

## UJI AKTIVITAS KITIN DEASETILASE ISOLAT BAKTERI DARI KAWASAN GEOTERMAL DI ENG

**Ghaida Afra Akhsani<sup>1</sup>, Agung Suprihadi<sup>1</sup>, dan Sri Pujiyanto<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Jl. Prof. Soedarto, S.H, Tembalang, Semarang, 50275.

\*Koresponden Autor : spujiyanto@hotmail.com

### **Abstract**

Chitinolytic bacteria is a bacterium, which is able to degrade chitin. This ability is obtained from the resulted chitinolytic enzyme. Chitin deacetylase (EC 3.5.1.41) is one of the chitinolytic enzymes, which be able to convert chitin into its derivatives. For this reason, chitin deacetylase has a chance to be an environmentally enzymatic converter of chitin. In addition, chitin derivatives have a wider potential in many fields. The objectives of this study were to obtain bacterial isolates from the mud of Sikidang Crater in Dieng geothermal field that producing chitin deacetylase enzyme, and to determine its activity characteristic of (optimum time production, optimum pH, and effect of 1 mM divalent metal ions) from the resulted chitin deacetylase enzyme. This research used completely randomized design. The data were analyzed using One Way ANOVA and Tukey HSD test. The results showed that KSR HA 24 isolates were able to produce chitin deasetylase with optimum enzyme activity of 0.668 U / ml at 18 hours production time. Optimum activity of chitin deacetylase occurred at pH 5 of 0.75 U / ml. Chitin deacetylase activity with 1 mM addition of divalent metal ions produce activator metal ions, including  $Mg^{2+}$ , which increased the activity up to 154.43%,  $Fe^{2+}$  the activity up to 144.63%, and  $Cu^{2+}$  the activity up to 110.41%. Inhibitor metal ions, including  $Zn^{2+}$ , which decreased the activity to 93.77%, and  $Mn^{2+}$  the activity to 86.46%.

Keywords: *Chitinolytic, Chitin Deacetylase, Enzyme Activity, pH, Divalent Metal Ions*

### **Abstrak**

Bakteri kitinolitik merupakan bakteri yang mampu mendegradasi kitin. Kemampuannya dalam mendegradasi kitin diperoleh dari enzim kitinolitik yang dihasilkan. Kitin deasetilase (EC 3.5.1.41) adalah salah satu enzim kitinolitik yang mampu mengkonversi kitin menjadi turunannya. Hal ini menjadikan peluang kitin deasetilase sebagai pengkonversi kitin secara enzimatik yang ramah lingkungan. Turunan kitin memiliki potensi yang lebih luas di berbagai bidang. Tujuan penelitian adalah memperoleh isolat bakteri dari lumpur cair Kawah Sikidang kawasan geotermal Dieng yang mampu menghasilkan enzim kitin deasetilase, dan mengetahui karakter aktivitas (waktu produksi optimal, pH optimal, dan pengaruh 1 mM ion logam divalen) dari enzim kitin deasetilase yang dihasilkan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Data penelitian dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* dan uji lanjut *Tukey HSD*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat KSR HA 24 mampu menghasilkan kitin deasetilase dengan aktivitas enzim optimal sebesar 0,668 U/ml pada waktu produksi jam ke 18. Aktivitas kitin deasetilase optimal terjadi pada pH 5 sebesar 0,75 U/ml. Aktivitas kitin deasetilase dengan penambahan 1 mM ion logam divalen diperoleh ion logam yang bersifat aktivator meliputi  $Mg^{2+}$  meningkatkan aktivitas menjadi 154,43%,  $Fe^{2+}$  meningkatkan aktivitas menjadi 144,63%, dan

$\text{Cu}^{2+}$  meningkatkan aktivitas menjadi 110,41%. Ion logam yang bersifat inhibitor meliputi  $\text{Zn}^{2+}$  menurunkan aktivitas menjadi 93,77%, dan  $\text{Mn}^{2+}$  menurunkan aktivitas menjadi 86,46%.

Kata Kunci: *Kitinolitik, Kitin Deasetilase, Aktivitas Enzim, pH, Ion Logam Divalen*

## LATAR BELAKANG

Kitin adalah polimer karbohidrat yang kelimpahannya terbesar kedua di alam dan sebagai polisakarida penyusun komponen struktural dari arthropoda, coelenterata dan fungi (Nawani, *et al.*, 2002). Ketersediaan kitin dalam jumlah yang melimpah, kini dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Pemanfaatan biopolimer kitin tidak lepas dari penggunaan enzim untuk memperoleh turunan kitin. Enzim kitinolitik merupakan enzim yang dapat mendegradasi kitin menjadi monomer-monomer penyusunnya, antara lain kitinase dan kitin deasetilase. Menurut Setyahadi, *et al.* (2006), kitin deasetilase merupakan enzim yang dapat mengkatalisis konversi kitin menjadi kitosan dalam proses deasetilasi N-asetilglukosamin.

Kitin secara alami dapat didegradasi oleh mikroba pengurai, salah satunya oleh bakteri. Bakteri kitinolitik menarik untuk diteliti, sebab dari degradasi kitin dapat diperoleh turunan kitin yang lebih berpotensi, seperti kitosan. Menurut Herdyastuti, *et al.* (2009), selain sebagai agen biokontrol, senyawa turunan kitin juga banyak dimanfaatkan pada bidang kesehatan, industri, pangan, dan lain-lain. Saat ini, kitosan diproduksi dengan cara deasetilasi kitin secara termokimiawi. Strain bakteri dapat digunakan sebagai metode yang lebih baik dan ramah lingkungan dalam deasetilasi kitin secara enzimatik (Kaur, *et al.*, 2012).

Penelitian ini mengangkat potensi isolat bakteri kitinolitik penghasil enzim kitin deasetilase dari lumpur cair Kawah Sikidang kawasan geotermal Dieng, serta dilakukan uji aktivitas enzim kitin deasetilase yang dihasilkan dengan perlakuan pengaruh pH dan perlakuan penambahan 1 mM ion logam divalen. Menurut Wang, *et al.* (2010), pH optimal kitin deasetilase ditentukan pada kisaran pH tertentu dengan larutan buffer. Ion

logam secara alami dan pada konsentrasi tertentu dibutuhkan oleh makhluk hidup sebagai kofaktor proses metabolisme untuk membantu kerja enzim, dan dapat bertindak sebagai aktivator (meningkatkan aktivitas enzim), dapat pula bertindak sebagai inhibitor (menurunkan aktivitas enzim) (Soeka dan Triana, 2016).

## METODE PENELITIAN

### Alat dan bahan

Alat yang digunakan antara lain tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur, mikropipet, botol sampel, erlenmeyer, cawan petri, gelas beker, gelas ukur, corong gelas, *spreader*, batang pengaduk, jarum ose bulat, kaca benda, lampu spiritus, neraca analitik, *hot plate*, *magnetic stirrer*, autoklaf, oven, inkubator, *rotary shaker*, pH meter, sentrifus, spektrofotometer, mikroskop, serta vortek.

Bahan yang digunakan antara lain sampel lumpur cair Kawah Sikidang kawasan geotermal Dieng, koloidal kitin rajungan, ekstrak yeast,  $K_2HPO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , agar,  $(NH_4)_2SO_4$ , NaCl, pepton, pewarnaan gram,  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ,  $MnSO_4 \cdot H_2O$ ,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , glukosamin, potassium K tartrat, *dinitrosalicylic acid* (DNS), asam sitrat,  $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ ,  $NaH_2PO_4$ , glisin, NaOH, HCl, serta akuades.

### Cara Kerja

#### a. Isolasi dan seleksi bakteri

Bakteri kitinolitik diisolasi dari sampel lumpur cair Kawah Sikidang kawasan geotermal Dieng. Sampel dicawakan pada media agar kitin dan diinkubasi minimal 72 jam pada suhu ruang. Bakteri yang tumbuh diambil dan dibiakkan kembali pada media agar kitin hingga diperoleh biakan murni. Koloni-koloni yang tumbuh dan membentuk daerah halo (zona bening) di sekitarnya adalah isolat kitinolitik, selanjutnya dilakukan penyimpanan

dan pemeliharaan pada suhu 4°C (Pujiyanto, *et al.*, 2011).

#### b. Pengamatan morfologi bakteri

Pengamatan morfologi bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan Gram. Preparat pewarnaan Gram dari isolat bakteri terpilih diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran kuat (1000×).

#### c. Pembuatan starter dan produksi enzim

2 ose isolat bakteri terpilih diinokulasikan pada 50 ml media kultur bakteri (starter), diinkubasi 120 rpm dengan *rotary shaker* sampai mencapai nilai OD (*Optical Density*) 0,7 dengan 600 nm pada umur 9 jam inkubasi. Starter 5% dimasukkan ke dalam 150 ml media produksi/fermentasi, diinkubasi 120 rpm dengan *rotary shaker* selama 48 jam. Sampling dilakukan setiap 6 jam sekali.

#### d. Pengukuran aktivitas enzim kitin deasetilase

Uji aktivitas enzim kitin deasetilase dilakukan dengan metode Tokuyasu yang dimodifikasi dengan menggunakan substrat koloidal kitin rajungan. Hasil sampling produksi enzim disentrifugasi 4000 rpm 10 menit untuk memperoleh filtrat enzim kasar. Campuran 1:1:1 substrat koloidal kitin, buffer fosfat pH 7, dan filtrat enzim kasar diinkubasi 50°C 20 menit. 1 ml reagen DNS ditambahkan ke dalam campuran kemudian dipanaskan 100°C 10 menit. Kontrol untuk pengukuran aktivitas enzim digunakan campuran yang sama, namun filtrat enzim dipanaskan terlebih dahulu. Aktivitas enzim diukur secara kolorimetri pada 492 nm terhadap residu glukosamin yang dihasilkan. Satu unit aktivitas enzim kitin deasetilase dinyatakan sebagai jumlah enzim yang memproduksi 1 µmol residu glukosamin per menit.

Aktivitas enzim ditentukan dengan rumus (Pasaribu, 2006) :

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{(y-x) \times 1000 \times FP}{BM} \times \frac{1}{20}$$

Keterangan:

y = jumlah glukosamin pada perlakuan (mg)

x = jumlah glukosamin pada kontrol (mg)

1000 = konversi jumlah glukosamin dalam µgram

FP = faktor pengenceran

BM = berat molekul glukosamin

20 = masa inkubasi dalam menit

#### e. Uji aktivitas kitin deasetilase dengan pengaruh pH dan penambahan ion logam divalen

##### 1. Preparasi Filtrat Enzim Kasar (*Crude Enzyme*)

Hasil sampling dengan aktivitas enzim tertinggi digunakan untuk uji aktivitas perlakuan pengaruh pH dan perlakuan penambahan 1 mM ion logam divalen. Hasil sampling disentrifugasi 4000 rpm 10 menit. Uji aktivitas kitin deasetilase dilakukan pada kondisi pH berbeda untuk memperoleh pH optimal yang akan digunakan untuk uji aktivitas kitin deasetilase dengan penambahan ion logam.

##### 2. Penentuan Aktivitas Optimal Kitin Deasetilase dengan Pengaruh pH

Campuran 1:1:1 substrat koloidal kitin, buffer masing-masing pH, dan filtrat enzim kasar diinkubasi 50°C 20 menit. 1 ml reagen DNS ditambahkan ke dalam campuran kemudian dipanaskan 100°C 10 menit. Kontrol untuk pengukuran aktivitas enzim digunakan campuran yang sama namun filtrat enzim dipanaskan terlebih dahulu. Aktivitas enzim diukur secara kolorimetri pada 492 nm terhadap residu glukosamin yang dihasilkan. Nilai aktivitas enzim ditentukan dengan rumus, uji ini diperoleh nilai pH optimal dengan nilai aktivitas enzim kitin deasetilase tertinggi.

3. Aktivitas Kitin Deasetilase dengan Penambahan 1 mM Ion Logam Divalen

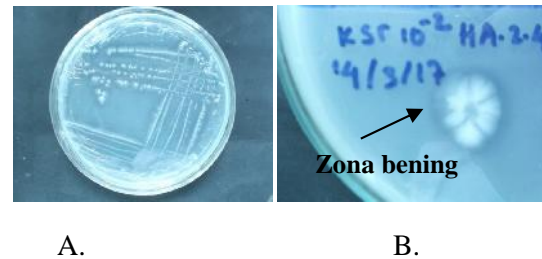
Campuran 1:1:1:1 substrat koloidal kitin, buffer sitrat fosfat pH 5, filtrat enzim kasar, dan ion logam 1 mM dalam bentuk hidratnya diinkubasi 50°C 20 menit. 1 ml reagen DNS ditambahkan ke dalam campuran kemudian dipanaskan 100°C 10 menit. Kontrol untuk pengukuran aktivitas enzim digunakan campuran yang sama namun filtrat enzim dipanaskan terlebih dahulu. Aktivitas enzim diukur secara kolorimetri pada 492 nm terhadap residu glukosamin yang dihasilkan. Nilai aktivitas enzim ditentukan dengan rumus, uji ini didapatkan berbagai ion logam yang berperan sebagai aktivator ataupun inhibitor.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

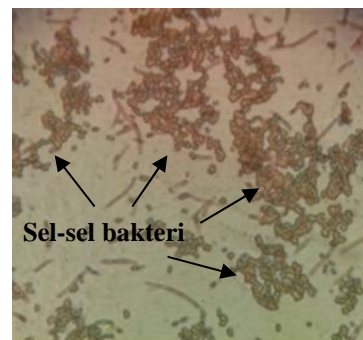
Isolasi bakteri penghasil kitin deasetilase dilakukan dengan mencawakan sampel lumpur cair dari Kawah Sikidang kawasan geotermal Dieng, Wonosobo, pada media agar kitin, dengan menggunakan koloidal kitin rajungan. Pertumbuhan koloni bakteri kitinolitik ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar koloni. Zona bening ini merupakan hasil aktivitas kitinolitik dari isolat bakteri tersebut. Menurut Suryadi, *et al.* (2014), rasio atau hasil bagi antara diameter zona bening dengan diameter koloni disebut sebagai aktivitas enzim secara nisbi atau disebut pula indeks kitinolitik.

Isolat terpilih dari tahap isolasi yaitu KSR HA 24. Isolat ini terpilih berdasarkan kemampuannya menghasilkan zona bening lebih cepat dan kualitas yang lebih baik dibanding isolat lain. Indeks kitinolitik dilakukan dengan menotolkan isolat pada media agar kitin dengan waktu pengamatan 72 jam (3 hari). KSR HA 24

menjadi satu-satunya isolat yang memiliki nilai indeks kitinolitik dalam rentang waktu tersebut. Morfologi koloni isolat KSR HA 24 menunjukkan warna putih susu pada permukaan koloni, berukuran *moderate* (sedang), berbentuk *irregular* dan tepian *undulate/wavy*, elevasi permukaan *flat*, tekstur permukaan licin mengkilap, serta memiliki kemampuan dalam mendegradasi kitin (Gambar 1).



Gambar 1. Koloni isolat KSR HA 24 pada media agar kitin: A. Hasil purifikasi ketiga. B. Hasil total indeks kitinolitik.

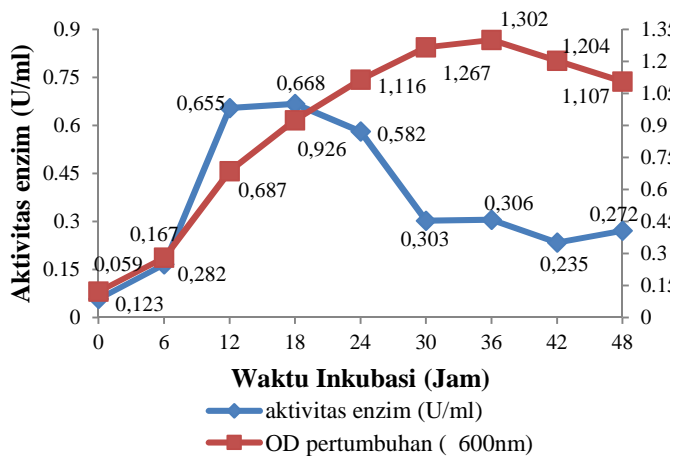


Gambar 2. Morfologi sel isolat KSR HA 24 dengan pewarnaan Gram (1000×).

Pengamatan morfologi di bawah mikroskop dilakukan dengan metode pewarnaan Gram. Gambar 2 memperlihatkan hasil pewarnaan Gram dari preparat isolat KSR HA 24. Hasil pengamatan terhadap preparat tersebut menunjukkan sel yang berbentuk basil dan berwarna merah, hal ini menunjukkan isolat bakteri tersebut ke dalam golongan bakteri Gram negatif. Menurut Fitri & Yasmin (2011), perbedaan warna pada bakteri Gram positif dan Gram negatif menunjukkan adanya perbedaan struktur dinding sel antara keduanya, bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel

dengan kandungan peptidoglikan yang tebal, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi.

Kurva pertumbuhan menunjukkan pertambahan sel yang terjadi selama waktu inkubasi tertentu, serta enzim kitin deasetilase yang dihasilkan ditunjukkan oleh nilai aktivitas enzim (U/ml). Menurut Pasaribu (2006), satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah kitin deasetilase yang dapat membebaskan 1 $\mu$ mol residu glukosamin per menit. Aktivitas kitin deasetilase diukur menggunakan metode Tokuyasu yang dimodifikasi dengan substrat koloidal kitin rajungan, prinsipnya adalah mengukur glukosamin sebagai produk hasil degradasi kitin oleh kitin deasetilase setelah inkubasi dengan waktu tertentu (Pasaribu, 2006). Gambar 3 menunjukkan kurva pertumbuhan dan aktivitas enzim kitin deasetilase.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan dan aktivitas kitin deasetilase isolat KSR HA 24 selama 48 jam inkubasi.

Jam ke-0 menunjukkan nilai pertumbuhan paling rendah, pada jam ini kitin deasetilase mulai dihasilkan namun dengan nilai aktivitas paling rendah pula yaitu 0,059 U/ml. Aktivitas enzim mengalami peningkatan tajam dari jam ke-6 menuju jam ke-12 dan mencapai puncaknya pada jam ke-18 yaitu sebesar 0,668 U/ml. Hasil ini seperti pada

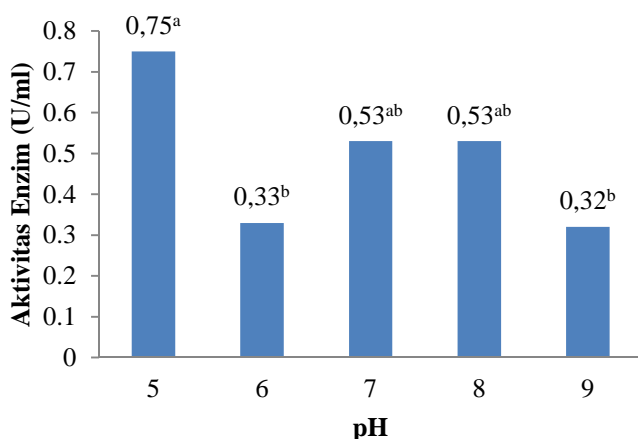
penelitian Hendarsyah (2006) yaitu isolat *Bacillus* sp. PT2-3 yang memiliki aktivitas ekstrak enzim kasar optimal pada jam ke-18 dengan waktu inkubasi 48 jam. Hasil sampling enzim pada jam ke-18 ini digunakan untuk diuji aktivitasnya dengan perlakuan pH untuk memperoleh pH optimal, dan dilanjutkan uji aktivitas dengan perlakuan penambahan 1 mM ion logam divalen.

Menurut Orinda, *et al.* (2015), degradasi kitin oleh enzim ekstraseluler mengikuti pola pertumbuhan, hal ini dikarenakan bakteri kitinolitik mensintesis kitinase untuk mendegradasi kitin sebagai sumber nutrisi untuk pembelahan sel. Namun hasil penelitian yang menunjukkan penurunan aktivitas kitinase saat kurva pertumbuhan masih menunjukkan fase log, dapat disebabkan oleh adanya enzim selain kitinase yang menghidrolisis kitin menjadi sumber nutrisi, dimana koloidal kitin juga dapat dihidrolisis oleh kitin deasetilase yang menghasilkan kitosan dan kitosanase yang menghasilkan kitobiosa (Fukamizo dalam Orinda *et al.*, 2015). Lebih lanjut, Orinda, *et al.* (2015) menyatakan bahwa kitin deasetilase diproduksi setelah aktivitas kitinase menurun dan tidak mengikuti pola kurva pertumbuhan, dengan kata lain diproduksi ketika kurva pertumbuhan mencapai akhir fase log/eksponensial.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kitin deasetilase diproduksi lebih awal dan optimal pada jam ke-18. Aktivitas mulai menurun setelah jam ke-18 pada saat kurva pertumbuhan masih menunjukkan fase log/eksponensial. Hal ini dimungkinkan karena adanya enzim selain kitin deasetilase seperti yang telah disebutkan yaitu enzim kitosanase yang menghasilkan kitobiosa sehingga kurva pertumbuhan masih menunjukkan fase log/eksponensial, dan dapat pula disebabkan karena adanya asam asetat yang terbentuk oleh aktivitas kitin deasetilase selain glukosamin. Menurut Chandra (2006), pembebasan asam asetat

oleh aktivitas kitin deasetilase akan menumpuk di dalam media dan dapat menyebabkan penurunan pH media. pH media yang tidak sesuai seperti saat awal (pH 7), akan mempengaruhi sintesis kitin deasetilase yang ditandai dengan adanya penurunan nilai aktivitas enzim tersebut.

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satu faktor tersebut adalah derajat keasaman atau pH. Menurut Hendarsyah (2006), peningkatan aktivitas enzim pada pH optimalnya dapat dihubungkan dengan perubahan ionisasi dalam gugus-gugus ionik enzim pada tapak aktif sehingga enzim akan lebih efektif membentuk produk, karena enzim merupakan protein yang tersusun dari asam-asam amino yang dapat mengadakan ionisasi pada gugus amino, karboksil, atau gugus fungsional lainnya.

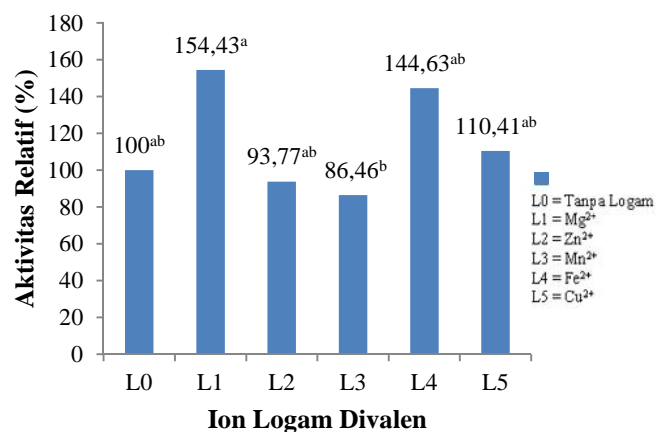


Gambar 4. Aktivitas kitin deasetilase isolat KSR HA 24 pada berbagai pH.

Variasi pH yang diberikan pada uji aktivitas kitin deasetilase isolat KSR HA 24 menunjukkan aktivitas optimal pada pH 5 dengan aktivitas sebesar 0,75 U/ml (Gambar 4). Hasil pH 5 sebagai pH optimal sama dengan isolat L-17 (Subianto dalam Hendarsyah, 2006) dan isolat K-22 (Natsir, 2000). Hasil pH 5 sebagai pH optimal kitin deasetilase isolat KSR HA 24 dimungkinkan karena kitin deasetilase memiliki sifat tahan asam. Menurut Natsir (2000), kitin deasetilase isolat K-22 lebih tahan asam dibandingkan kitinase karena

produk kitin deasetilase yaitu kitosan dapat larut dalam suasana asam, selain itu, dimungkinkan karena enzim ini memiliki residu asam amino pada sisi aktifnya, yaitu asam amino glutamat dan aspartat.

Beberapa enzim membutuhkan ion logam sebagai kofaktor untuk mendukung efisiensi katalitik enzim. Beberapa logam dapat mengikat enzim secara langsung untuk menstabilkan konformasi aktifnya atau menginduksi sisi aktif suatu enzim (Baehaki, *et al.*, 2008). Sedangkan penghambatan ion logam pada konsentrasi tertentu berkaitan dengan kekuatan ion yang mempengaruhi konformasi atau struktur tiga dimensi dari protein enzim atau protein substrat (Suhartono dalam Baehaki *et al.*, 2008).



Gambar 5. Aktivitas kitin deasetilase isolat KSR HA 24 dengan penambahan 1mM ion logam divalen.

Hasil uji aktivitas kitin deasetilase isolat KSR HA 24 dengan penambahan 1 mM ion logam divalen tersaji dalam diagram aktivitas relatif (%) (Gambar 5). Perlakuan L<sub>0</sub> yaitu perlakuan tanpa penambahan ion logam, aktivitas relatifnya bernilai 100%. Oleh karena itu, dari uji ini diperoleh ion logam yang bersifat aktivator (bernilai lebih dari 100%) dan inhibitor (bernilai kurang dari 100%).

Ion logam yang diperoleh sebagai aktivator meliputi Mg<sup>2+</sup> menaikkan aktivitas relatif menjadi 154,43%, Fe<sup>2+</sup> menaikkan aktivitas relatif menjadi

144,63%, dan  $\text{Cu}^{2+}$  menaikkan aktivitas relatif menjadi 110,41%. Ion logam  $\text{Mg}^{2+}$  sebagai aktivator aktivitas kitin deasetilase juga ditemukan pada *Absidia corymbifera* DY-9 dengan konsentrasi 1-10 mM (Zhao, *et al.*, 2010b). Sedangkan ion logam yang diperoleh sebagai inhibitor meliputi  $\text{Zn}^{2+}$  menurunkan aktivitas relatif menjadi 93,77%, dan  $\text{Mn}^{2+}$  menurunkan aktivitas relatif menjadi 86,46%. Ion logam  $\text{Zn}^{2+}$  dan  $\text{Mn}^{2+}$  sebagai inhibitor juga ditemukan pada *Aspergillus nidulans* (Wang, *et al.*, 2010), dan inhibitor bagi *Bacillus thermoleovorans* LW-4-11 (Toharisman and Suhartono, 2008).

Ion logam bertindak sebagai aktivator atau inhibitor dipengaruhi oleh konsentrasi logam yang diberikan dan menyesuaikan karakter enzim tersebut. Konsentrasi logam sangat berpengaruh, seperti pada beberapa penelitian bahwa logam yang sama mampu menjadi aktivator dan inhibitor pada konsentrasi yang berbeda. Menurut Zhao, *et al.* (2010a), ion logam seperti  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  atau EDTA dapat bertindak sebagai aktivator atau inhibitor bagi kitin deasetilase tergantung pada konsentrasinya, perbedaan sumber kitin deasetilase dan berbagai konsentrasi ion logam dapat menjadi faktor adanya respon berbeda, serta pengaruh ion logam divalen pada proses katalisis juga tergantung pada substrat yang digunakan. Apabila konsentrasi logam di atas atau di bawah konsentrasi optimum maka kesetimbangan dan potensial elektrokinetik tidak mencapai atau melebihi daerah yang diinginkan, sehingga menyebabkan proses aktivasi tidak optimal bahkan dapat menghambat enzim yang berakibat pada penurunan aktivitas (Hendarsyah, 2006).

## KESIMPULAN

Enzim kitin deasetilase dapat dihasilkan oleh isolat bakteri KSR HA 24 yang diisolasi dari lumpur cair Kawah Sikidang, kawasan geotermal Dieng, dengan media agar kitin. Aktivitas enzim kitin deasetilase yang dihasilkan isolat

bakteri KSR HA 24 memiliki aktivitas enzim optimal pada waktu produksi jam ke 18. Aktivitas enzim optimal terjadi pada pH 5. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh penambahan 1 mM ion logam divalen, dengan diperoleh logam yang bersifat aktivator meliputi  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , dan  $\text{Cu}^{2+}$ , serta logam yang bersifat inhibitor meliputi  $\text{Zn}^{2+}$ , dan  $\text{Mn}^{2+}$ .

## DAFTAR PUSTAKA

1. Baehaki, A., M.T. Suhartono, N. S. Palupi, dan T. Nurhayati. 2008. Purifikasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Patogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal. Teknol. dan Industri Pangan*. XIX (1) : 80-87.
2. Chandra, Z. 2006. Produksi dan Karakterisasi Kitin Deasetilase pada Bakteri yang Diisolasi dari Air Laut. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang.
3. Fitri, L., dan Y. Yasmin. 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi*. 3 (2) : 20-25.
4. Hendarsyah, D. 2006. Karakterisasi Kitin Deasetilase Termotabil Isolat Bakteri Asal Pancuran Tujuh, Baturaden, Jawa Tengah. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.
5. Herdyastuti, N., T.J. Raharjo, Mudasir, dan S. Matsjeh. 2009. Kitinase dan Mikroorganisme Kitinolitik: Isolasi, Karakterisasi dan Manfaatnya. *Indo. J. Chem*. 9 (1) : 37-47.
6. Kaur, K., V. Dattajirao, V. Shrivastava, and U. Bhardwaj. 2012. Isolation and Characterization of Chitosan-producing Bacteria from Beaches of



- Chennai, India. *Enzyme Research*. 2012 : 1-6.
7. Natsir, H. 2000. Karakterisasi dan Purifikasi Enzim Pendegradasi Kitin dari Mikroba Asidofilik Asal Kawah Kamojang. *Tesis*. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
  8. Nawani, N.N., B.P. Kapadnis, A.D. Das, A.S. Rao and S.K. Mahajan. 2002. Purification and Characterization of a Thermophilic and Acidophilic Chitinase from *Microbispora* sp. V2. *J. Appl. Microbiol.* 93 : 965-975.
  9. Orinda, E., Indun D. Puspita, M.P. Putra, Ustadi, Iwan Y. B. Lelana. 2015 Aktivitas Enzim Pendegradasi Kitin dari Isolat SDI23 Asal Petis serta Karakterisasi pH dan Suhu Aktivitas Enzim Hasil Purifikasi Parsial. *J. Fish. Sci.* XVII (2) : 96-102.
  10. Pasaribu, N.A. 2006. Karakterisasi Enzim Kitin Deasetilase Bakteri yang Diisolasi dari Limbah Kulit Udang. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang.
  11. Pujiyanto, S., R.S. Ferniah, dan R. Rahadian. 2011. Aktivitas Bakteri Kitinolitik Akuatik Isolat Lokal terhadap Perkembangan dan Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes Aegypti* L. *Jurnal Sains dan Matematika*. 19 (2) : 54-59.
  12. Setyahadi, S., T.K. Bunasor, dan D. Hendarsyah. 2006. Karakterisasi Kitin Deasetilase Termotabil Isolat Bakteri Asal Pancuran Tujuh, Baturaden, Jawa Tengah. *Jurnal Teknol. dan Industri Pangan*. VII : 44-49.
  13. Soeka, Y.S., dan E. Triana. 2016. Pemanfaatan Limbah Kulit Udang untuk Menghasilkan Enzim Kitinase dari *Streptomyces macrosporeus* InaCC A454. *Indones. J. App. Chem.* 18 (1) : 91-101.
  14. Suryadi, Y., TP. Priyatno, IM. Samudra, DN. Susilowati, P. Lestari, Sutoro. 2014. Seleksi Bakteri Endofit Penghasil Kitinase Sebagai Agen Biokontrol Fungi Patogen *Rhizoctonia solani* dan *Pyricularia oryzae* pada Tanaman Padi. *Prosiding Seminar Nasional BKS PTN Barat, Bandar Lampung*. Halaman 83.
  15. Toharisman, A. and M.T. Suhartono. 2008. Partial Purification and Characterization of Chitin Deacetylase Produced by *Bacillus thermoleovorans* LW-4-11. *Scientific Repository*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
  16. Wang Y., Song J.Z., Yang Q., Liu Z.H., Huang X.M., Chen Y. 2010. Cloning of a Heat-stable Chitin Deacetylase Gene from *Aspergillus nidulans* and Its Functional Expression in *Escherichia coli*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 162 : 843-854.
  17. Zhao, Y., R.-D. Park, and R.A.A. Muzzarelli. 2010a. Chitin Deacetylases: Properties and Applications. *Mar. Drugs*. 8 : 24-46.
  18. Zhao, Y., Y.J. Kim, K.T. Oh, V.N. Nguyen, and R.D. Park. 2010b. Production and Characterization of Extracellular Chitin Deacetylase from *Absidia corymbifera* DY-9. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 53 (2) : 119-126.

