinase dari isolat 8B dan bakteri *Serratia marcescens* dapat digolongkan ke dalam enzim kitinase mesofilik, karena suhu optimum kitinase berkisar antara 25-45°C, sedangkan enzim kitinase dari isolat 6B digolongkan sebagai enzim kitinase termostabil karena suhu optimum kitinasenya berkisar antara 45 - 85°C (Agustin, 2005).

4.3.2. Suhu Stabilitas Kitinase

Suhu stabilitas kitinase dari isolat 8B berkisar antara suhu 20⁰C-50⁰C dan isolat 6B pada kisaran suhu 20⁰C-60⁰C, (Grafik 5). Pada penelitian ini ditemukan suhu stabilitas kitinase isolat 8B sama dengan *Serratia marcescens* toleran terhadap panas yang kisaran suhu stabilitasnya 20⁰C-50⁰C



Grafik 5. Suhu Stabilitas Kitinase Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*.

Suhu stabilitas enzim kitinase dari isolat 6B dan 8B yang diperoleh dari penelitian ini berada pada rentangan suhu yang ditemukan oleh Yi Wang *et al.* (2001) yaitu 40-70⁰C, Purwani *et al.* (2004) pada suhu 60-80⁰C dari bakteri *Bacillus* sp. 13.26 dan bakteri *Bacillus* K-129-14 pada suhu 70⁰C (Rahayu *et al.*, 2004).

Tabel 1. Pengaruh Ion Terhadap Aktivitas Kitinase dari Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*

Ion	Isolat	Aktifitas Enzim Kitinase		% Keaktifan
		Sebelum Inkubasi	Setelah Inkubasi	
Cu ⁺²	6B	0.064	0.603	89
	8B	0.029	0.350	91
	SC	0.035	0.011	40
Co ⁺²	6B	0.064	0.015	344
	8B	0.029	0.003	806
	SC	0.035	0.005	98
Mg ⁺²	6B	0.064	0.326	80
	8B	0.029	0.306	90
	SC	0.035	0.135	30
Zn ⁺²	6B	0.064	0.660	90
	8B	0.029	0.225	87
	SC	0.035	0.010	35
Fe ⁺²	6B	0.064	0.073	12
	8B	0.029	0.011	164
	SC	0.035	0.055	30

Ca²⁺	6B	0.064	0.031	108
	8B	0.029	0.048	40
	SC	0.035	0.135	30

Berdasarkan Tabel 1 aktivitas kitinase isolat 6B meningkat setelah berinteraksi dengan ion divalen Cu⁺², Mg⁺², Zn⁺², Fe⁺² dan aktivitasnya menurun setelah berinteraksi dengan ion Co⁺² dan Ca⁺². Isolat 8B aktivitasnya meningkat setelah berinteraksi dengan Cu⁺², Mg⁺², Zn⁺², Ca⁺² dan menuruns aktivitasnya setelah berinteraksi dngan ion Co⁺², Fe⁺². Aktivitas kitinase dari *Serratia marcescens* meningkat setelah berinteraksi dengan ion divalen Cu⁺², Co⁺², Zn⁺² dan menurun setelah berinteraksi dengan ion divalen Ca⁺² Mg⁺² Fe⁺². Menurunnya aktivitas kitinase dari isolat 6B, 8B, dan *Serratia marcescens* setelah di inkubasi dengan ion Zn⁺² sama dengan yang di dapat oleh Rahayu *et al.* (2004) bahwa kitinase dari bakteri *Bacillus K-129-14* menurun aktivitasnya setelah berinteraksi dengan ion Zn⁺².

Ion divalen Co⁺² pada penelitian ini terlihat sebagai kation inhibitor yang dapat menurunkan aktivitas enzim kitinase isolat 6B dan 8B secara berturut-turut 43% dan 97%. Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil yang ditemukan oleh Rahayu *et al.* (2004) yang menemukan kation Co⁺² meningkatkan aktivitas kitinase dari bakteri *Bacillus K-129-14*. Perbedaan respon kitinase terhadap ion disebabkan oleh kitinase berasal dari isolat yang berbeda-beda dan karakternya juga akan berbeda. Beberapa enzim kitinase yang di hasilkan oleh mikroba sangat sensitif

kitinase berasal dari isolat yang berbeda-beda dan karakternya juga akan berbeda. Beberapa enzim kitinase yang di hasilkan oleh mikroba sangat sensitif dengan ion diantaranya enzim kitinase yang dihasilkan *Aspergillus fumigatus*, aktivitas kitinasenya dihambat oleh Hg^{+2} , Pb^{+2} , Ag^+ , Fe^{+2} , Mn^{+2} (Xia *et al.*, 2001). Ion Ca^{+2} dapat meningkatkan aktivitas kitinase dari *Enterobacter* sp. NRG4 (Dahiya *et al.*, 2005). Hasil yang diperoleh dari isolat 8B pada penelitian ini sama dengan hasil yang ditemukan oleh Dahiya *et al.* (2005).



V. KESIMPULAN

Karakter enzim kitinase dari isolat bakteri kitinolitik 6B dan 8B dapat diaplikasikan untuk menghidrolisis senyawa kitin dan karakter enzim kitinase isolat 6B lebih baik dalam menghidrolisis kitin di bandingkan isolat 8B dan bakteri *Serratia marcescens*. Aktivitas spesifik kitinase ekstraseluler dari isolat 6B adalah 1.84 Unit/mg protein, pH optimum 5, pH stabilitasnya 3 sampai 7, suhu optimum 50°C, suhu stabilitasnya 20°C sampai 60°C. Isolat 6B mengalami peningkatan aktivitas setelah di beri ion Mg^{+2} , Cu^{+2} , Fe^{+2} dan Zn^{+2} sedangkan aktivitasnya menurun setelah di beri ion CO^{+2} dan Ca^{+2} .



DAFTAR PUSTAKA

- Agustine, H. 2005. Pengujian aktivitas immunoenhancing oligomer kitin yang diproduksi secara enzimatis . Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian, Institute Pertanian Bogor. Bogor, Hal 45.
- Banat, B.M.A.A., Y. Kameyana., T. Yoshioka and D. Koga. 1999. Purification and characterization of a 54 KDa chitinase from *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* Volume 29, Issue 6:537-547.
- Bassler, B. L., C. Yu, Y.C. Lee and S. Roseman. 1991. Chitin utilization by marine bacteria : degradation and catabolisms of chitin oligosaccharides by *Vibrio funisii*. *J. Biol. Chem.* Vol. 266 : 24276-24286.
- Dahiya.N., R.P. Tewari and G.S. Hoondal. 2005. Chitinase from *enterobacter sp.* NRG 4 : Its purification, characterization and reaction pattern effect. *J. Biotechnol.* Vol. 8 (2) : 134-145.
- Dinas Perikanan dan Kelautan KabupatenPasaman Barat. 2006. Ekspor Perikanan Kabupaten Pasaman Barat. Dinas Perikanan dan Kelautan Pasaman Barat, Simpang Empat.
- Flach, J., P-E, Pilet and P, Jolles. 1992. What's new in chitinase research? *experimentia* 48:701-716.
- Fanimo, A. O., Mudama., T.O. Umokoro and O.O. Oduguwa. 1996. Substitution of shrimp waste meal for fish meal in broiler chicken ration. *Tropical Agri.* (Trinidad), 73:201-205.
- Gernat, A. G.2001. The effect of using different level of shrimp meal in laying hen diet. *Reasearh rotes. Poultry Science* 80:633-636.
- Hwan, K. T., J. W. Jin., J. S. Ju., R. P. Dong., S.K. Young and K.K. Yung. 2006. Effect of chitinase produced from *Panibacillus illinoisensis* on Egg Hatching of Root- knot Nematode, *Meloidoyne spp* *Deratmet of Animal Science.* College of Agriculture, Chonnam National University, Kwang ju, Korea.
- Imoto, T and K. Yagashita. 1971. A simple activity measurement of Iysozyme. *Agric. Biol. Chem.* 35:1154-1156.
- Jayanti, J.F.L. 2002. Studi Kitinase dan Kitin Deasetilase Termotabil dari Isolat Asal Manado. Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian, Institute Pertanian Bogor. Bogor.Hal 55.

- Koga, D., M. Mitsutomi, M. Kono, M. Matsumiya, Biochemistry of Chitinase. In chitin and chitinase : Jolles, P., R.A.A. Muzzarelli, Eds Birkhauser Verlag : Basel, Switzerland, 1999. Vol 98: III-123.
- Kurakake, M., S. Yo U, K. Nakagawa, M. Sugihara, and T. Komaki. 2000. Properties of chitosanase from *Bacillus cereus* S1. *Curr. Microbiol.* 40: 6-9.
- Kuranda, M., J, and P. W. Robbins. 1991. Chitinase is required for cell separation during growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* Vol. 266 : 19758-19767.
- Lee, V., and Evonne, T. 2002. Chitin and Chitosan Application. Final Year Research and Development project. Loughborough University. <http://www.geocities.com>.
- Lorito, M., C.K. Hayes., A. Zoina, F. Scala, G. Sorbo, S.L Woo, dan G.E. Harman. 1994. Potensial of genes and gene products from *Trichoderma* sp. and *Gliocladium* sp. For the Development of Biological pesticides. *Molecular Biotechnology* 2: 209-217.
- Mahata, E.M., Y. Rizal, A. Dharma. 2006. Potensi Enzim Kitinase Ekstraseluler Bakteri *Serratia marcescens* Dalam meningkatkan kualitas limbah udang dan Aplikaisnya sebagai pakan ternak. Laporan penelitian Hibah bersaing XIV /. Universitas Andalas, Padang.
- Mahata, E.M. 2007. Isolasi enzim Ekstraseluler Dari Bakteria dan Aplikaisnya Dalam Perbaikan Kualitas Gizi Limbah Udang untuk Pakan ternak Unggas. Disertasi Pasca Sarjana, Universitas Andalas, Padang .
- Min Wen, C., C.S. Tseng, C.Y. Cheng, and Y.K. Li. 2002. Purification, characterization and cloning of a chitinase from *Bacillus* sp. *NCTU 2.. Biotechnol. Appl. Biochem.* 35.213-219.
- Minoru, M., S Hiroyyuki, and S Yoshihiro. 2001. Control of function of chitin and chitosan by chemical modification. Minireview, in *Trends in Glycoscience and Glycotechnology* Vol. 14 No 78, PP : 205-222.
- Mirzah. 1997. Pengaruh Pengolahan Tepung Limbah Udang Dengan Tekanan Uap Panas Terhadap Kwalitas Dan Pemanfaatannya Dalam Ransum Ayam Broiler. Disertasi Pasca Sarjana Universitas Padjajaran, Bandung.
- Montgomery, M.T., and D.L. Kirchman. 1993. Role of chitin-binding Proteins in the specific attachment of the marine bacterium *Vibrio harveyi* to chitin. *Appl. Environ. Microbiol.* 59 :375-370.

- Noviendri,D., E. Chasanah, dan Y.N. Fawzya. 2006. Karakterisasi enzim kitinase yang diproduksi oleh isolat bakteri JB 4 dari terasi J. *Bioteknologi* Vol.1 No.2,: 85-90.
- Nugroho, T. T., M. Ali., C. Ginting., Wahyuningsih., A. Dahliati., S. Devi, dan Y. Sukmarisa. 2003. Isolasi dan karakterisasi sebagian kitinase *Trichoderma viride* TNJ 63. *Jurnal Natur Indonesia* 5(2): 101-106.
- Okoye, F.C., Ojewala, G.S., Njoku-Onu, K. 2005. Evaluation of shrimp waste meal as a probable animal protein source for broiler chicken. *International Journal of Poultry Science* 458-461.
- Park, J.K., I Fukumoto, Y Yamakasi, T Hakagawa, M Kawamukai, and H Matsuda. 1997. Purification and characterization of the chitinase (chi A) from *Enterobacter* sp G1. *Bio sci. Biotechnol. Biochem.*, 61:648-689.
- Purwani, E.Y., M.T. Suhartono., Y. Rukayadi ., J.K Hwang, and Y.R Pyun. 2004. Characteritics of thermostable chitinase enzyme from the Indonesian *Bacillus* sp. 13.26. *J. Enzyme. Microbiol. Technol.* 35: 147 – 153.
- Rahayu, S., F Tanuwidjaya, Y Rukayadi, A Suwanto, M.T Suhartono, J. K. Hwang, and Y. R Pyun. 2004. Study of thermortable chitinase enzymes from Indonesian *Bacillus* K129 -14. *J. Microbiol. Biotechnol.* 14 (4) : 647 -652.
- Rosenfeld, D.J. A.G Gernat, J D Marcano, J G Murilla, G H Lopez, and J A Floes. 1997. The effect of using different levels of shrimp meal in broiler diet. *Poult. Sci.*, 76 : 581-587,
- Saputra W. 2008. Isolasi, Dan Identifikasi Bakteri kitinolitik Asal Air Laut Sumatra Barat Untuk Pengolahan Pakan Ternak. (Unpublished)
- Sheng, L., Z Zhia-an, L Ming, G Zhen-Rong, B.A.I Chen, and H Weida. 2002. Purification and characterization of a novel chitinase from *Bacillus brevis*. *Acta Biochemica et Biophysica Sinica* 34 (6) : 690-696.
- Shingemasa, Y., K. Saito, H. Sashiwa, and H. Saimoto. 1994. Enzymatic degradation of chitins and partially deacetylated chitins. *Int. J. Biol. Microbiol.* 16: 43 – 49.
- Somashekar, D., and R. Joseph. (1996) Chitosanase properties and aplication. *Bioresearcsource Technology.* 55, 35 – 45.
- Splinder, K.D. 1997. Chitinase and Chitsonase Assays. In : *Chitin Hand Book* (Muzzarelli, R.A.A., and M.G Peter. 9eds). Italy : Atec Grolttammare. P. 229-235.

- Suhartono, M.T. 1989. Enzim dan Bioteknologi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Antar Universitas Bioteknologi. Institute Pertanian Bogor, Bogor.
- Thompson, S. E., M Smith., M.C Wilkinson and K Peek.2001. Identification and characterization of a chitinase antigen from *Pseudomonas aeruginosa* strain 385. *J. Applied Environ. Microbiol* 67 ,90 : 4001-4008.
- Tsujibo, H., Y. Yoshida., C. Imada., Y. Okami., K. Miyamoto and Y. Inamori. 1991. Isolation and Characterization of a chitin degrading marine bacterium belonging to the genus *Alteromonas*. *Nippon Suisson Gakkaishi* 57:2127-2131.
- Uria, A. R and E. Chasanah. 2005. Chitinase and chitosanase from *Micoorganism with marine sponge*. Dipresentasikan pada the 9th of ASEAN Food Comfrence, Jakarta.
- Vogan, L.C., C.C Ramos and A.F Rowley. 2002. Shell Disease Syndrome in the edible crab, *Cancer Pagurus- Isolation*, Characherization and phatogenicity of chitinolytic Bacteria.
- Wang, S.L and W.T. Chang. 1997. Purification and characherization of two bifunctional chitinase/lysozymes extracellura produced by *Pseudomonas aeruginosa* K-187 in a shrimp and crab shell powder medium. *J. Applied. Environ. Microbiol.* 63 (2) : 380-3850.
- Watkins, B.E., J. Adair and J.E. Oldfield. 1982. Evaluation of shrimp and crab processing waste as a feed supplement for mink. *J. Animal Sci.* Vol 55 (3) : 578-580.
- Xia Guoging., Chunsheng Jin.,Ju Zhou., Shoujun Yang., Shuzheng Zhang and Cheng Jin. 2001. A novel chitinase having a unique mode of action from *aspergillus fumigatus* YJ-407. *Eur. J. Biochem* 268, 4079-4085.
- Yi Wang, S., L.M. Anne., T George., J.W. Show., D.L Rober.t, K. Narendra and Singh. 2001. Purification and characterization of a *Bacillus Cereus* exochitinase. *Enzyme and Microbiol. Tecnology.* 492-498.
- Yun, C.S., D Arnakata., Y Matsuo., H Matsuda and M Kawamukai, 2005. New chitosan – degrading strain that produce chitosanase similar to cho 4 of *Mitsuaria Chitosanitabida*. *J. Applied. Environ. Microbiology*, September 5138-5144.
- Zhu, Xu – Fen., X.Y. Wu and Y Dai. 2003. Fermentation condition and properties of a chitosanase from *Acinetobacter* sp. C-17. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 67 (2) 284 – 290.

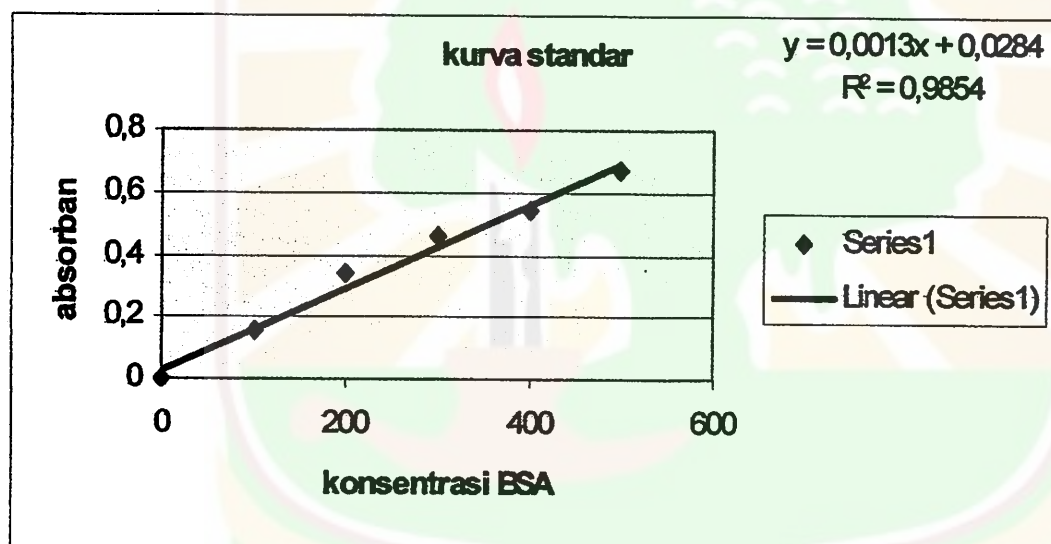
Zilda, D. S and E Chasanah. 2005. Screening of chitinolitik bacteria from terasi.
Dipresentasikan pada 9th of ASEAN food Conference, Jakarta.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Protein Terlarut Enzim

No	Standar (x)	Absorbant (y)	X . Y	X ²	(εx ²)
1	0	0	0	0	
2	100	0,152	15,2	10000	
3	200	0,338	67,6	40000	
4	300	0,458	137,4	90000	
5	400	0,542	216,8	160000	
6	500	0,671	335,5	250000	
Jumlah	1500	2,161	772,5	550000	2250000



Rumus regresi :

$$Y = a + b \cdot x$$

$$X = \frac{Y - a}{b}$$

$$b = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$= \frac{6(772,5) - (1500)(2,161)}{6(550000) - (1500)^2}$$

$$= \frac{1393,5}{1050000} = 0,001327 \dots\dots (b)$$

$$a = \frac{(\sum y) - b(\sum x)}{n} = \frac{(2,161) - 0,001327(1500)}{6} = 0,0284 \dots\dots (a)$$

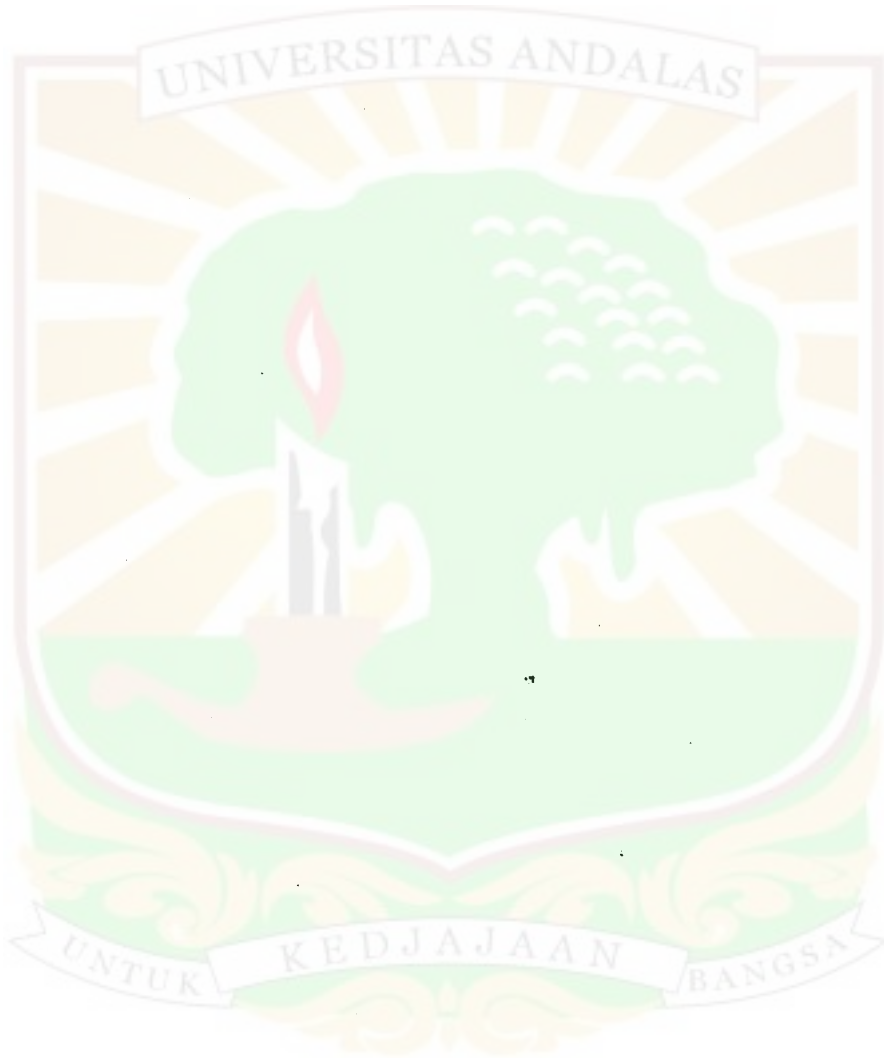
Data protein terlarut.

$$a = 0.0284$$

$$b = 0.001327$$

Sampel	Hari	Absorban 2-log T	Protein Enzim
6B	0	0,250	0,166
	1	0,192	0,123
	2	0,175	0,110
	3	0,178	0,112
	4	0,186	0,118
	5	0,197	0,127
	6	0,202	0,130
	7	0,212	0,138
8B	0	0,226	0,148
	1	0,191	0,122
	2	0,177	0,111
	3	0,171	0,107
	4	0,189	0,121
	5	0,203	0,131
	6	0,202	0,130
	7	0,190	0,121

<i>Serratia marcescens</i>	0	0,229	0,152
	1	0,271	0,182
	2	0,284	0,195
	3	0,327	0,225
	4	0,275	0,187
	5	0,271	0,183
	6	0,343	0,235
	7	0,381	0,227



Lampiran 2. Aktivitas Enzim Kitinase Isolat 6B,8B dan *Serratia marcescens*

	Lama Inkubasi (hari)	Kontrol (2-log T)	Sampel (2-log T)	Aktivitas Enzim (Unit/ml)
6B	0	0	0	0
	1	0,685	0,642	0,0174
	2	0,810	0,799	0,2027
	3	0,699	0,678	0,0770
	4	0,648	0,623	0,0636
	5	0,975	0,959	0,0787
	6	0,688	0,658	0,0519
	7	0,796	0,770	0,1055
8B	0	0	0	0
	1	0,646	0,638	0,0787
	2	0,700	0,693	0,0164
	3	0,664	0,646	0,0203
	4	0,631	0,616	0,0203
	5	0,939	0,917	0,0469
	6	0,824	0,811	0,0934
	7	0,715	0,715	0,0849
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	0
	1	0,721	0,691	0,0480
	2	0,663	0,639	0,0400
	3	0,697	0,670	0,0435
	4	0,823	0,798	0,0403
	5	0,717	0,676	0,0660
	6	0,676	0,656	0,0320
	7	0,674	0,665	0,0145

Lampiran 3. Aktivitas Spesifik (U/mg) Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*

Isolat	Lama Inkubasi (hari)	Aktivitas Enzim (Unit/ml)	Protein Enzim (mg protein)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein)
6B	0	0	0	0
	1	0,017	0,123	0,14
	2	0,203	0,110	1,84
	3	0,077	0,112	0,69
	4	0,064	0,118	0,54
	5	0,079	0,127	0,62
	6	0,052	0,130	0,40
	7	0,106	0,138	0,76
8B	0	0	0	0
	1	0,079	0,367	0,65
	2	0,016	0,703	0,15
	3	0,020	0,979	0,19
	4	0,020	1,366	0,17
	5	0,047	0,921	0,36
	6	0,093	1,307	0,72
	7	0,085	0,787	0,71
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	0
	1	0,048	0,182	0,264
	2	0,040	0,195	0,205
	3	0,044	0,225	0,193
	4	0,040	0,187	0,216
	5	0,066	0,183	0,361
	6	0,032	0,235	0,136
	7	0,015	0,227	0,064

Lampiran 4. pH Optimum Enim Kitinase Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*

Isolat	pH	Kontrol (2-log T)	Sampel (2-log T)	Aktivitas Enzim (Unit/ml)
6B	2	0,914	0,870	0,071
	3	0,857	0,838	0,031
	4	0,907	0,860	0,076
	5	0,810	0,585	0,362
	6	0,854	0,801	0,085
	7	0,845	0,813	0,051
	8	0,883	0,870	0,021
	8B	2	0,886	0,836
3		0,904	0,897	0,011
4		0,914	0,903	0,018
5		0,921	0,907	0,023
6		0,873	0,762	0,179
7		0,873	0,854	0,026
8		0,860	0,854	0,010
<i>Serratia marcescens</i>		2	0,873	0,854
	3	0,921	0,901	0,032
	4	0,726	0,703	0,037
	5	0,682	0,610	0,166
	6	0,717	0,682	0,056
	7	0,745	0,701	0,071
	8	0,866	0,841	0,040

Lampiran 5. pH stabilitas Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*

Isolat	pH	Kontrol (2-log T)	Sampel (2-log T)	Aktivitas Enzim (Unit/ml)
6B	2	0,868	0,860	0,013
	3	0,913	0,863	0,008
	4	0,832	0,811	0,034
	5	0,873	0,857	0,026
	6	0,879	0,870	0,014
	7	0,847	0,835	0,019
	8	0,859	0,851	0,012
	8B	2	0,845	0,841
3		0,854	0,851	0,005
4		0,86	0,854	0,010
5		0,864	0,851	0,020
6		0,764	0,745	0,031
7		0,87	0,854	0,026
8		0,848	0,811	0,060
<i>Serratia marcescens</i>		2	0,857	0,845
	3	0,866	0,843	0,037
	4	0,854	0,830	0,039
	5	0,860	0,835	0,040
	6	0,893	0,835	0,093
	7	0,826	0,816	0,016
	8	0,812	0,809	0,005

Lampiran 6. Suhu Optimum Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*

Isolat	Suhu (°C)	Kontrol (2-log T)	Sampel (2-log T)	Aktivitas Enzim (Unit/ml)
6B	20	0,854	0,851	0,005
	30	0,903	0,886	0,027
	40	0,851	0,833	0,029
	50	0,876	0,853	0,036
	60	0,875	0,843	0,052
	70	0,940	0,923	0,027
8B	20	0,854	0,833	0,024
	30	0,821	0,801	0,032
	40	0,900	0,801	0,160
	50	0,889	0,827	0,100
	60	0,870	0,839	0,050
	70	0,870	0,864	0,010
<i>Serratia marcescens</i>	20	0,839	0,823	0,024
	30	0,842	0,822	0,032
	40	0,931	0,917	0,020
	50	0,840	0,830	0,016
	60	0,879	0,867	0,019
	70	0,921	0,914	0,011

Lampiran 7. Suhu Stabilitas Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*

Isolat	Suhu (°C)	Kontrol (2-log T)	Sampel (2-log T)	Aktivitas Enzim (Unit/ml)
6B	20	0,790	0,769	0,024
	30	0,875	0,851	0,039
	40	0,861	0,844	0,027
	50	0,854	0,844	0,016
	60	0,848	0,830	0,029
	70	0,886	0,863	0,037
8B	20	0,876	0,729	0,237
	30	0,889	0,765	0,198
	40	0,867	0,848	0,031
	50	0,879	0,865	0,023
	60	0,827	0,813	0,025
	70	0,876	0,860	0,025
<i>Serratia marcescens</i>	20	0,893	0,864	0,047
	30	0,896	0,870	0,041
	40	0,903	0,877	0,040
	50	0,879	0,857	0,036
	60	0,860	0,850	0,016
	70	0,889	0,883	0,009

Lampiran 8. Pengaruh Kation Terhadap Aktivitas Enzim Kitinase Isolat 6B, 8B dan *Serratia*

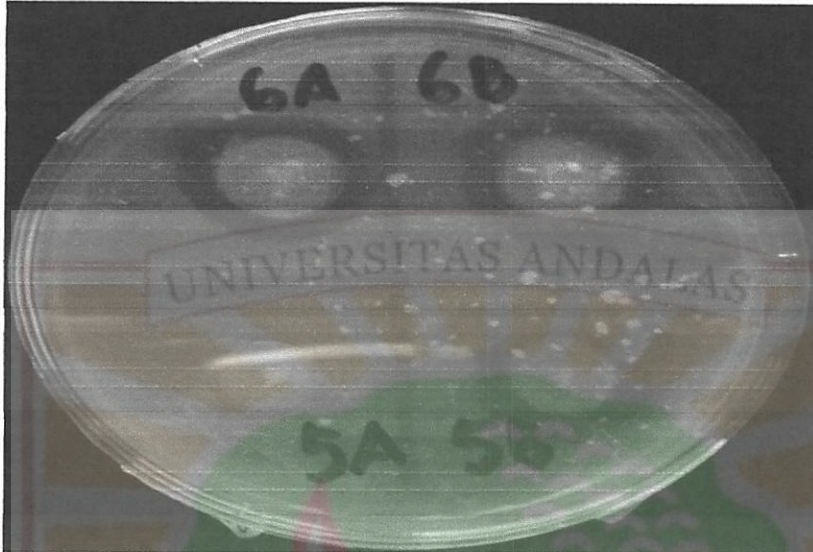
marcescens

Isolat	Kation	Sampel	Kontrol	Aktivitas Enzim (Unit/ml)
6B	Tanpa kation	0,907	0,883	0,030
	Fe ⁺²	0,839	0,796	0,069
	Co ⁺²	0,010	0,009	0,002
	Cu ⁺²	0,824	0,730	0,151
	Mg ⁺²	0,863	0,845	0,029
	Zn ⁺²	0,903	0,886	0,027
	Ca ⁺²	0,851	0,821	0,048
8B	Tanpa kation	0,907	0,886	0,034
	Fe ⁺²	0,742	0,688	0,087
	Co ⁺²	0,015	0,012	0,005
	Cu ⁺²	0,733	0,380	0,568
	Mg ⁺²	0,790	0,775	0,026
	Zn ⁺²	0,833	0,796	0,060
	Ca ⁺²	0,955	0,939	0,026
<i>Serratia marcescens</i>	Tanpa kation	0,921	0,899	0,035
	Fe ⁺²	0,886	0,852	0,055
	Co ⁺²	0,013	0,01	0,005
	Cu ⁺²	0,836	0,829	0,011
	Mg ⁺²	0,869	0,785	0,135
	Zn ⁺²	0,745	0,739	0,010
	Ca ⁺²	0,895	0,835	0,096

Lampiran 9 : Diameter Zona Bening Kitinase Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens* selama 10 hari.

Isolat	Hari	Diameter Zona Bening(cm)
6B	1	0
	2	1,45
	3	1,7
	4	2
	5	2,2
	6	2,2
	7	2,5
	8	2,5
	9	2,6
	10	3
8B	1	1,5
	2	1,6
	3	1,9
	4	2,2
	5	2,3
	6	2,5
	7	2,5
	8	3,1
	9	3,1
	10	3,1

Lampiran 10 : Gambar Clear Zone Isolat 6B dan 8B.



Hari ke 2



Hari ke 6

RIWAYAT HIDUP



GUSTIAN ILHAM. Lahir di Padang pada tanggal 10 Agustus 1985 dari Ayah Syarifuddin dan Ibu Nurlis sebagai anak kedua dari tiga bersaudara. Penulis telah menyelesaikan pendidikan formal meliputi :SD N 06 Alai timur Padang tahun 1993 – 1998, SLTP N 25 Padang tahun 1998 – 2001, SMU N 3 Padang tahun 2001 – 2004 dan pada tahun 2004 penulis diterima sebagai Mahasiswa Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang melalui jalur SPMB.

Pada tanggal 1 Juli sampai dengan 10 Agustus 2007 penulis melakukan kegiatan Magang di Balai Pembibitan Sapi Potong Aripan Solok, kemudian melaksanakan Farm Experience pada tanggal 10 Maret 2008 sampai 18 Agustus 2008 di UPT Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Dan melakukan penelitian pada tanggal 10 Maret sampai 10 Juli 2008 di Laboratorium Teknologi Industri Pakan (TIP), Laboratorium Nutrisi Non Ruminansia, Laboratorium Nutrisi Ruminansia Fakultas Peternakan dan Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Andalas Padang dalam rangka syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan.

Penulis

GUSTIAN ILHAM



Padang, Juni 2010

Kepada Yth:

Gustian Ilham (04162076)

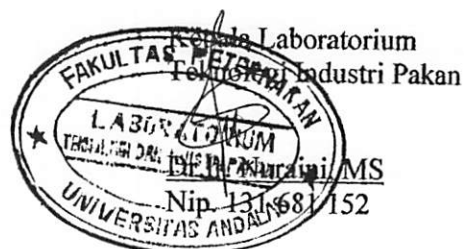
Mhs Nutrisi dan Makanan Ternak

Fakultas Peternakan Unand Padang

Hasil Analisa Sampel No.109/ ALS / Faterna 2010

Sampel : Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*

Isolat	Lama Inkubasi (hari)	Ulangan	Aktivitas Enzim Kitinase	
			Absorban Kontrol	Absorban Sampel
6B	0	0	0	0
	1	1	0.699	0.688
		2	0.611	0.600
	2	1	0.854	0.669
		2	0.745	0.678
	3	1	0.724	0.674
		2	0.767	0.721
	4	1	0.678	0.638
		2	0.688	0.648
	5	1	0.727	0.678
		2	0.699	0.650
	6	1	0.669	0.637
		2	0.710	0.678
	7	1	0.541	0.475
2		0.668	0.602	
8B	0	0	0	0
	1	1	0.710	0.652
		2	0.678	0.638
	2	1	0.658	0.648
		2	0.678	0.668
	3	1	0.678	0.674
		2	0.699	0.678
	4	1	0.867	0.854
		2	0.824	0.811
	5	1	0.886	0.857
		2	0.886	0.860
	6	1	0.678	0.620
		2	0.587	0.529
	7	1	0.680	0.627
2		0.688	0.635	
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	0
	1	1	0,721	0,691
		2	0,631	0,601
	2	1	0,663	0,639
		2	0,796	0,772
	3	1	0,697	0,670
		2	0,721	0,694
	4	1	0,823	0,798
		2	0,621	0,597
	5	1	0,717	0,676
		2	0,717	0,675
	6	1	0,676	0,656
		2	0,675	0,655
	7	1	0,674	0,665
2		0,673	0,664	





Padang, Juni 2010

Kepada Yth:

Gustian Ilham (04162076)

Mhs Nutrisi dan Makanan Ternak

Fakultas Peternakan Unand Padang

Hasil Analisa Sampel No. ¹⁰⁹/ ALS / Faterna 2010

Sampel : Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*

Isolat	pH Optimum	Ulangan	Aktivitas Enzim Kitinase		
			Absorban Kontrol	Absorban Sampel	
6B	2	1	0.907	0.886	
		2	0.921	0.854	
	3	1	0.857	0.838	
		2	0.790	0.857	
	4	1	0.907	0.860	
		2	0.854	0.893	
	5	1	0.810	0.585	
		2	0.810	0.857	
	6	1	0.780	0.793	
		2	0.854	0.801	
	7	1	0.866	0.824	
		2	0.824	0.803	
	8	1	0.883	0.870	
		2	0.851	0.886	
	8B	2	1	0.886	0.799
			2	0.886	0.873
3		1	0.921	0.917	
		2	0.886	0.876	
4		1	0.914	0.903	
		2	0.870	0.900	
5		1	0.854	0.917	
		2	0.921	0.907	
6		1	0.873	0.762	
		2	0.857	0.886	
7		1	0.873	0.854	
		2	0.886	0.873	
8		1	0.854	0.860	
		2	0.860	0.854	
<i>Serratia marcescens</i>		2	1	0,873	0,854
			2	0,774	0,755
	3	1	0,840	0,810	
		2	0,790	0,780	
	4	1	0,726	0,703	
		2	0,625	0,602	
	5	1	0,682	0,610	
		2	0,672	0,600	
	6	1	0,717	0,682	
		2	0,780	0,745	
	7	1	0,745	0,701	
		2	0,744	0,700	
	8	1	0,866	0,841	
		2	0,729	0,704	

Kepala Laboratorium
 Teknologi Industri Pakan



Dr. Ir. Nurfaizal, MS

681 152



**LABORATORIUM TEKNOLOGI INDUSTRI PAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN UNIVERSITAS ANDALAS**

Gedung Laboratorium I Ruang 43 C, Kampus Limau Manis Padang 25163
Telp/Fax : 0751- 71464, pes.559.E-mail faterna@indosat.net.id

Padang, Juni 2010

Kepada Yth:

Gustian Ilham (04162076)

Mhs Nutrisi dan Makanan Ternak

Fakultas Peternakan Unand Padang

Hasil Analisa Sampel No.109/ ALS / Faterna 2010

Sampel : Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*

Isolat	pH Sabilitas	Ulangan	Aktivitas Enzim Kitinase		
			Absorban Kontrol	Absorban Sampel	
	2	1	0.866	0.860	
		2	0.870	0.860	
	3	1	0.886	0.854	
		2	0.939	0.870	
	4	1	0.824	0.827	
		2	0.839	0.818	
	5	1	0.873	0.854	
		2	0.854	0.854	
	6	1	0.879	0.870	
		2	0.879	0.883	
	7	1	0.848	0.833	
		2	0.851	0.839	
	8	1	0.857	0.854	
		2	0.860	0.848	
	8B	2	1	0.851	0.848
			2	0.839	0.835
3		1	0.854	0.851	
		2	0.854	0.854	
4		1	0.860	0.854	
		2	0.860	0.854	
5		1	0.870	0.854	
		2	0.857	0.848	
6		1	0.764	0.745	
		2	0.553	0.836	
7		1	0.863	0.883	
		2	0.870	0.854	
8		1	0.824	0.848	
		2	0.848	0.810	
<i>Serratia marcescens</i>		2	1	0,873	0,854
			2	0,774	0,755
	3	1	0,840	0,810	
		2	0,790	0,780	
	4	1	0,726	0,703	
		2	0,625	0,602	
	5	1	0,682	0,610	
		2	0,672	0,600	
	6	1	0,717	0,682	
		2	0,780	0,745	
	7	1	0,745	0,701	
		2	0,744	0,700	
	8	1	0,866	0,841	
		2	0,729	0,704	

Kepala Laboratorium
Teknologi Industri Pakan





Padang, Juni 2010

Kepada Yth:

Gustian Ilham (04162076)

Mhs Nutrisi dan Makanan Ternak

Fakultas Peternakan Unand Padang

Hasil Analisa Sampel No.109/ ALS / Faterna 2010

Sampel : Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*

Isolat	Suhu(°C) Optimum	Ulangan	Aktivitas Enzim Kitinase		
			Absorban Kontrol	Absorban Sampel	
6B	20	1	0.854	0.851	
		2	0.770	0.839	
	30	1	0.890	0.890	
		2	0.903	0.886	
	40	1	0.854	0.836	
		2	0.848	0.854	
	50	1	0.886	0.857	
		2	0.870	0.857	
	60	1	0.870	0.860	
		2	0.879	0.824	
	70	1	0.928	0.917	
		2	0.951	0.928	
	8B	20	1	0.854	0.830
			2	0.830	0.839
30		1	0.821	0.801	
		2	0.796	0.824	
40		1	0.900	0.801	
		2	0.783	0.824	
50		1	0.889	0.827	
		2	0.883	0.883	
60		1	0.824	0.883	
		2	0.870	0.839	
70		1	0.870	0.863	
		2	0.845	0.870	
<i>Serratia marcescens</i>		20	1	0,873	0,854
			2	0,774	0,755
	30	1	0,840	0,810	
		2	0,790	0,780	
	40	1	0,726	0,703	
		2	0,625	0,602	
	50	1	0,682	0,610	
		2	0,672	0,600	
	60	1	0,717	0,682	
		2	0,780	0,745	
	70	1	0,745	0,701	
		2	0,744	0,700	

Kepala Laboratorium

Teknologi Industri Pakan





LABORATORIUM TEKNOLOGI INDUSTRI PAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN UNIVERSITAS ANDALAS
Gedung Laboratorium I Ruang 43 C, Kampus limau manis Padang25163
Telp/Fax : 0751- 71464, pes.559.E-mail faterna@indosat.net.id

Padang, Juni 2010
Kepada Yth:
Gustian Iham (04162076)
Mhs Nutrisi dan Makanan Ternak
Fakultas Peternakan Unand Padang

Hasil Analisa Sampel No.100 / ALS / Faterna 2010

Sampel : Isolat 6B, 8B dan *Serratia marcescens*

Isolat	Suhu (°C) Stabilitas	Ulangan	Aktivitas Enzim Kitinase		
			Absorban Kontrol	Absorban Sampel	
6B	20	1	0.790	0.775	
		2	0.740	0.783	
	30	1	0.860	0.848	
		2	0.854	0.876	
	40	1	0.870	0.848	
		2	0.851	0.839	
	50	1	0.848	0.854	
		2	0.854	0.848	
	60	1	0.848	0.830	
		2	0.839	0.845	
	70	1	0.886	0.863	
		2	0.854	0.854	
	8B	20	1	0.775	0.770
			2	0.804	0.799
30		1	0.848	0.863	
		2	0.857	0.851	
40		1	0.879	0.860	
		2	0.854	0.854	
50		1	0.870	0.860	
		2	0.879	0.860	
60		1	0.863	0.900	
		2	0.810	0.879	
70		1	0.860	0.890	
		2	0.854	0.851	
<i>Serratia marcescens</i>		20	1	0,830	0,820
			2	0,850	0,830
	30	1	0,840	0,810	
		2	0,830	0,820	
	40	1	0,931	0,917	
		2	0,931	0,917	
	50	1	0,840	0,830	
		2	0,860	0,850	
	60	1	0,879	0,867	
		2	0,878	0,866	
	70	1	0,921	0,914	
		2	0,920	0,913	

Kepala Laboratorium
Teknologi Industri Pakan



Nuraini, MS
Nip. 1681 152