

LEMBAR
HASIL PENILAIAN SEJAWAT SEBIDANG ATAU PEER REVIEW
KARYA ILMIAH : JURNAL ILMIAH

Judul Jurnal Ilmiah (Artikel) : Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (Lepidoptera)

Jumlah Penulis : 3 orang

Status Pengusul : Penulis Anggota

Identitas Jurnal Ilmiah :

- a. Nama Jurnal : Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi
- b. Nomor ISSN : 1410-8917
- c. Vol, No., Bln Thn : vol. 16, no. 3, pp. 97-101, Dec. 2013
- d. Penerbit : Kimia FSM Undip
- e. DOI artikel (jika ada) : <https://doi.org/10.14710/jksa.16.3.97-101>
- f. Alamat web jurnal : <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18119>

Alamat Artikel : <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18119/12743>

Url Turnitin: (9%)
<https://doc-pak.undip.ac.id/3033/16/Turmitin16.pdf>

- g. Terindex : Jurnal Nasional Tidak Terakreditasi

Kategori Publikasi Jurnal Ilmiah : Jurnal Ilmiah Internasional
 (beri ✓ pada kategori yang tepat) Jurnal Ilmiah Nasional Terakreditasi
 Jurnal Ilmiah Nasional Tidak Terakreditasi

Hasil Penilaian *Peer Review* :

Komponen Yang Dinilai	Nilai Maksimal Jurnal Ilmiah			Nilai Akhir Yang Diperoleh
	Internasional <input type="checkbox"/>	Nasional Terakreditasi <input type="checkbox"/>	Nasional Tidak Terakreditasi <input checked="" type="checkbox"/>	
a. Kelengkapan unsur isi jurnal (10%)			1	1
b. Ruang lingkup dan kedalaman pembahasan (30%)			3	2,8
c. Kecukupan dan kemutakhiran data/informasi dan metodologi (30%)			3	2,2
d. Kelengkapan unsur dan kualitas terbitan/jurnal (30%)			3	3
Total = (100%)			10,00	9,0
Penulis Anggota: $(0,4 \times 9) / 2 = 1,8$				

Catatan Penilaian artikel oleh Reviewer :

- 1. Kesesuaian dan kelengkapan unsur isi jurnal:**
Lengkap dan sesuai dengan unsur isi jurnal. Nilai 1
- 2. Ruang lingkup dan kedalaman pembahasan:**
Pembahasan diulas dengan baik. Metodologi detil diulas, sehingga mudah untuk diulang oleh penelitian lain. Nilai 2,8
- 3. Kecukupan dan kemutakhiran data/informasi dan metodologi:**
Kemutakhiran informasi cukup memadai, meski dengan referensi terbatas dan kebanyakan berbahasa Indonesia. Metodologi detil diulas, sehingga mudah untuk diulang oleh penelitian lain. Nilai 2,2
- 4. Kelengkapan unsur dan kualitas terbitan:**
Lengkap, kualitas terbitan baik. Nilai 3

Semarang, 26 Maret 2020
 Reviewer 1



Dr. Bambang Cahyono
 NIP. 196303161988101001
 Unit Kerja : Departemen Kimia FSM UNDIP

**LEMBAR
HASIL PENILAIAN SEJAWAT SEBIDANG ATAU PEER REVIEW
KARYA ILMIAH : JURNAL ILMIAH**

Judul Jurnal Ilmiah (Artikel) : Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (Lepidoptera)

Jumlah Penulis : 3 orang

Status Pengusul : Penulis Anggota

Identitas Jurnal Ilmiah : a. Nama Jurnal : Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi
 b. Nomor ISSN : 1410-8917
 c. Vol, No., Bln Thn : vol. 16, no. 3, pp. 97-101, Dec. 2013
 d. Penerbit : Kimia FSM Undip
 e. DOI artikel (jika ada) : <https://doi.org/10.14710/jksa.16.3.97-101>
 f. Alamat web jurnal : <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18119>
 Alamat Artikel : <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18119/12743>
 Url Turnitin: (9%)
<https://doc-pak.undip.ac.id/3033/16/Turmitin16.pdf>
 g. Terindex : Jurnal Nasional Tidak Terakreditasi

Kategori Publikasi Jurnal Ilmiah : Jurnal Ilmiah Internasional
 (beri ✓ pada kategori yang tepat) Jurnal Ilmiah Nasional Terakreditasi
 Jurnal Ilmiah Nasional Tidak Terakreditasi

Hasil Penilaian *Peer Review* :

Komponen Yang Dinilai	Nilai Maksimal Jurnal Ilmiah			Nilai Akhir Yang Diperoleh
	Internasional	Nasional Terakreditasi	Nasional Tidak Terakreditasi	
a. Kelengkapan unsur isi jurnal (10%)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	1
b. Ruang lingkup dan kedalaman pembahasan (30%)			3	3
c. Kecukupan dan kemutakhiran data/informasi dan metodologi (30%)			3	3
d. Kelengkapan unsur dan kualitas terbitan/jurnal (30%)			3	1
Total = (100%)			10,00	8
Penulis Anggota: (0,4x8)/2 = 1,6				

Catatan Penilaian artikel oleh Reviewer :

- Kesesuaian dan kelengkapan unsur isi jurnal:**
Unsur jurnal lengkap dan sesuai mencakup pendahuluan, metode, hasil dan pembahasan serta kesimpulan. Nilai 1
- Ruang lingkup dan kedalaman pembahasan:**
Ruang lingkup artikel ini adalah kitinase dari isolate jamur akuatik kitinolitik dari kupu-kupu yang dilakukan isolasi dan karakterisasi dengan keterbaruan yang tinggi. Pembahasan diulas dengan runtut disertai literatur pendukung. Nilai 3
- Kecukupan dan kemutakhiran data/informasi dan metodologi:**
Referensi cukup dan kemutakhiran data-data didukung dengan literatur yang terbaru. Metodologi diulas secara detail sehingga mudah diulang oleh peneliti lain. Nilai 3
- Kelengkapan unsur dan kualitas terbitan:**
Kualitas terbitan, ada literatur tanpa tahun (3 literatur), kelengkapan unsur terbitan memadai. Nilai 1

Semarang, 17 Maret 2020

Reviewer 2



Drs. Gunawan, M.Si, Ph.D

NIP.196408251991031001

Unit Kerja : Departemen Kimia FSM UNDIP

**LEMBAR
HASIL PENILAIAN SEJAWAT SEBIDANG ATAU PEER REVIEW
KARYA ILMIAH : JURNAL ILMIAH**

Judul Jurnal Ilmiah (Artikel) : Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (Lepidoptera)

Jumlah Penulis : 3 orang

Status Pengusul : Penulis Anggota

Identitas Jurnal Ilmiah :

- a. Nama Jurnal : Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi
- b. Nomor ISSN : 1410-8917
- c. Vol, No., Bln Thn : vol. 16, no. 3, pp. 97-101, Dec. 2013
- d. Penerbit : Kimia FSM Undip
- e. DOI artikel (jika ada) : <https://doi.org/10.14710/jksa.16.3.97-101>
- f. Alamat web jurnal : <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18119>

Alamat Artikel : <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18119/12743>

Url Turnitin: (9%)
<https://doc-pak.undip.ac.id/3033/16/Turnitin16.pdf>

- g. Terindex : Jurnal Nasional Tidak Terakreditasi

Kategori Publikasi Jurnal Ilmiah : Jurnal Ilmiah Internasional
(beri ✓ pada kategori yang tepat) Jurnal Ilmiah Nasional Terakreditasi
 Jurnal Ilmiah Nasional Tidak Terakreditasi

Hasil Penilaian *Peer Review* :

Komponen Yang Dinilai	Nilai Reviewer		Nilai Rata-rata
	Reviewer I	Reviewer II	
a. Kelengkapan unsur isi jurnal (10%)	1	1	1
b. Ruang lingkup dan kedalaman pembahasan (30%)	2,8	3	2,9
c. Kecukupan dan kemutakhiran data/informasi dan metodologi (30%)	2,2	3	2,6
d. Kelengkapan unsur dan kualitas terbitan/jurnal (30%)	3	1	2
Total = (100%)	9,0	8	8,5
Penulis Anggota (rata-rata): $(0,4 \times 8,5) / 2 = 1,7$			

Semarang, 26 Maret 2020

Reviewer 2



Drs. Gunawan, M.Si, Ph.D
NIP.196408251991031001
Unit Kerja : Departemen Kimia FSM UNDIP

Reviewer 1



Dr. Bambang Cahyono, MS
NIP. 196303161988101001
Unit Kerja : Departemen Kimia FSM UNDIP

ISSN 1410-8917

JURNAL KIMIA SAINS DAN APLIKASI

VOL. XVI, No. 3, Desember 2013

DITERBITKAN OLEH

**JURUSAN KIMIA FMIPA
UNDIP SEMARANG**

JKSA	VOL	NO	HALAMAN	SEMARANG	ISSN
	XVI	3	69 - 107	Desember 2013	1410-8917



(<http://icics2020.unram.ac.id/>)

Journal Content

Search

Search Scope

All

Browse

- [By Issue \(https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/issue/archive\)](https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/issue/archive)
- [By Author \(https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/search/authors\)](https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/search/authors)
- [By Title \(https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/search/titles\)](https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/search/titles)
- [Other Journals \(https://ejournal.undip.ac.id/index.php/index/search\)](https://ejournal.undip.ac.id/index.php/index/search)
- [Categories \(https://ejournal.undip.ac.id/index.php/index/search/categories\)](https://ejournal.undip.ac.id/index.php/index/search/categories)

[Home \(https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/index/\)](https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/index/) / [Archives \(https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/issue/archive\)](https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/issue/archive)

/ [Vol 16, No 3 \(2013\) \(https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/issue/view/2145\)](https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/issue/view/2145)

Vol 16, No 3 (2013): Volume 16 Issue 3 Year 2013



(<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/issue/view/2145/showToc>)

Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi (ISSN 1410-8917)

Volume 16 Issue 3 Year 2013

December 2013


Table of Contents

Research Articles


Isolasi Senyawa Antioksidan dari Fraksi Etil Asetat Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L)
(<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18113>)

(<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18113/12738>)

PDF

 Buyung Rukmantara Susena Putra, Dewi Kusriani, Enny Fachriyah

69-72


 Views: **1181** (#)

 Citations: **2**

(<https://badge.dimensions.ai/details/doi/10.14710/jksa.16.3.69-72?domain=https://ejournal.undip.ac.id>)

| Language: **ID** (#) | DOI: **10.14710/jksa.16.3.69-72**

(<https://doi.org/10.14710/jksa.16.3.69-72>)

 Published: 1 Dec 2013.


Kinetika Adsorpsi Anion Nitrat dan Fosfat pada Zeolit Alam Termodifikasi Surfaktan Hexadesiltrimetilammonium Klorida
(<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18114>)


(<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18114/12739>)

PDF

73-78

 Fahmi Syafaat, Ahmad Suseno, Arnelli Arnelli


 Views: **494** (#)

 Citations: **0**

(<https://badge.dimensions.ai/details/doi/10.14710/jksa.16.3.73-78?domain=https://ejournal.undip.ac.id>)

| Language: **ID** (#) | DOI: **10.14710/jksa.16.3.73-78**

(<https://doi.org/10.14710/jksa.16.3.73-78>)

 Published: 1 Dec 2013.


Pengaruh Konsentrasi Surfaktan CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) pada Modifikasi Lempung dengan Oksida Besi sebagai Pemilar
(<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18116>)


(<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18116/12740>)

PDF

79-83

 Irine Ayu Febiyanti, Ahmad Suseno, Priyono Priyono


 Views: **587** (#)

 Citations: **0**

(<https://badge.dimensions.ai/details/doi/10.14710/jksa.16.3.79-83?domain=https://ejournal.undip.ac.id>)

| Language: **ID** (#) | DOI: **10.14710/jksa.16.3.79-83**

(<https://doi.org/10.14710/jksa.16.3.79-83>)


 Published: 1 Dec 2013.


Pengaruh Tipe Pembakaran terhadap Kualitas Genteng Berglasir Serbuk Kaca/TiO₂ serta Penentuan Kemampuan Fotokatalisisnya
(<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18117>)


(<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18117/12741>)

PDF

84-89

 Linda Selvianingrum, Sriatun Sriatun, Adi Darmawan


 Views: **270** (#)

 Citations: **0**

(<https://badge.dimensions.ai/details/doi/10.14710/jksa.16.3.84-89?domain=https://ejournal.undip.ac.id>)

| Language: **ID** (#) | DOI: **10.14710/jksa.16.3.84-89**

(<https://doi.org/10.14710/jksa.16.3.84-89>)

 Published: 1 Dec 2013.


Pengaruh Pasta ZnO dengan Penambahan Dish Detergent dan PVA pada Kaca Konduktif terhadap Efisiensi Dye Sensitized Solar Cell dari Ekstrak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.)
(<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18118>)

(<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/18118/12742>)

PDF

90-96

 Sri Handayani, Gunawan Gunawan, Abdul Haris


 Views: **238** (#)

 Citations: **1**

(<https://badge.dimensions.ai/details/doi/10.14710/jksa.16.3.90-96?domain=https://ejournal.undip.ac.id>)

| Language: **ID** (#) | DOI: **10.14710/jksa.16.3.90-96**

(<https://doi.org/10.14710/jksa.16.3.90-96>)

 Published: 1 Dec 2013.

People > [Editorial Team \(https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/about/editorialTeam\)](https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/about/editorialTeam) | [Peer Reviewers \(https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/about/displayMembership/422/1\)](https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/about/displayMembership/422/1)

Editorial Team

Editor in Chief



Dr. Adi Darmawan (ScopusID: [55953897600](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55953897600) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55953897600>))
[ID](http://orcid.org/0000-0001-5744-5789) (<http://orcid.org/0000-0001-5744-5789>). Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University Jl. Prof. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang, Indonesia

Associate editors



Dr. Amin Fatoni (ScopusID: [55488648900](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55488648900) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55488648900>))
[ID](http://orcid.org/0000-0002-6550-2461) (<http://orcid.org/0000-0002-6550-2461>). Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia



Dr. Choiril Azmiyawati (ScopusID: [55543514300](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55543514300) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55543514300>))
[ID](http://orcid.org/0000-0002-4143-9832) (<http://orcid.org/0000-0002-4143-9832>). Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University Jl. Prof. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang, Indonesia



Didik Setiyo Widodo (ScopusID: [57195404137](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57195404137) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57195404137>))
[ID](http://orcid.org/0000-0001-8411-9700) (<http://orcid.org/0000-0001-8411-9700>). Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University Jl. Prof. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang, Indonesia



Dr. Fitria Rahmawati (ScopusID: [36053591500](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=36053591500) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=36053591500>))
[ID](http://orcid.org/0000-0002-3145-9063) (<http://orcid.org/0000-0002-3145-9063>). Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sebelas Maret University, Indonesia



Dr. Gaurav A Bhaduri (ScopusID: [28367493600](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=28367493600) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=28367493600>))
[ID](http://orcid.org/0000-0002-7714-8877) (<http://orcid.org/0000-0002-7714-8877>). Indian Institute of Technology Jammu (IIT JMU), India



Dr. Guozhao Ji (ScopusID: [55262553900](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55262553900) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55262553900>))
 School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology Dalian, Liaoning, China



Dr. Ibrahim A. I. Hassan (ScopusID: [55652057500](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55652057500) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55652057500>))
 Department of Chemistry, South Valley University Qena, Egypt, Egypt



Dr. Ismiyarto Ismiyarto (ScopusID: [56955654800](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56955654800) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56955654800>))
[ID](http://orcid.org/0000-0002-3939-3433) (<http://orcid.org/0000-0002-3939-3433>). Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University Jl. Prof. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang, Indonesia



Dr. Mukhammad Asy'ari (ScopusID: [56117266100](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56117266100) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56117266100>))
[ID](http://orcid.org/0000-0002-3489-1644) (<http://orcid.org/0000-0002-3489-1644>). Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University Jl. Prof. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang, Indonesia



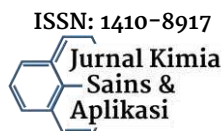
Dr. Mus'ab Abdul Razak (ScopusID: [38961852200](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=38961852200) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=38961852200>))
[ID](http://orcid.org/0000-0001-5120-1345) (<http://orcid.org/0000-0001-5120-1345>). Department of Chemical and Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Universiti Putra Malaysia, Malaysia



Dr. Nor Basid Adiwibawa Prasetya (ScopusID: [56574376400](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56574376400) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56574376400>))
[ID](http://orcid.org/0000-0002-6956-3667) (<http://orcid.org/0000-0002-6956-3667>). Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University Jl. Prof. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang, Indonesia



Dr. Yayuk Astuti (ScopusID: [57100033100](http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57100033100) (<http://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57100033100>))
[ID](http://orcid.org/0000-0002-2107-3829) (<http://orcid.org/0000-0002-2107-3829>). Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University Jl. Prof. Soedarto, SH., Tembalang, Semarang, Indonesia



Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (*Lepidoptera*)

Reny Ingemer Selvia^a, Wuryanti^{a*}, Sriatun^a

^a Biochemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

* Corresponding author: wuryanti@live.undip.ac.id

Article Info	Abstract
<p>Keywords: chitinase, chitinolytic aquatic fungi, Ueda Arai, Lowry</p>	<p>Research on the isolation and characterization of chitinase from the chitinolytic aquatic fungi isolate derived from butterfly (<i>Lepidoptera</i>) has been done. This study aimed to obtain chitinase from chitinolytic aquatic fungi isolate derived from butterfly (<i>Lepidoptera</i>), data of the chitinase specific activity and chitinase optimum conditions include pH and temperature. Chitinase activity assays in this study performed with the method of Ueda Arai, while the protein concentration measurements performed with Lowry method. The specific activity in this study was obtained from the ratio between units of chitinase activity by protein content. The highest specific activity of chitinase in this study is shown by the fraction 3 is 51.17 units/mg protein. The results from the characterization of chitinase shows that pH 3.8 and a temperature of 40.5°C is the optimum condition of chitinase.</p>
<p>Kata Kunci: kitinase, jamur akuatik kitinolitik, Ueda Arai, Lowry</p>	<p>Abstrak</p> <p>Telah dilakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi kitinase dari isolat jamur akuatik kitinolitik berasal dari kupu-kupu (<i>Lepidoptera</i>). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kitinase dan data aktivitas spesifik kitinase dari isolat jamur akuatik kitinolitik yang berasal dari kupu-kupu serta memperoleh data kondisi optimum kitinase meliputi pH dan suhu. Pengujian aktivitas kitinase pada penelitian ini dilakukan dengan metode Ueda Arai, sedangkan pengukuran kadar protein dilakukan dengan metode Lowry. Aktivitas spesifik pada penelitian ini diperoleh dari rasio antara unit aktivitas dengan kadar protein kitinase. Aktivitas spesifik tertinggi kitinase pada penelitian ini ditunjukkan oleh fraksi 3 yaitu sebesar 51,17 unit/mg protein. Hasil karakterisasi kitinase menunjukkan bahwa pH 3,8 dan suhu 40,5°C merupakan kondisi optimum kitinase.</p>

1. Pendahuluan

Kitinase merupakan suatu enzim glikosil hidrolase yang mengkatalisis degradasi kitin yaitu senyawa polimer dari N-asetilglukosamin yang membentuk ikatan linier β -1,4 [1]. Enzim ini ditemukan dalam berbagai mikroorganisme yang termasuk dalam jenis jamur dan bakteri. Salah satu jenis jamur penghasil kitinase adalah jamur akuatik kitinolitik. Jamur akuatik kitinolitik merupakan jamur yang memiliki habitat di air, baik di permukaan maupun di dalam air, dan menghidrolisis kitin dengan mensekresikan kitinase [2].

Jamur akuatik kitinolitik dapat berperan sebagai dekomposer serangga yang telah mati dengan cara menghidrolisis tubuh serangga yang tersusun atas kitin sehingga menghasilkan senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti karbon dan nitrogen. Kupu-kupu merupakan salah satu jenis serangga yang termasuk dalam ordo lepidoptera. Kupu-kupu memiliki ciri bentuk dewasanya mempunyai dua pasang sayap yang ditutupi dengan bulu-bulu atau sisik. Tubuh kupu-kupu terbagi atas tiga bagian, yaitu kepala, toraks, dan

abdomen yang dilapisi oleh eksoskeleton yang terdiri dari lapisan kitin [3].

Aplikasi kitinase pada bidang pertanian dan perkebunan sangat potensial karena dapat dimanfaatkan sebagai agen biokontrol terutama bagi tanaman yang terserang infeksi jamur. Hal ini dikarenakan kitin yang merupakan komponen utama dinding sel jamur dapat didegradasi kitinase menghasilkan produk yang ramah lingkungan dibandingkan penggunaan zat kimia. Kitinase dari organisme laut berperan dalam proses daur ulang kitin. Banyak bakteri dan jamur mengeluarkan kitinase untuk menguraikan kitin menjadi karbon dan nitrogen. Dua senyawa terakhir ini selanjutnya dipakai sebagai sumber energi biota lainnya. Dengan adanya kitinase penguraian kitin berlangsung kontinyu sehingga tidak terjadi akumulasi kitin dari sisa cangkang udang, kepiting, cumi dan organisme laut lainnya. Produk hasil hidrolisis senyawa kitin juga banyak manfaat di bidang pertanian dan industri makanan. Senyawa oligo-kitin telah dilaporkan dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan di dalam tubuh, memiliki sifat anti bakteri dan anti kapang, serta meningkatkan daya tahan pada tanaman sedangkan monomernya, yaitu N-asetilglukosamin dapat digunakan sebagai obat untuk mengontrol kadar gula dalam darah. Untuk kosmetik, senyawa gula ini dapat membantu mengurangi hilangnya hiperpigmentasi, karena N-asetil-D-glukosamin dapat membantu mengurangi aktivitas enzim tirosinase yang berperan dalam produksi melanin [1].

Kitinase yang diisolasi dari jamur yang berbeda akan memiliki aktivitas tertinggi pada pH dan suhu yang berbeda. Karakterisasi dilakukan berdasarkan pH dan suhu karena kedua parameter tersebut berperan langsung pada aktivitas enzim. Jika lingkungan suatu enzim memiliki pH dan suhu optimum maka aktivitas enzim yang dihasilkan pun akan maksimum.

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan isolasi kitinase dari isolat jamur akuatik kitinolitik yang berasal dari kupu-kupu dan kemudian dilakukan pula karakterisasi kitinase yang dihasilkan meliputi pH dan suhu.

2. Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan gelas laboratorium, lampu spiritus, autoklaf, *shaker*, mikropipet, *aluminium foil*, spektrofotometer UV-VIS, sentrifus, membran selofan, pengaduk magnet, botol vial, neraca analitik, oven, kompor listrik, kertas saring, kapas, kain kasa, benang kasar. Biakan murni jamur akuatik kitinolitik, aquades, media kitin padat, media kitin cair, buffer asetat 0,05M pH 5, amonium sulfat, BaCl₂, EDTA Alkali, BSA, kalium natrium tartrat, CuSO₄, dan *folin-ciocalteau*

Produksi Kitinase

Isolat jamur akuatik kitinolitik hasil peremajaan dipindahkan secara aseptik ke dalam media fermentasi dengan volume media fermentasi 500 mL sebagai kultur

produksi. Media fermentasi ini diinkubasi pada *inkubator shaker* selama 3 hari. Media fermentasi hasil inkubasi tersebut disaring menggunakan kertas saring lalu disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Filtrat yang didapatkan merupakan ekstrak kasar enzim.

Fraksinasi dan Dialisis

Tingkat kejenuhan amonium sulfat dikelompokkan menjadi fraksi I, 20-40% fraksi II, 40-60% fraksi III, 60-80% fraksi IV, 80-100% fraksi V. Tahap fraksinasi dimulai dengan menambahkan amonium sulfat pada larutan ekstrak kasar enzim sambil diaduk menggunakan pengaduk magnet kemudian larutan dидiamkan satu malam. Selanjutnya disentrifugasi pada suhu 4°C dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Filtrat dan endapan akan terpisah setelah disentrifugasi. Filtrat yang diperoleh dilanjutkan untuk fraksinasi selanjutnya, sedangkan endapan disuspensikan dalam bufer asetat 0,05 M pH 5.

Hasil fraksinasi kemudian didialisis dengan merendam kantong selofan yang berisi enzim dalam bufer asetat 0,00005 M dan diaduk menggunakan pengaduk magnet. Setiap dua jam bufer diganti serta diuji kandungan amonium sulfatnya dengan BaCl₂. Proses dialisis dihentikan sampai dengan bebas sulfat.

Penentuan Aktivitas Kitinase

Penentuan aktivitas kitinase dilakukan dengan metode Veda dan Arai [4]. Sebanyak 1 mL koloidal kitin 0,3%, 2 mL bufer asetat 0,05 M pH 5 dan 1 mL filtrat enzim dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 1,5 jam. Larutan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

Pengukuran Kadar Protein

Sebanyak 0,5 mL enzim ditambah dengan 2,5 mL lowry C dikocok perlahan kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,25 mL lowry D dan segera dikocok lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Larutan tersebut kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum, yaitu 695 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

Karakterisasi pH Optimum Kitinase

Sebanyak 1 mL koloidal kitin 0,3% yang dilarutkan dalam bufer asetat dengan variasi pH 3,6; 3,8; 4; 4,2; dan 4,4 ditambah 2 mL bufer asetat dengan variasi pH yang sama lalu ditambah 1 mL filtrat enzim dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 1,5 jam. Larutan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

Karakterisasi Suhu Optimum Kitinase

Sebanyak 1 mL koloidal kitin 0,3% yang dilarutkan dalam bufer asetat dengan variasi pH 3,6; 3,8; 4; 4,2; 4,4, ditambah 2 mL bufer asetat dengan variasi pH yang sama lalu ditambah 1 mL filtrat enzim hasil karakterisasi pH optimum dimasukkan ke dalam tabung

reaksi dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 1,5 jam. Larutan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

3. Hasil dan Pembahasan

Produksi Kitinase

Produksi kitinase dari jamur akuatik kitinolitik memerlukan nutrisi dasar yang terdiri dari sumber karbon, nitrogen, dan faktor esensial pertumbuhan (mineral dan vitamin) untuk tumbuh, oleh karena itu untuk mendapatkan hasil yang maksimum, media pertumbuhan yang digunakan harus mengandung nutrisi dasar. Media produksi enzim yang digunakan terdiri atas koloid kitin 1%, yeast ekstrak 0,25%, pepton 0,25%, NaNO₃ 0,2%, KH₂PO₄ 0,1%, MgSO₄·7H₂O 0,05%, KCl 0,05%, dan FeSO₄ 0,01%. Isolat jamur akuatik kitinolitik ditumbuhkan sampai waktu eksponensialnya, yaitu 72 jam atau 3 hari. Hal ini sesuai dengan data kurva pertumbuhan dimana jamur akuatik kitinolitik mencapai puncak fase eksponensial pada jam ke 72. Pemanenan yang dilakukan pada waktu yang terlalu singkat akan menghasilkan enzim yang sedikit karena mikroba belum beradaptasi dengan lingkungannya [5]. Jumlah mikroba yang semakin meningkat dari hari ke hari akan membutuhkan nutrisi yang semakin banyak. Nutrisi yang berbentuk polimer tidak dapat memasuki sel mikroba secara langsung. Polimer ini akan dicerna terlebih dahulu oleh enzim-enzim ekstraseluler yang disekresikan oleh mikroba [6]. Produksi enzim-enzim mikrobial memanfaatkan kitin sebagai substrat untuk menghasilkan enzim kitinase.

Produksi kitinase setelah 72 jam dilanjutkan disentrifugasi untuk memisahkan media yang mengandung kitinase dengan sel jamur akuatik kitinolitik sehingga dihasilkan filtrat yang berisi ekstrak kasar enzim dan terpisah dari sel jamur serta sisa-sisa media yang tidak larut. Proses sentrifugasi dilakukan pada suhu 4°C selama 20 menit dengan kecepatan 5000 rpm.

Fraksinasi dan Dialisis

Pemurnian protein dengan menggunakan amonium sulfat merupakan salah satu metode pemurnian awal pada enzim. Pemilihan amonium sulfat didasarkan pada tingkat kelarutan garam amonium sulfat yang besar sehingga mudah berinteraksi dengan molekul air [7]. Filtrat hasil sentrifugasi yang berupa ekstrak kasar kitinase yang bebas sel untuk selanjutnya disebut EK, diendapkan dengan amonium sulfat. Pengendapan kitinase dilakukan dengan variasi tingkat kejenuhan amonium sulfat yaitu 0-20% (Fraksi 1), 20-40% (Fraksi 2), 40-60% (Fraksi 3), 60-80% (Fraksi 4), 80-100% (Fraksi 5). Pengendapan dengan garam menggunakan prinsip *salting out*. Kelarutan protein akan berkurang pada konsentrasi garam yang tinggi. Konsentrasi garam yang meningkat mengakibatkan air akan lepas dari protein yang menyebabkan terjadinya penempelan ikatan hidrofobik dari satu protein dengan protein yang lain dan menghasilkan endapan [8]. Peristiwa pemisahan protein ini disebut *salting out*.

Penambahan garam dilakukan secara perlahan pada suhu dingin sambil dilakukan pengadukan. Pengkondisian pada suhu dingin dilakukan karena terjadi peningkatan suhu akibat proses pelarutan yang dibantu dengan *magnetic stirrer*. Hal ini dapat dilakukan dengan mengkondisikan larutan dalam air yang dicampur es. Pengendapan protein disetarakan dengan cara supernatan enzim yang bebas sel yang telah ditambahkan dengan amonium sulfat didiamkan selama semalam. Selama proses ini molekul protein akan beragregasi, tetapi tidak semuanya akan langsung mengendap. Pemisahan supernatan dan endapan protein dilakukan dengan sentrifugasi. Endapan tersebut dilakukan dalam bufer asetat 0,05 M pH 5.

Dialisis dalam penelitian ini merupakan proses yang dilakukan untuk memisahkan atau menghilangkan molekul garam amonium sulfat dan ion-ion pengganggu lainnya yang berpengaruh terhadap kestabilan molekul protein enzim selama penyimpanan, dimana molekul-molekul kecil dan ion-ion akan melewati pori-pori selaput semipermeabel dan keluar dari kantong selofan. Menurut Rachmadani [5], untuk menghindari kontaminasi dari bahan logam, maka kantong dialisis terlebih dahulu direbus selama 10 menit dalam larutan EDTA alkali lalu dicuci dan direbus kembali dengan air bebas ion selama 10 menit sebanyak 2 kali. Dialisis dilakukan di lingkungan yang dingin untuk mengurangi terjadinya penurunan aktivitas enzim. Pengadukan dengan kecepatan rendah bertujuan untuk mempermudah keluarnya molekul berukuran kecil dari kantong dialisis dan mencegah molekul tersebut terkonsentrasi di sekitar kantong. Pada proses dialisis keberadaan amonium sulfat diharapkan sudah tidak ada karena amonium sulfat akan mengganggu kerja enzim. Keberadaan amonium sulfat di dalam kantong dialisis diuji dengan menambahkan BaCl₂ ke dalam larutan bufer yang berada di luar kantong dialisis.

Penentuan Aktivitas Kitinase

Kitinase bekerja mengkatalisis hidrolisis kitin menjadi monomer N-Asetilglukosamin [9]. Pada penelitian ini, aktivitas kitinase diukur dengan metode Veda dan Arai [4] berdasarkan pengurangan substrat dengan mengukur tingkat kekeruhan substrat yang telah bereaksi dengan kitinase dan diukur pada panjang gelombang 660 nm. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menyebabkan pengurangan absorbansi sebesar 0,001 campuran reaksi per menit.

Pengukuran Kadar Protein

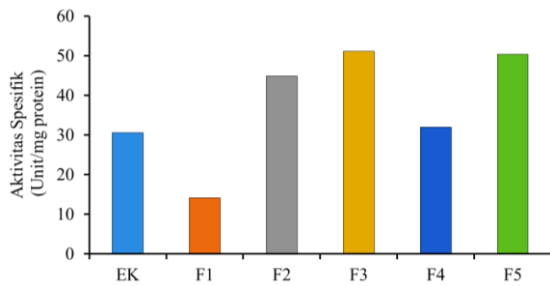
Kadar protein pada tiap-tiap fraksi diukur dengan menggunakan metode Lowry *dkk.* [10]. Analisa kuantitatif pada metode ini dilakukan dalam 3 tahapan. Pertama menentukan panjang gelombang maksimum BSA yang pada penelitian ini didapatkan 695 nm sebagai panjang gelombang maksimumnya. Kedua, pembuatan kurva standar BSA untuk mengetahui konsentrasi dan absorbansi dari protein standar, sehingga bila absorbansi sampel diketahui, maka kadar sampel dapat dihitung dengan cara mensubstitusikan ke persamaan

kurva standar $Y = ax + b$. Ketiga merupakan tahap pengukuran kadar protein kitinase.

Melalui metode ini, protein dalam kitinase akan bereaksi dengan Cu dalam larutan alkalis membentuk kompleks ion tembaga dengan ikatan amida. Warna biru menjadi semakin pekat setelah bereaksi dengan reagen *folin ciocalteau* karena terjadi reduksi fosfotungstat dan fosfomolibdat yang berwarna kuning oleh tirosin dan triptofan yang ada dalam protein menjadi molybdenum biru dan tungsten biru [10].

Pengukuran Aktivitas Spesifik Kitinase

Aktivitas spesifik kitinase dapat dihitung dari unit aktivitas enzim per mg protein. Fraksi dengan nilai aktivitas spesifik tertinggi merupakan fraksi dengan jumlah enzim paling banyak dibandingkan fraksi lain, sehingga kemungkinan menemukan enzim lebih besar dimana aktivitas spesifik merupakan rasio antara unit aktivitas enzim dengan total protein dalam miligram. Dengan demikian, aktivitas spesifik menggambarkan tingkat kemurnian suatu enzim. Berikut adalah kurva masing-masing fraksi dengan nilai aktivitas spesifiknya :

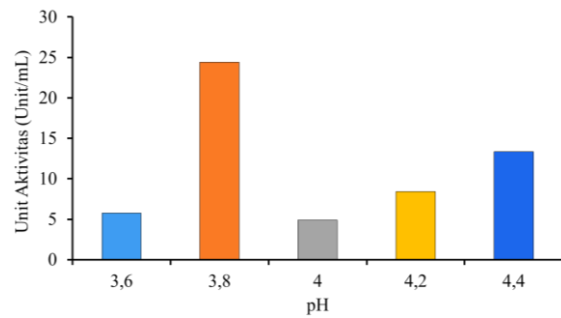


Gambar 1. Aktivitas spesifik kitinase tiap fraksi

Berdasarkan gambar 1 fraksi 3 (40-60%) memiliki aktivitas spesifik enzim tertinggi sebesar 51,17 Unit/mg protein. Hal ini mengindikasikan bahwa pada fraksi tersebut keberadaan protein enzim paling banyak dibandingkan dengan fraksi lain, sehingga fraksi ini dapat dikatakan sebagai fraksi yang paling murni dalam kelompok fraksinasi amonium sulfat.

Karakterisasi pH Optimum Kitinase

Setiap enzim mempunyai pH optimum yaitu kisaran pH dimana enzim menunjukkan aktivitas maksimum dengan stabilitas yang tinggi. Mikroba yang hidup di alam tersebar luas mulai yang hidup di daerah asam sampai dengan alkali, dari suhu rendah sampai suhu tinggi [11]. Menurut Palmer [12] setiap enzim mempunyai karakteristik pH optimum dan enzim tersebut aktif pada kisaran pH yang relatif sempit. Penentuan pH optimum bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum aktivitas enzim sehingga penggunaan enzim dapat disesuaikan dengan karakteristiknya tersebut sehingga pada saat digunakan dapat diperoleh aktivitas enzim yang maksimal.

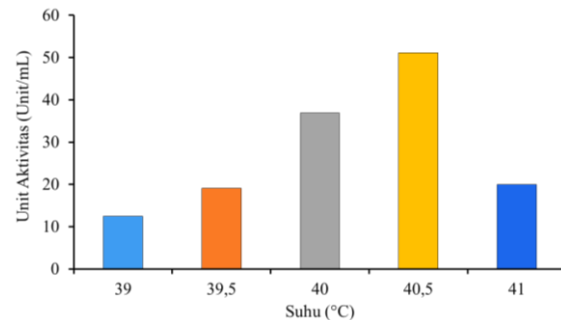


Gambar 2. Grafik pH optimum

Gambar 2 menunjukkan bahwa aktivitas kitinase mengalami peningkatan sampai pH 3,8 (pH optimum) dengan unit aktivitas sebesar 24,44 Unit/mL kemudian menurun pada pH 4 dan kembali mengalami peningkatan pada pH 4,2 dan 4,4.

Karakterisasi Suhu Optimum Kitinase

Berdasarkan pertumbuhannya mikroba digolongkan menjadi lima kelompok, yaitu psikrofil tumbuh pada suhu -5-20°C, mesofil suhu 20-45°C, termofil 45-65°C, termofil ekstrim 65-85°C dan hipertermofil 85-100°C. Dalam reaksi enzimatik, suhu berperan dalam meningkatkan reaksi antara substrat dengan enzim. Aktivitas kitinase mengalami peningkatan pada suhu 40,5°C (suhu optimum) dengan unit aktivitas sebesar 57,77 Unit/mL.



Gambar 3. Grafik suhu optimum

Aktivitas enzim pada suhu 39°C rendah disebabkan tidak semua substrat berikatan dengan sisi aktif enzim. Saat suhu meningkat sampai suhu optimum yaitu 40,5°C, kecepatan reaksi enzim naik karena energi kinetik bertambah. Hal ini memperbesar peluang enzim dan substrat bereaksi untuk menghasilkan produk yang maksimal. Pada suhu 41°C aktivitas enzim menurun. Menurunnya aktivitas mengikuti meningkatnya suhu di atas optimum biasanya disebabkan oleh perusakan enzim [11].

Adanya perubahan suhu juga akan mempengaruhi ikatan hidrogen atau interaksi hidrofobik yang berperan dalam menjaga konformasi molekul enzim [13]. Perubahan konformasi akan mempengaruhi sisi aktif dari enzim, kondisi panas tertentu menyebabkan ikatan hidrogen tersebut akan putus. Putusnya satu ikatan hidrogen akan menyebabkan mudahnya pemutusan ikatan hidrogen selanjutnya dalam rantai polipeptida

tersebut, sehingga protein enzim mengalami denaturasi.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitinase dapat diperoleh dari isolat jamur akuatik kitinolitik yang berasal dari kupu-kupu dengan menggunakan substrat koloidal kitin. Aktivitas spesifik tertinggi kitinase yang diperoleh dari jamur akuatik kitinolitik berasal dari kupu-kupu adalah 51,17 Unit/mg protein pada fraksi 3. Kondisi optimum kerja kitinase dari jamur akuatik kitinolitik dicapai pada pH 3,8 dan suhu 40,5°C.

5. Daftar Pustaka

- [1] Nuniek Herdyastuti, Tri Joko Raharjo, Mudasir Mudasir, Sabirin Matsjeh, Chitinase and chitinolytic microorganism: Isolation, characterization and potential, *Indonesian Journal of Chemistry*, 9, 1, (2010) 37-47 <http://dx.doi.org/10.22146/ijc.457>
- [2] Maria Swiontek Brzezinska, Elżbieta Lalke-porczyk, Wojciech Donderski, The role of chitinolytic bacteria and fungi in biodegradation of crustacean remains in lacustrine habitats, *Pol. J. Ecol*, 56, 2, (2008) 335-342
- [3] Hazel Davies, Carol A Butler, Do butterflies bite?: Fascinating answers to questions about butterflies and moths, Rutgers University Press, 2008.
- [4] Mitsuhiro Veda, Motoo Arai, Purification and some properties of chitinases from *Aeromonas* sp. No. 10S-24, *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 56, 3, (1992) 460-464 <http://dx.doi.org/10.1271/bbb.56.460>
- [5] Dian Rachmadani, Mempelajari pemurnian enzim kitosanase termostabil dari isolat *Bacillus licheniformis* MB-2 asal Tompaso, Manado, Sulawesi Utara, Jurusan Teknologi Pangan, IPB, Bogor
- [6] Maggy T Suhartono, Enzim dan bioteknologi, *PAU Bioteknologi IPB, Bogor*, (1989)
- [7] Nico Dynnar, Pemurnian dan karakterisasi enzim katepsin dari ikan bandeng (*Chanos chanos* Forskall), Jurusan Teknologi Produk Perairan, IPB, Bogor
- [8] IPD Arjito, Analisis protein jaringan otak sapi dengan metode isolasi, purifikasi dan visualisasi, *Jurnal Ganeç Swara*, 3, 2, (2009) 55-58
- [9] Andestian Wijaya, Pengembangan Teknologi Papan Komposit Dari Limbah Batang Pisang (*Musa Sp.*): Sifat Fisis Dan Mekanis Papan Pada Berbagai Tingkat Asetilasi, Fakultas Kehutanan, IPB, Bogor
- [10] Oliver H Lowry, Nira J Rosebrough, A Lewis Farr, Rose J Randall, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *The Journal of biological chemistry*, 193, 1, (1951) 265-275
- [11] Wesley A. Volk, Margaret F. Wheeler, Mikrobiologi Dasar, Markham, Erlangga, Jakarta, 1993.
- [12] Trevor Palmer, Understanding enzymes, 4 ed., Prentice Hall/Ellis Horwood, 1995.
- [13] Rudy Wijaya, Karakteristik Enzim serupa Tripsin dari Cacing Tanah, Teknologi Pertanian, IPB, Bogor

Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (Lepidoptera)

by Sriatun Sriatun

Submission date: 25-May-2019 08:14AM (UTC+0700)

Submission ID: 1135638152

File name: amur_Akuatik_Kitinolitik_berasal_dari_Kupu-kupu_Lepidoptera.pdf (383.51K)

Word count: 2911

Character count: 18208



Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (*Lepidoptera*)

Reny Ingemer Selvia^a, Wuryanti^{a*}, Sriatun^a

7

^a Biochemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

* Corresponding author: wuryanti@live.undip.ac.id

Article Info

Keywords:
chitinase,
chitinolytic aquatic
fungi, Ueda Arai,
Lowry

Kata Kunci:
kitinase, jamur
akuatik kitinolitik,
Ueda Arai, Lowry

Abstract

Research on the isolation and characterization of chitinase from the chitinolytic aquatic fungi isolate derived from butterfly (*Lepidoptera*) has been done. This study aimed to obtain chitinase from chitinolytic aquatic fungi isolate derived from butterfly (*Lepidoptera*), data of the chitinase specific activity and chitinase optimum conditions include pH and temperature. Chitinase activity assays in this study performed with the method of Ueda Arai, while the protein concentration measurements performed with Lowry method. The specific activity in this study was obtained from the ratio between units of chitinase activity by protein content. The highest specific activity of chitinase in this study is shown by the fraction 3 is 51.17 units/mg protein. The results from the characterization of chitinase shows that pH 3.8 and a temperature of 40.5°C is the optimum condition of chitinase.

Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi kitinase dari isolat jamur akuatik kitinolitik berasal dari kupu-kupu (*Lepidoptera*). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kitinase dan data aktivitas spesifik kitinase dari isolat jamur akuatik kitinolitik yang berasal dari kupu-kupu serta memperoleh data kondisi optimum kitinase meliputi pH dan suhu. Pengujian aktivitas kitinase pada penelitian ini dilakukan dengan metode Ueda Arai, sedangkan pengukuran kadar protein dilakukan dengan metode Lowry. Aktivitas spesifik pada penelitian ini diperoleh dari rasio antara unit aktivitas dengan kadar protein kitinase. Aktivitas spesifik tertinggi kitinase pada penelitian ini ditunjukkan oleh fraksi 3 yaitu sebesar 51,17 unit/mg protein. Hasil karakterisasi kitinase menunjukkan bahwa pH 3,8 dan suhu 40,5°C merupakan kondisi optimum kitinase.

1. Pendahuluan

Kitinase merupakan suatu enzim glikosil hidrolase yang mengkatalisis degradasi kitin yaitu senyawa polimer dari N-asetilglukosamin yang membentuk ikatan linier β -1,4 [1]. Enzim ini ditemukan dalam berbagai mikroorganisme yang termasuk dalam jenis jamur dan bakteri. Salah satu jenis jamur penghasil kitinase adalah jamur akuatik kitinolitik. Jamur akuatik kitinolitik merupakan jamur yang memiliki habitat di air, baik di permukaan maupun di dalam air, dan menghidrolisis kitin dengan mensekresikan kitinase [2].

Jamur akuatik kitinolitik dapat berperan sebagai dekomposer serangga yang telah mati dengan cara menghidrolisis tubuh serangga yang tersusun atas kitin sehingga menghasilkan senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti karbon dan nitrogen. Kupu-kupu merupakan salah satu jenis serangga yang termasuk dalam ordo lepidoptera. Kupu-kupu memiliki ciri bentuk dewasanya mempunyai dua pasang sayap yang 10 itupi dengan bulu-bulu atau sisik. Tubuh kupu-kupu terbagi atas tiga bagian, yaitu kepala, toraks, dan

abdomen yang dilapisi oleh eksoskeleton yang terdiri dari lapisan kitin [3].

Aplikasi kitinase pada bidang pertanian dan perkebunan sangat potensial karena dapat dimanfaatkan sebagai agen biokontrol terutama bagi tanaman yang terserang infeksi jamur. Hal ini dikarenakan kitin yang merupakan komponen utama dinding sel jamur dapat didegradasi kitinase menghasilkan produk yang ramah lingkungan dibandingkan penggunaan zat kimia. Kitinase dari organisme laut berperan dalam proses daur ulang kitin. Banyak bakteri dan jamur mengeluarkan kitinase untuk menguraikan kitin menjadi karbon dan nitrogen. Dua senyawa terakhir ini selanjutnya dipakai sebagai sumber energi biota lainnya. Dengan adanya kitinase penguraian kitin berlangsung kontinyu sehingga tidak terjadi akumulasi kitin dari sisa cangkang udang, kepiting, cumi dan organisme laut lainnya. Produk hasil hidrolisis senyawa kitin juga banyak manfaat di bidang pertanian dan industri makanan. Senyawa oligo-kitin telah dilaporkan dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan di dalam tubuh, memiliki sifat anti bakteri dan anti kapang, serta meningkatkan daya tahan pada tanaman sedangkan monomernya, yaitu N-asetilglukosamin dapat digunakan sebagai obat untuk mengontrol kadar gula dalam darah. Untuk kosmetik, senyawa gula ini dapat membantu mengurangi hilangnya hiperpigmentasi, karena N-asetil-D-glukosamin dapat membantu mengurangi aktivitas enzim tirosinase yang berperan dalam produksi melanin [1].

Kitinase yang diisolasi dari jamur yang berbeda akan memiliki aktivitas tertinggi pada pH dan suhu yang berbeda. Karakterisasi dilakukan berdasarkan pH dan suhu karena kedua parameter tersebut berperan langsung pada aktivitas enzim. Jika lingkungan suatu enzim memiliki pH dan suhu optimum maka aktivitas enzim yang dihasilkan pun akan maksimum.

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan isolasi kitinase dari isolat jamur akuatik kitinolitik yang berasal dari kupu-kupu dan kemudian dilakukan pula karakterisasi kitinase yang dihasilkan meliputi pH dan suhu.

2. Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan gelas laboratorium, lampu spiritus, autoklaf, shaker, mikropipet, aluminium foil, spektrofotometer UV-VIS, sentrifus, membran selofan, pengaduk magnet, botol vial, neraca analitik, oven, kompor listrik, kertas saring, kapas, kain kasa, benang kasar. Biakan murni jamur akuatik kitinolitik, aquades, media kitin padat, media kitin cair, buffer asetat 0,05 M pH 5, amonium sulfat, BaCl₂, EDTA Alkali, BSA, kalium natrium tartrat, CuSO₄, dan folin-ciocalteau

Produksi Kitinase

Isolat jamur akuatik kitinolitik hasil peremajaan dipindahkan secara aseptik ke dalam media fermentasi dengan volume media fermentasi 500 mL sebagai kultur

produksi. Media fermentasi ini diinkubasi pada inkubator shaker selama 3 hari. Media fermentasi hasil inkubasi tersebut disaring menggunakan kertas saring lalu disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Filtrat yang didapatkan merupakan ekstrak kasar enzim.

Fraksinasi dan Dialisis

Tingkat kejenuhan amonium sulfat dikelompokkan menjadi fraksi I, 20-40% fraksi II, 40-60% fraksi III, 60-80% fraksi IV, 80-100% fraksi V. Tahap fraksinasi dimulai dengan menambahkan amonium sulfat pada larutan ekstrak kasar enzim sambil diaduk menggunakan pengaduk magnet kemudian larutan dibiarkan satu malam. Selanjutnya disentrifugasi pada suhu 4°C dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Filtrat dan endapan akan terpisah setelah disentrifugasi. Filtrat yang diperoleh dilanjutkan untuk fraksinasi selanjutnya, sedangkan endapan disuspensikan dalam bufer asetat 0,05 M pH 5.

Hasil fraksinasi kemudian didialisis dengan merendam kantong selofan yang berisi enzim dalam bufer asetat 0,0005 M dan diaduk menggunakan pengaduk magnet. Setiap dua jam bufer diganti serta diuji kandungan amonium sulfatnya dengan BaCl₂. Proses dialisis dihentikan sampai dengan bebas sulfat.

Penentuan Aktivitas Kitinase

Penentuan aktivitas kitinase dilakukan dengan metode Veda dan Arai [4]. Sebanyak 1 mL koloidal kitin 0,3%, 2 mL bufer asetat 0,05 M pH 5 dan 1 mL filtrat enzim dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 1,5 jam. Larutan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

Pengukuran Kadar Protein

Sebanyak 0,5 mL enzim ditambah dengan 2,5 mL lowry C diklik perlahan kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,25 mL lowry D dan segera dikocok lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Larutan tersebut kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum, yaitu 695 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

Karakterisasi pH Optimum Kitinase

Sebanyak 1 mL koloidal kitin 0,3% yang dilarutkan dalam bufer asetat dengan variasi pH 3,6; 3,8; 4; 4,2; dan 4,4 ditambah 2 mL bufer asetat dengan variasi pH yang sama lalu ditambah 1 mL filtrat enzim dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 1,5 jam. Larutan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

Karakterisasi Suhu Optimum Kitinase

Sebanyak 1 mL koloidal kitin 0,3% yang dilarutkan dalam bufer asetat dengan variasi pH 3,6; 3,8; 4; 4,2; 4,4, ditambah 2 mL bufer asetat dengan variasi pH yang sama lalu ditambah 1 mL filtrat enzim hasil karakterisasi pH optimum dimasukkan ke dalam tabung

reaksi dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 1,5 jam. Larutan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

3. Hasil dan Pembahasan

Produksi Kitinase

Produksi kitinase dari jamur akuatik kitinolitik memerlukan nutrisi dasar yang terdiri dari sumber karbon, nitrogen, dan faktor esensial pertumbuhan (mineral dan vitamin) untuk tumbuh, oleh karena itu untuk mendapatkan hasil yang maksimum, media pertumbuhan yang digunakan harus mengandung nutrisi dasar. Media produksi enzim yang digunakan terdiri atas kol. 12 kitin 1%, yeast ekstrak 0,25%, pepton 0,25%, NaNO₃ 0,2%, KH₂PO₄ 0,1%, MgSO₄·7H₂O 0,05%, KCl 0,05%, dan FeSO₄ 0,01%. Isolat jamur akuatik kitinolitik ditumbuhkan sampai waktu eksponensialnya, yaitu 72 jam atau 3 hari. Hal ini sesuai dengan data kurva pertumbuhan dimana jamur akuatik kitinolitik mencapai puncak fase eksponensial pada jam ke 72. Pemanenan yang dilakukan pada waktu yang terlalu singkat akan menghasilkan enzim yang sedikit karena mikroba belum beradaptasi dengan lingkungannya [5]. Jumlah mikroba yang semakin meningkat dari hari ke hari akan membutuhkan nutrisi yang semakin banyak. Nutrisi yang berbentuk polimer tidak dapat memasuki sel mikroba secara langsung. Polimer ini akan dicerna terlebih dahulu oleh enzim-enzim ekstraseluler yang disekresikan oleh mikroba [6]. Produksi enzim-enzim mikrobial memanfaatkan kitin sebagai substrat untuk menghasilkan enzim kitinase.

Produksi kitinase setelah 72 jam dilanjutkan disentrifugasi untuk memisahkan media yang mengandung kitinase dengan sel jamur akuatik kitinolitik sehingga dihasilkan filtrat yang berisi ekstrak kasar enzim dan terpisah dari sel jamur serta sisa-sisa media yang tidak larut. Proses sentrifugasi dilakukan pada suhu 4°C selama 20 menit dengan kecepatan 5000 rpm.

Fraksinasi dan Dialisis

Pemurnian protein dengan menggunakan amonium sulfat merupakan salah satu metode pemurnian awal pada enzim. Pemilihan amonium sulfat didasarkan pada tingkat kelarutan garam amonium sulfat yang besar sehingga mudah berinteraksi dengan molekul air [7]. Filtrat hasil sentrifugasi yang berupa ekstrak kasar kitinase yang bebas sel untuk selanjutnya disebut EK, diendapkan dengan amonium sulfat. Pengendapan kitinase dilakukan dengan variasi tingkat kejenuhan amonium sulfat yaitu 0-20% (Fraksi 1), 20-40% (Fraksi 2), 40-60% (Fraksi 3), 60-80% (Fraksi 4), 80-100% (Fraksi 5). Pengendapan dengan garam menggunakan prinsip *salting out*. Kelarutan protein akan berkurang pada konsentrasi garam yang tinggi. Konsentrasi garam yang meningkat mengakibatkan air akan lepas dari protein yang menyebabkan terjadinya penempelan ikatan hidrofobik dari satu protein dengan protein yang lain dan menghasilkan endapan [8]. Peristiwa pemisahan protein ini disebut *salting out*.

Penambahan garam dilakukan secara perlahan pada suhu dingin sambil dilakukan pengadukan. Pengondisian pada suhu dingin dilakukan karena terjadi peningkatan suhu akibat proses pelarutan yang dibantu dengan *magnetic stirrer*. Hal ini dapat dilakukan dengan mengkondisikan larutan dalam air yang dicampur es. Pengendapan protein disetarakan dengan cara supernatan enzim yang bebas sel yang telah ditambahkan dengan amonium sulfat didiamkan selama semalam. Selama proses ini molekul protein akan beragregasi, tetapi tidak semuanya akan langsung mengendap. Pemisahan supernatan dan endapan protein dilakukan dengan sentrifugasi. Endapan tersebut dilakukan dalam bufer asetat 0,05 M pH 5.

Dialisis dalam penelitian ini merupakan proses yang dilakukan untuk memisahkan atau menghilangkan molekul garam amonium sulfat dan ion-ion pengganggu lainnya yang berpengaruh terhadap kestabilan molekul protein enzim selama penyimpanan, dimana molekul-molekul kecil dan ion-ion akan melewati pori-pori selaput semipermeabel dan keluar dari kantong selofan. Menurut Rachmadani [5], untuk menghindari kontaminan dari bahan logam, maka kantong dialisis terlebih dahulu direbus selama 10 menit dalam larutan EDTA alkali lalu dicuci dan direbus kembali dengan air bebas ion selama 10 menit sebanyak 2 kali. Dialisis dilakukan di lingkungan yang dingin untuk mengurangi terjadinya penurunan aktivitas enzim. Pengadukan dengan kecepatan rendah bertujuan untuk mempermudah keluarnya molekul berukuran kecil dari kantong dialisis dan mencegah molekul tersebut terkonsentrasi di sekitar kantong. Pada proses dialisis keberadaan amonium sulfat diharapkan sudah tidak ada karena amonium sulfat akan mengganggu kerja enzim. Keberadaan amonium sulfat di dalam kantong dialisis diuji dengan menambahkan BaCl₂ ke dalam larutan bufer yang berada di luar kantong dialisis.

Penentuan Aktivitas Kitinase

Kitinase bekerja mengkatalisis hidrolisis kitin menjadi monomer N-Asetilglukosamin [9]. Pada penelitian ini, aktivitas kitinase diukur dengan metode Veda dan Arai [4] berdasarkan pengurangan substrat dengan mengukur tingkat kekeruhan substrat yang telah bereaksi dengan kitinase dan diukur pada panjang gelombang 660 nm. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menyebabkan pengurangan absorbansi sebesar 0,001 campuran reaksi per menit.

Pengukuran Kadar Protein

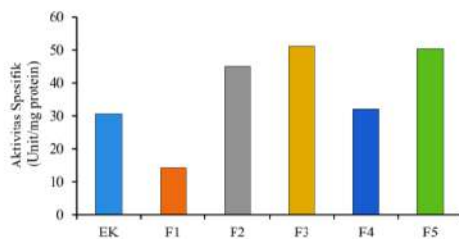
Kadar protein pada tiap-tiap fraksi diukur dengan menggunakan metode Lowry *dkk.* [10]. Analisa kuantitatif pada metode ini dilakukan dalam 3 tahapan. Pertama menentukan panjang gelombang maksimum BSA yang pada penelitian ini didapatkan 695 nm sebagai panjang gelombang maksimumnya. Kedua, pembuatan kurva standar BSA untuk mengetahui konsentrasi dan absorbansi dari protein standar, sehingga bila absorbansi sampel diketahui, maka kadar sampel dapat dihitung dengan cara mensubstitusikan ke persamaan

kurva standar $Y = ax + b$. Ketiga merupakan tahap pengukuran kadar protein kitinase.

Melalui metode ini, protein dalam kitinase akan bereaksi dengan Cu dalam larutan alkalis membentuk kompleks ion tembaga dengan ikatan amida. Warna biru menjadi semakin pekat setelah bereaksi dengan reagen *folin ciocalteau* karena terjadi reduksi fosfotungstat dan fosfomolibdat yang berwarna kuning oleh tirosin dan triptofan yang ada dalam protein menjadi molybdenum biru dan tungsten biru [10].

Pengukuran Aktivitas Spesifik Kitinase

Aktivitas spesifik kitinase dapat dihitung dari unit aktivitas enzim per mg protein. Fraksi dengan nilai aktivitas spesifik tertinggi merupakan fraksi dengan jumlah enzim paling banyak dibandingkan fraksi lain, sehingga kemungkinan menemukan enzim lebih besar dimana aktivitas spesifik merupakan rasio antara unit aktivitas enzim dengan total protein dalam miligram. Dengan demikian, aktivitas spesifik menggambarkan tingkat kemurnian suatu enzim. Berikut adalah kurva masing-masing fraksi dengan nilai aktivitas spesifiknya :

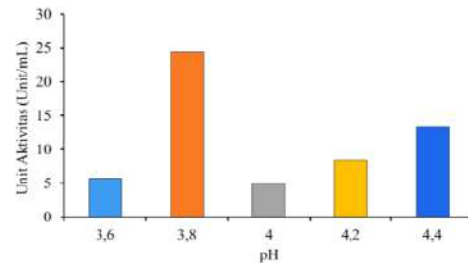


Gambar 1. Aktivitas spesifik kitinase tiap fraksi

Berdasarkan gambar 1 fraksi 3 (40-60%) memiliki aktivitas spesifik enzim tertinggi sebesar 51,17 Unit/mg protein. Hal ini mengindikasikan bahwa pada fraksi tersebut keberadaan protein enzim paling banyak dibandingkan dengan fraksi lain, sehingga fraksi ini dapat dikatakan sebagai fraksi yang paling murni dalam kelompok fraksinasi amonium sulfat.

Karakterisasi pH Optimum Kitinase

Setiap enzim mempunyai pH optimum yaitu kisaran pH dimana enzim menunjukkan aktivitas maksimum dengan stabilitas yang tinggi. Mikroba yang hidup di alam tersebar luas mulai yang hidup di daerah asam sampai dengan alkali, dari suhu rendah sampai suhu tinggi [11]. Menurut Palmer [12] setiap enzim mempunyai karakteristik pH optimum dan enzim tersebut aktif pada kisaran pH yang relatif sempit. Penentuan pH optimum bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum aktivitas enzim sehingga penggunaan enzim dapat disesuaikan dengan karakteristiknya tersebut sehingga pada saat digunakan dapat diperoleh aktivitas enzim yang maksimal.

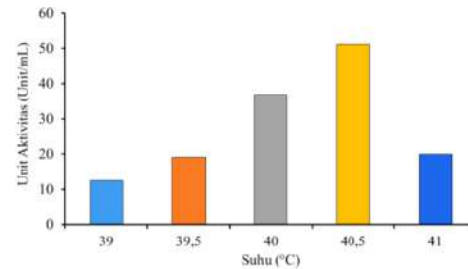


Gambar 2. Grafik pH optimum

Gambar 2 menunjukkan bahwa aktivitas kitinase mengalami peningkatan sampai pH 3,8 (pH optimum) dengan unit aktivitas sebesar 24,44 Unit/mL kemudian menurun pada pH 4 dan kembali mengalami peningkatan pada pH 4,2 dan 4,4.

Karakterisasi Suhu Optimum Kitinase

Berdasarkan pertumbuhannya mikroba digolongkan menjadi lima kelompok, yaitu psikrofil tumbuh pada suhu $-5-20^{\circ}\text{C}$, mesofil suhu $20-45^{\circ}\text{C}$, termofil $45-65^{\circ}\text{C}$, termofil ekstrim $65-85^{\circ}\text{C}$ dan hipertermofil $85-100^{\circ}\text{C}$. Dalam reaksi enzimatik, suhu berperan dalam meningkatkan reaksi antara substrat dengan enzim. Aktivitas kitinase mengalami peningkatan pada suhu $40,5^{\circ}\text{C}$ (suhu optimum) dengan unit aktivitas sebesar 57,77 Unit/mL.



Gambar 3. Grafik suhu optimum

Aktivitas enzim pada suhu 39°C rendah disebabkan tidak semua substrat berikatan dengan sisi aktif enzim. Saat suhu meningkat sampai suhu optimum yaitu $40,5^{\circ}\text{C}$, kecepatan reaksi enzim naik karena energi kinetik bertambah. Hal ini memperbesar peluang enzim dan substrat bereaksi untuk menghasilkan produk yang maksimal. Pada suhu 41°C aktivitas enzim menurun. Menurunnya aktivitas mengikuti meningkatnya suhu di atas optimum biasanya disebabkan oleh rusaknya enzim [11].

Adanya perubahan suhu juga akan mempengaruhi ikatan hidrogen atau interaksi hidrofobik yang berperan dalam menjaga konformasi molekul enzim [13]. Perubahan konformasi akan mempengaruhi sisi aktif dari enzim, kondisi panas tertentu menyebabkan ikatan hidrogen tersebut akan putus. Putusnya satu ikatan hidrogen akan menyebabkan mudahnya pemutusan ikatan hidrogen selanjutnya dalam rantai polipeptida

tersebut, sehingga protein enzim mengalami denaturasi.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitinase dapat diperoleh dari isolat jamur akuatik kitinolitik yang berasal dari kupu-kupu dengan menggunakan substrat koloidal kitin. Aktivitas spesifik tertinggi kitinase yang diperoleh dari jamur akuatik kitinolitik berasal dari kupu-kupu adalah 51,17 Unit/mg protein pada fraksi 3. Kondisi optimum kerja kitinase dari jamur akuatik kitinolitik dicapai pada pH 3,8 dan suhu 40,5°C.

5. Daftar Pustaka

- [1] Nuniek Herdyastuti, Tri Joko Raharjo, Mudasir Mudasir, Sabirin Matsjeh, Chitinase and chitinolytic microorganism: Isolation, characterization and potential, *Indonesian Journal of Chemistry*, 9, 1, (2010) 37-47, <http://dx.doi.org/10.22146/ijc.457>
- [2] Maria Swiontek Brzezinska, Elżbieta Lalke-porczyk, Wojciech Donderski, The role of chitinolytic bacteria and fungi in biodegradation of crustacean remains in lacustrine habitats, *Pol. J. Ecol*, 56, 2, (2008) 335-342
- [3] Hazel Davies, Carol A Butler, Do butterflies bite?: Fascinating answers to questions about butterflies and moths, Rutgers University Press, 2008.
- [4] Mitsuhiro Veda, Motoo Arai, Purification and some properties of chitinases from *Aeromonas* sp. No. 10S-24, *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 56, 3, (1992) 460-464, <http://dx.doi.org/10.1271/bbb.56.460>
- [5] Dian Rachmadani, Mempelajari pemurnian enzim kitosanase termostabil dari isolat *Bacillus licheniformis* MB-2 asal Tompaso, Manado, Sulawesi Utara, Jurusan Teknologi Pangan, IPB, Bogor
- [6] Maggy T Suhartono, Enzim dan bioteknologi, PAU Bioteknologi IPB, Bogor, (1986)
- [7] Nico Dynnar, Pemurnian dan karakterisasi enzim katepsin dari ikan bandeng (*Chanos chanos* Forskall), Jurusan Teknologi Produk Perairan, IPB, Bogor
- [8] IPD Arjito, Analisis protein jaringan otak sapi dengan metode isolasi, purifikasi dan visualisasi, *Jurnal Ganeç Swara*, 2, (2009) 55-58
- [9] Andestian Wijaya, Pengembangan Teknologi Papan Komposit Dari Limbah Batang Pisang (*Musa Sp.*): Sifat Fisis Dan Mekanis Papan Pada Berbagai Tingkat Asetilasi, Fakultas Kehutanan, IPB, Bogor
- [10] Oliver H Lowry, Nira J Rosebrough, A Lewis Farr, Rose J Randall, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *The Journal of biological chemistry*, 193, 1, (1951) 265-275
- [11] Wesley A. Volk, Margaret F. Wheeler, Mikrobiologi Dasar, Markham, Erlangga, Jakarta, 1993.
- [12] Trevor Palmer, Understanding enzymes, 4 ed., Prentice Hall/Ellis Horwood, 1995.
- [13] Rudy Wijaya, Karakteristik Enzim serupa Tripsin dari Cacing Tanah, Teknologi Pertanian, IPB, Bogor

Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik berasal dari Kupu-kupu (Lepidoptera)

ORIGINALITY REPORT

9%

SIMILARITY INDEX

8%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

5%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	lulu-nurlaila.blogspot.com Internet Source	1%
2	pertanian.trunojoyo.ac.id Internet Source	1%
3	daim.idi.ntnu.no Internet Source	1%
4	pm.microbiology.pl Internet Source	1%
5	www.nafiun.com Internet Source	1%
6	edoc.site Internet Source	1%
7	unsri.portalgaruda.org Internet Source	1%
8	www.ontarioinsects.org Internet Source	1%
9	Pervin Basaran Akocak, John J. Churey, Randy	

W. Worobo. "Antagonistic effect of chitinolytic Pseudomonas and Bacillus on growth of fungal hyphae and spores of aflatoxigenic Aspergillus flavus", Food Bioscience, 2015

Publication

1%

10

Submitted to Universitas Jember

Student Paper

1%

11

jfu.fmipa.unand.ac.id

Internet Source

1%

12

Submitted to Higher Education Commission
Pakistan

Student Paper

<1%

13

slideus.org

Internet Source

<1%

14

Submitted to Universitas Brawijaya

Student Paper

<1%

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off