

ENZIM KITINASE DAN APLIKASI DI BIDANG INDUSTRI: KAJIAN PUSTAKA

Chitinase and the Application in Industry: A Review

Rachmawati Sandra Pratiwi^{1*}, Tius Enggarsari Susanto¹, Yaninda Alpha Kusuma Wardani¹,
Aji Sutrisno¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email : aji_sutrisno@ub.ac.id

ABSTRAK

Kitinase adalah enzim yang menghidrolisis senyawa kitin pada β -1,4-N-asetil-glukosamin menjadi monomer N-asetil-D-glukosamin yang terdistribusi di alam. Enzim kitinase dihasilkan oleh mikroorganisme kitinolitik yang sebagian besar terdapat di lingkungan tanah dan air. Karakteristik enzim kitinase bervariasi tergantung pada jenis mikroorganisme dan keberadaan substrat kitin. Berat molekul enzim kitinase dari *Streptomyces sp.* strain ANU 6277 sekitar 45 kDa dan dari *Bacillus sp.* D2 sekitar 30 kDa. Sebagian besar kitinase lebih spesifik terhadap substrat koloidal kitin. Aktivitas optimum enzim kitinase berada pada kisaran suhu 30-40°C dan pH 5-7. Kestabilan enzim kitinase berada pada kisaran suhu 30-45°C dan pH 4-8. Enzim kitinase telah banyak digunakan untuk pengolahan limbah dan agen biokontrol hama tanaman. Hasil hidrolisis kitinase dapat digunakan sebagai anti tumor, suplemen, mengontrol kadar gula dalam darah, bahan dasar pembuatan benang operasi, dan anti *inflammatory*.

Kata Kunci: Bakteri Kitinolitik, Enzim Kitinase, Karakteristik Enzim Kitinase, Purifikasi Enzim Kitinase

ABSTRACT

*Chitinase is enzyme that hydrolyze chitin compound in β -1,4-N-acetyl-glucosamine into monomer N-acetyl-glucosamine, which widely occurs in nature. Chitinase enzyme is produced by chitinolytic microorganism which are mostly found in soil and water. Characteristic of chitinase enzyme are various depend on types of microorganism and the presence of chitin substrate. The molecular weight of chitinase enzymes of *Streptomyces sp.* strain ANU 6277 is about 45 kDa and *Bacillus sp.* D2 is about 30 kDa. The most of chitinases are more specific to colloidal chitin substrate. The optimum activity of chitinase enzyme in the range of temperature 30-40°C and pH 5-7. The stability of chitinase enzyme in the range of temperature 30-45°C and pH 4-8. Chitinase enzymes have been widely used for sewage treatment and biocontrol agents of plant pests. Chitinase hydrolysis results can be used as anti-tumor, supplements, controlling blood sugar levels, the manufacture of thread operations and anti inflammatory.*

Keywords: Characterization of Chitinase Enzyme, Chitinase, Chitinolytic Bacteria, Purification of Chitinase Enzyme

PENDAHULUAN

Kitin merupakan biopolimer yang banyak terdapat di alam yang tersusun atas β -1,4-N-asetil-D-glukosamin (GlcNac). Kitin menempati urutan terbesar kedua setelah selulosa dan banyak ditemukan pada berbagai organisme seperti bakteri, serangga, cendawan, tanaman dan hewan. Kitin terdapat sebagai komponen penyusun tubuh udang, kepiting, serangga, kerang, cumi-cumi, hewan artropoda lainnya, dan merupakan komponen dinding

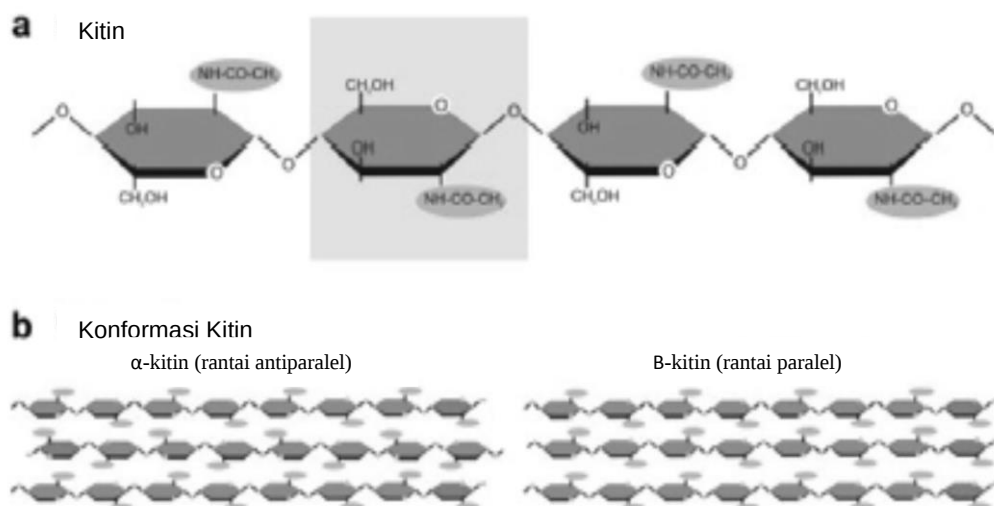
sel dari banyak fungi dan alga. Ukuran molekul kitin relatif besar dan kelarutan kitin rendah serta sulit diserap tubuh manusia, sehingga aplikasi kitin terbatas dan menyebabkan kitin menjadi sumber utama pencemaran senyawa organik[1].

Kitinase adalah enzim yang akan mengkatalisis pemecahan senyawa polimer kitin pada ikatan glikosidik β -1,4. Kitinase terdapat di berbagai organisme dan diklasifikasikan dalam famili 18, 19 dan 20 glikosida hidrolase. Enzim kitinase dihasilkan oleh bakteri, fungi, tanaman, dan hewan. Enzim kitinase saat ini banyak digunakan sebagai agen biokontrol karena dapat mendegradasi kitin menjadi produk yang ramah lingkungan dan dapat digunakan dalam bidang kesehatan, pangan, industri dan lain-lain [2].

Mikroorganisme pendegradasi kitin umumnya berasal dari kelompok bakteri. Kelompok mikroorganisme yang telah dilaporkan memiliki aktivitas kitinolitik adalah *Aeromonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Serratia sp.*, dan *Vibrio sp.* Mikroorganisme kitinolitik mampu menghasilkan enzim kitinase dan memanfaatkan kitinase untuk asimilasi kitin sebagai sumber karbon dan nitrogennya. Keberadaan bakteri kitinolitik di lingkungan tanah, air, dan lingkungan di sekitar limbah dapat dimanfaatkan untuk memproduksi enzim kitinase dengan cara isolasi dan skrining. Isolat yang memiliki aktivitas kitinolitik diinkubasi untuk dapat memproduksi enzim. Enzim tersebut kemudian diekstrak, dipurifikasi, dan diuji aktivitasnya.

Kitin

Kitin adalah polimer linier yang tersusun oleh monomer β -1,4-N-asetil-D-glukosamin (GlcNac) dan termasuk golongan polisakarida. Kelimpahan kitin di alam menempati urutan terbesar kedua setelah selulosa dan terdistribusi luas dilingkungan biosfer seperti kulit *crustaseae* (kepiting, udang dan lobster), ubur-ubur, komponen struktural eksoskeleton serangga, dinding sel fungi (22-40%), alga dan nematoda, binatang maupun tumbuhan. Ukuran molekul kitin relatif besar dan kelarutan kitin rendah serta sulit diserap tubuh manusia, sehingga aplikasi kitin terbatas dan menyebabkan kitin menjadi sumber utama pencemaran senyawa organik [1]. Kitin memiliki kandungan nitrogen sebesar 6,98% sehingga dapat digunakan sebagai agen pengkelat. Kitin pada rantai polimer N-asetil-glukosamin memiliki ikatan hidrogen antara gugus NH dari satu rantai dan gugus C=O dari rantai yang berdekatan sehingga membentuk mikrofibril, memiliki struktur yang rigid dan tidak dapat larut dalam air [4]. Tingkat kekerasan dan fleksibilitas kitin berbeda-beda tergantung pada bagian tubuh arthropoda [5].



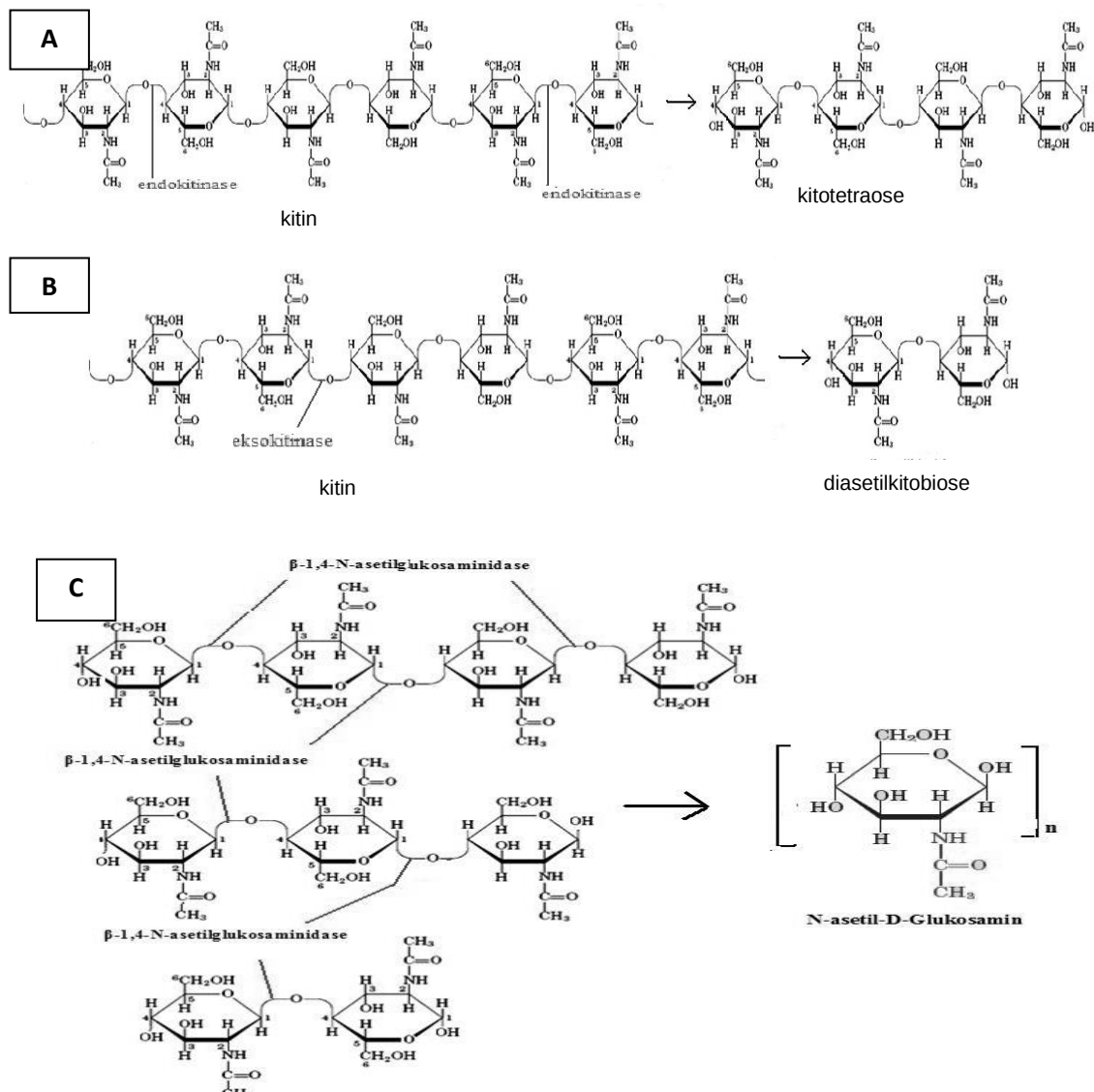
Gambar 1. Struktur kimia dari kitin [3]

Degradasi kitin dapat dilakukan dengan 2 cara antara lain dengan mekanisme kitinolitik yang akan menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosida dan dengan deasetilasi kemudian

dihidrolisis oleh kitosanase. Pengolahan limbah untuk mendapatkan kitin dapat dilakukan dengan cara demineralisasi dan deproteinasi melalui penambahan asam atau basa kuat [2]. Metode biokimia mudah dikendalikan, terurai secara biologis, dan dapat membentuk oligomer atau polimer yang diinginkan [6,7].

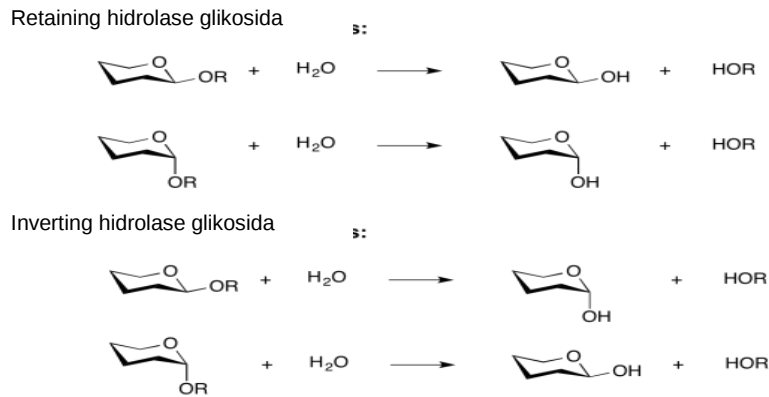
Enzim Kitinase

Enzim kitinase mampu menghidrolisa senyawa polimer kitin menjadi kitin oligosakarida atau monomer N-asetil glukosamin dengan menghidrolisis kitin secara acak pada ikatan glikosidik. Ada 3 jenis enzim kitinase yang dibedakan berdasarkan cara kerjanya dalam mendegradasi kitin, yaitu eksokitinase, endokitinase dan N-asetil-glukosaminidase. Eksokitinase memotong polimer kitin hanya dari ujung non reduksi. Endokitinase memotong polimer kitin secara acak dan menghasilkan dimer, trimer, tetramer, dan oligomer gula. N-asetil-glukosaminidase yang memutuskan diasetilkitobiosa dan menghasilkan N-asetil-glukosamin [2].



Gambar 2. A)Reaksi pemutusan ikatan β -1,4 pada bagian internal mikrofibril kitin;B) Reaksi pembebasan unit-unit diasetilkitobiose oleh enzim eksokitinase;C) Reaksi pemutusan diasetilkitobiose,kitotriose dan kitotetraose dan menghasilkan monomer-monomer GlcNAc [8,9,10]

Kitinase dikelompokkan menjadi 3 keluarga (*family*) glikosil hidrolase yaitu keluarga (*family*) 18, 19 dan 20. Kitinase yang dihasilkan organisme prokariotik dan eukariotik termasuk dalam golongan famili 18 sedangkan pada famili 19, enzim kitinase ditemukan pada bakteri Gram positif, *Streptomyces*, dan tanaman tingkat tinggi [11]. Pada umumnya mekanisme hidrolisis enzim kitinase adalah *double-displacement retaining mechanism* dan *single-displacement inverting mechanism* [12].



Gambar 3. Mekanisme reaksi katalisis kitin oleh kitinase [9]

Secara umum enzim kitinase tergolong dalam kelompok enzim hidrolase sesuai dengan penjelasan tabel dibawah ini.

Tabel 1. Pengelompokan enzim kitinase

Kelas Enzim	Nama Enzim	Reaksi	Struktur	Mekanisme Reaksi
Hidrolase	Kitinase [(EC 3.2.1.14)	mendegradasi kitin menjadi oligosakarida nya	terdiri dari 3 domain yaitu domain N-terminal , α/β -barrel domain, dan $\alpha+\beta$ -fold (<i>insertion</i> domain).	Mekanisme reaksi katalisis kitin oleh kitinase memiliki dua jenis yaitu <i>Double-displacement retaining mechanism</i> dan <i>Single-displacement Inverting Mechanism</i> .
Residu Katalitik	Inhibisi/ Stimulus	Isolasi/ Purifikasi	Aplikasi	Keterangan
Residu katalitik pada kitinase family 18 yaitu Glu315 dan Asp391. Sedangkan pada kitinase dari family 19 yang yaitu Glu89 dan Glu67	Kitinase diinhibisi secara kompetitif oleh senyawa xanthine (cafein)	dapat diisolasi dari berbagai sumber seperti jamur, tanaman, serangga, virus dan bakteri.	digunakan sebagai antifungal, bahkan produk dari degradasi kitinase telah diteliti memiliki potensi sebagai antikanker	Merupakan enzim kompleks yang tergolong menjadi tiga yaitu: Endokitinase, Eksokitinase, dan β -(1,4)N-asetilglukominidase.

Sumber: [13]

Mikroorganisme Kitinolitik

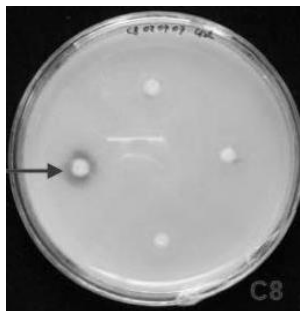
Mikroorganisme kitinolitik adalah mikroorganisme yang memiliki aktivitas kitinolitik, yaitu dapat mendegradasi kitin menggunakan enzim kitinase yang dihasilkan. Mikroba tersebut dapat diperoleh dari berbagai sumber lingkungan tanah, laut, danau, kolam, tempat pembuangan limbah udang dan sebagainya. Sampai saat ini telah banyak penelitian yang membahas tentang isolasi, skrining, dan karakterisasi enzim kitinase dari berbagai sumber untuk mengatasi masalah limbah seperti limbah udang. Beberapa peneliti telah berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri kitinolitik dari tanah yaitu *Serratia marcescens* [9], *Streptomyces* sp [14], *Bacillus* sp. dari rizosphere cabe [15], *Pseudomonas* sp, *Alkaligenes denitrificans*, *Aeromonas hydrophila*, dan *Agrobacterium* sp dari danau Jeziorak [16]. Bakteri kitinolitik *Bacillus licheniformis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus licheniformis* dan *B. thuringiensis* diperoleh dari tanah rizosfer [17]. Bakteri *Vibrio* sp. diisolasi dari sampel tanah di pusat pendaratan Cuddalore, Tamil Nadu, India [18]. *Bacillus* sp. telah diisolasi dari sumber air panas Danau Ranau, Sumatera Selatan [19].

Lingkungan suhu mikroba berpengaruh terhadap stabilitas enzim yang dihasilkan. Pada lingkungan biosfer yang mengandung banyak kitin, kemungkinan akan terdapat mikroorganisme penghasil kitinase. Berbagai organisme kitinolitik dapat menghasilkan beragam jenis kitinase dengan karakteristik dan spesifitas terhadap substrat yang bervariasi. Beragamnya kemampuan bakteri menghasilkan jenis enzim kitinase tersebut mungkin merupakan usaha penyesuaian terhadap berbagai jenis, tipe, dan struktur kitin yang tersedia di alam [20]. Karakteristik kitinase sangat beragam, dapat diketahui dari studi dasar terkait peran biologis mereka terhadap degradasi kitin [1].

Isolasi dan Skrining Enzim Kitinase

Isolasi bakteri dilakukan untuk mendapatkan isolat bakteri tunggal. Bakteri penghasil kitinase dapat diperoleh dari sumbernya dengan ditumbuhkan dalam media yang mengandung kitin. Mikroba penghasil kitinase diisolasi dengan menggunakan metode pengenceran seri bertingkat (dari 10^{-2} hingga 10^{-7}). Sampel dari pengenceran seri di transfer ke media agar kitin dengan metode pour plate dan diinkubasi dengan suhu dan waktu tertentu. Skrining bakteri kitinolitik dilakukan untuk mengetahui bakteri yang memiliki aktivitas kitinase tinggi dengan cara ditumbuhkan pada media agar kitin, lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu tertentu. Mikroorganisme kitinolitik ditandai dengan adanya zona bening yang muncul di sekitar bakteri yang berarti bakteri tersebut telah berhasil mendegradasi media agar koloidal kitin [21]. Koloidal kitin merupakan kitin yang dilarutkan dengan asam klorida pekat dan merupakan substrat yang sangat efektif untuk menentukan aktivitas kitinase bila dibandingkan dengan serbuk kitin [1].

Isolat bakteri yang telah diisolasi dan memiliki aktivitas kitinolitik selanjutnya diukur diameter zona bening untuk menentukan indeks kitinolitik. Ukuran diameter zona bening yang dihasilkan menunjukkan jumlah monomer N-asetil glukosamin yang terbentuk dari hasil pemecahan kitin oleh enzim kitinase. Jika semakin besar zona bening yang terbentuk, maka semakin banyak enzim kitinase yang dihasilkan sehingga aktivitas kitinolitik dari isolat bakteri akan semakin tinggi. Isolat yang memiliki aktivitas kitinolitik tinggi kemudian dipilih untuk memproduksi enzim [11].



Gambar 4. Zona bening yang terbentuk setelah inkubasi 96 jam [22]

Pada penelitian menggunakan tanah rizosfer di Mesir, sampel tanah diambil sebanyak 5 gram dilarutkan dengan 50 ml larutan garam steril dan dilakukan pengenceran sepuluh kali. Pengenceran tertinggi yang dipilih untuk dilakukan isolasi. Media yang digunakan terdiri dari Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NH_4Cl , NaCl , ekstrak ragi, koloidal kitin 1,0 % (b/v), agar, dan akuades. Terdapat 4 jenis isolat yang ditemukan, isolat tersebut kemudian diidentifikasi dan diketahui sebagai *Bacillus licheniformis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *B. licheniformis* dan *B. thuringiensis* [17]. Bakteri dari tanah pusat pendaratan Cuddalore, India diisolasi dan skrining. Sampel tanah tersebut dilakukan pengenceran dari 10^{-1} hingga 10^{-5} , kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 2 minggu. Diketahui bahwa isolat bakteri tersebut merupakan *Vibrio* sp [18].

Produksi Enzim Kitinase

Produksi enzim kitinase dari mikroorganisme lebih baik dibandingkan kitinase dari sumber yang lain karena kemudahannya berkembang biak dalam waktu yang relatif singkat. Produksi enzim kitinase dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media yang mengandung kitin sebagai substrat dan diinkubasi pada waktu, pH, dan suhu tertentu. Faktor waktu, pH, dan suhu inkubasi perlu dikontrol untuk mendapatkan produksi enzim yang maksimal [17]. Berdasarkan penelitian, waktu produksi enzim kitinase dari isolat *Streptomyces* sp. adalah 6 hari ditunjukkan dengan aktivitas paling tinggi sebesar 34 U/ml [3]. Isolat *Streptomyces* sp. ANU 6277 memiliki aktivitas maksimal sebesar 7 U/ml pada jam ke-60 [23]. *Serratia marcescens* selama 72 jam memiliki aktivitas maksimal 10,87 U/ml [24]. Waktu yang dibutuhkan untuk memproduksi enzim kitinase adalah pada fase eksponensial, yang berbeda-beda tergantung pada tiap mikroba [25]. Kondisi pH dan suhu produksi enzim kitinase bervariasi. Pada pH 7 dan suhu 30°C , isolat *Serratia marcescens* memiliki aktivitas maksimal [24]. Pada penelitian [23], suhu 35°C dan pH 6 merupakan kondisi optimum produksi enzim. Isolat *Bacillus licheniformis* memiliki kondisi optimum pH 8 dan suhu 30°C . Aktivitas kitinase juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti suplemen nutrisi yang ditambahkan, konsentrasi koloidal kitin, penambahan sumber karbon, penambahan sumber nitrogen, dan penggunaan detergen [24].

Purifikasi Enzim Kitinase

Setelah produksi enzim, dilakukan ekstraksi enzim dan pemurnian enzim. ekstraksi enzim dilakukan dengan cara sentrifugasi. Purifikasi atau pemurnian merupakan tahap yang penting untuk mendapatkan enzim kitinase yang berkualitas. Keberhasilan purifikasi dilihat dari tingkat kemurnian, rendemen, dan aktivitas spesifik. Semakin tinggi tingkat kemurnian enzim maka semakin tinggi pula aktivitas spesifik enzim [1].

Tahap purifikasi dapat dilakukan bertahap antara lain ekstraksi, pemisahan enzim seperti presipitasi, sentrifugasi, dialisis dan filtrasi. Tahap pemurnian dengan dialisis dilakukan untuk memisahkan senyawa dengan berat molekul lebih rendah dari sampel menuju larutan buffer melalui membran semipermeabel. Protein dengan berat molekul tinggi akan tertahan dalam kantong dialisis [26]. Pemurnian lebih lanjut dapat dilakukan dengan kolom kromatografi yang diklasifikasikan berdasarkan ukuran, partikel, muatan listrik, afinitas, suhu, densitas dan solubilitas [1]. Purifikasi dapat dilakukan dengan *chitinase assay* dan elektroforesis gel poliakrilamid. Hasil purifikasi dengan SDS-PAGE pada penelitian menunjukkan adanya enzim kitinase pada pita protein sekitar 45kDa oleh *Streptomyces* sp. strain ANU 6277 [23], sedangkan untuk bakteri *Streptomyces* sp. menunjukkan enzim kitinase berada pada pita band 43 kDa [14] dan kitinase dari bakteri *Bacillus* sp. D2 memiliki berat molekul sekitar 30 kDa [27]. Purifikasi yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri *Streptomyces* sp. memproduksi enzim kitinase lebih banyak dibandingkan lainnya [23].

Pemurnian dengan pengendapan menggunakan garam ammonium sulfat telah umum dilakukan. Penggunaan garam ammonium sulfat lebih banyak digunakan karena garam ini mempunyai kelarutan yang tinggi, pH moderat, harga relatif lebih murah, tidak bersifat toksik, dan tidak mempengaruhi enzim [28]. Akan tetapi metode pemurnian dengan garam ammonium sulfat kurang spesifik bekerja terhadap enzim yang diinginkan, karena garam tersebut berfungsi mengendapkan protein. Kelemahan dari ammonium sulfat yaitu

tidak dapat mengendapkan seluruh protein yang telah larut, bila mengandung logam dapat merusak enzim [29]. Tingkat kemurnian kitinase dari isolat *Metarhizium anisopliae* dengan ammonium sulfat 85% mencapai 2.21 kali [30]. Enzim kitinase dari *Streptomyces* sp. M-20 yang diendapkan dengan ammonium sulfat 75% memiliki tingkat kemurnian sebesar 1.90 kali [31]. Kitinase ekstraseluler yang dihasilkan oleh bacterium C4 memiliki tingkat kemurnian sebesar 2.70 kali [32]. Kitinase dari *Streptomyces* sp. ANU 6277 memiliki tingkat kemurnian 2.20 kali [23].

Enzim kitinase dapat dimurnikan berdasarkan ikatan kuat dengan kitin menggunakan koloidal kitin. Metode tersebut merupakan metode sederhana dan efektif karena enzim yang diinginkan dapat dengan mudah didapatkan melalui ikatan enzim-substrat. Supernatan berupa enzim kasar ditambah dengan substrat koloidal kitin. disentrifuse dan supernatan dibuang. Pelet dicuci dengan bufer natrium fosfat pH 7 untuk menghilangkan protein yang tidak terikat dengan substrat. Pelet ditambah bufer dan diinkubasi 3-5 hari untuk membebaskan enzim. Selanjutnya disentrifugasi, pelet dibuang dan supernatan berupa campuran enzim dan bufer kemudian didialisis [33]. Metode afinitas substrat dapat meningkatkan aktivitas spesifik enzim kitinase sebesar 2.88 kali [33] dan 1.04 kali [34].

Aktivitas Enzim Kitinase

Aktivitas kitinase ditentukan secara kolorimetri dengan alat spektrofotometer. Hasil pemecahan kitin yang berupa N-asetil glukosamin (GlcNAc) digunakan sebagai standar untuk gula reduksi. Aktivitas kitinase ditentukan berdasarkan kurva standar N-asetil glukosamin yang dibuat dengan mengukur absorbansi dari campuran antara larutan N-asetil glukosamin (berkisar antara 0 hingga 500 μ l) dengan akuades (berkisar antara 500 hingga 0 μ l) dan 500 μ l reagen schale. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan 1 μ mol N-asetil-D-glukosamin per menit [35].

Karakterisasi enzim kitinase telah banyak dilakukan. Karakterisasi enzim kitinase yang umum dilakukan antara lain spesifisitas substrat, penentuan suhu dan pH optimum, kestabilan enzim terhadap pH dan suhu. Setiap enzim memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam mendegradasi substrat dan spesifik terhadap substrat yang berbeda-beda. Enzim kitinase dari isolat *Pseudomonas* sp. TKU015 spesifik terhadap substrat koloidal kitin dan kitin [39]. Enzim kitinase dari isolat *Streptomyces* sp. M-20 memiliki aktivitas tertinggi pada substrat koloidal kitin [31]. Kitinase *Streptomyces* sp. PTK19 memiliki aktivitas paling tinggi terhadap substrat glikol kitin [36].

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh adanya pH dan suhu. pH mempengaruhi sifat ionik gugus karboksil dan gugus amino yang menyebabkan perubahan daerah katalitik dan konformasi enzim [37]. Enzim kitinase dengan mikroba *Pseudomonas* sp. TKU015 memiliki pH optimum 6 dan stabil pada pH 5-7 [4]. Kitinase isolat *Bacillus* sp. D2 memiliki pH optimum 7 [27]. *Streptomyces* sp. ANU 6277 memiliki pH optimum 6 [23]. Enzim kitinase *Streptomyces* sp. PTK19 memiliki pH optimum 5.50 dan stabil pada pH 4-7 [36]. Enzim kitinase dari isolat *Streptomyces* sp. M-20 memiliki kestabilan pada pH 4-8 [31].

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim. Kenaikan suhu akan meningkatkan energi kinetik sehingga tumbukan antar molekul akan semakin cepat. Semakin sering tumbukan terjadi, maka akan semakin mudah pembentukan kompleks enzim-substrat [26]. *Streptomyces* sp. ANU 6277 memiliki suhu optimum 35°C [23]. *Bacillus* sp. D2 memiliki suhu optimum 30°C [27]. Kitinase dari isolat *Streptomyces* sp. M-20 memiliki aktivitas optimum pada suhu 30°C [31]. Kitinase dari *actinomycete* isolat SB1 dan isolat VB3 serta isolat bakteri SB5 memiliki suhu optimum 37°C [39]. Suhu optimum enzim kitinase *Streptomyces* sp. PTK19 40°C dan stabil pada suhu 30-45°C [36].

Aplikasi Enzim Kitinase

Secara umum, enzim kitinase dimanfaatkan sebagai agen biokontrol hama tanaman dan untuk pengolahan limbah industri yang mengandung kitin, seperti industri pembekuan udang, kerang, dan kepiting. Pabrik pembekuan udang menghasilkan limbah cangkang yang jika tidak didegradasi dapat menyebabkan pencemaran lingkungan karena meningkatkan BOD dan COD [8]. Dengan adanya kitinase, proses penguraian kitin dapat berlangsung

secara kontinyu sehingga tidak terjadi akumulasi kitin dari limbah industri dan sisa cangkang kepiting, udang, kerang, dan organisme laut lainnya.

Di bidang pertanian, kitinase berfungsi sebagai agen biokontrol terhadap hama serangga dan fungi patogen yang memiliki komponen kitin pada dinding sel. Sebagai agen biokontrol, enzim kitinase dan protease berperan dalam proses pembunuhan larva *Haemonchus contortus* dengan cara mendegradasi dan melisiskan dinding kulit larva cacing. Setelah larva tersebut mati, mikroba kitinolitik akan berkembang biak dan mengambil nutrisinya [40]. Kitinase yang dihasilkan oleh *Bacillus cereus* efektif menghidrolisis eksoskeleton *Bemisia tabaci* (whitefly) yang merupakan hama tanaman [41]. Penggunaan enzim kitinase dilakukan dengan cara penyemprotan langsung pada daun dan buah-buahan. Terbukti pada tanaman strawberry yang menunjukkan tidak ada serangga atau jamur patogen. Enzim kitinase hasil isolasi dari bakteri tanah rizosfer yang telah diidentifikasi sebagai *Bacillus sp.* terbukti dapat berperan sebagai agen biokontrol jamur *Rhizoctonia solani* [17]. Saat ini sedang dikembangkan upaya pengontrolan hama yang ramah lingkungan karena fungisida yang telah umum digunakan dapat menyebabkan resistensi patogen meningkat dan berdampak terhadap manusia dan lingkungan. Penelitian [42] menunjukkan kitinase dari *Bacillus thuringiensis* dan *Bacillus licheniformis* memiliki aktivitas tertinggi untuk menghambat pertumbuhan jamur *A.niger*, sehingga perkecambahan bibit kedelai meningkat menjadi 80% dan 70%.

Senyawa-senyawa hasil degradasi kitinase pada kitin membentuk senyawa turunan kitin seperti karboksimetil kitin, hidroksietil kitin dan etil kitin yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Dalam bidang kedokteran senyawa turunan kitin dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan benang operasi yang mempunyai keunggulan dapat diserap dalam jaringan tubuh, tidak toksik dan dapat disimpan dalam waktu yang lama. Kitoheksosa dan kitoheptosa memperlihatkan aktivitas anti tumor [8,9]. Monomer dari kitin yaitu N-Asetil-Dglukosamin dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi, diantaranya dapat digunakan sebagai obat untuk mengontrol kadar gula dalam darah, sebagai suplemen, anti *inflammatory* dan dalam dunia 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 [15].

SIMPULAN

Mikroorganisme kitinolitik dapat diperoleh dari berbagai sumber. Mikroba kitinolitik dilakukan isolasi dan skrining untuk mendapatkan bakteri yang paling baik kemudian digunakan untuk produksi dan purifikasi enzim kitinase. Mikroba yang menghasilkan enzim kitinase akan menghasilkan zona bening di sekitar koloni mikroba. Aktivitas enzim kitinase beragam, tergantung pada jenis mikroorganisme dan keberadaan substrat kitin. Karakteristik enzim kitinase bervariasi tergantung pada sumbernya. Berat molekul enzim kitinase dari *Streptomyces sp.* strain ANU 6277 sekitar 45 kDa dan dari *Bacillus sp.* D2 sekitar 30 kDa. Sebagian besar kitinase lebih spesifik terhadap substrat koloidal kitin. Aktivitas optimum enzim kitinase berada pada kisaran suhu 30-40°C dan pH 5-7. Kestabilan enzim kitinase berada pada kisaran suhu 30-45°C dan pH 4-8. Enzim kitinase telah banyak digunakan untuk pengolahan limbah dan agen biokontrol hama tanaman. Hasil hidrolisis kitinase dapat digunakan sebagai anti tumor, suplemen, mengontrol kadar gula dalam darah, bahan dasar pembuatan benang operasi, dan anti *inflammatory*.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Haliza W. dan Suhartono M.T. 2012. Karakteristik Kitinase dari Mikrobial. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian* 8:1.
- 2) Herdyastuti N, Raharjo T.J, Mudasir, dan Matsjeh S. 2009. Chitinase and Chitinolytic Mikroorganism: Isolation, Characterization and Potential. *J. Chem.* 9:1, 37-47.
- 3) Verena, S. 2008. Chitinases of Filamentous Fungi: A Large Group of Diverse Proteins with Multiple Physiological Functions. *Fungal Biology Reviews.* 22:1, 36-42.

- 4) Widhyastuti, N. 2010. Purifikasi N-asetil-D-glukosamina Hasil Sintesa Secara Enzimatis Untuk Bahan Obat dan Pangan Fungsional. Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bogor.
- 5) Saguez, J., Vincent, C. and Giordanengo, P. 2008. Chitinase Inhibitors and Chitin Mimetic for Crop Protection. *Pest technology*. 2:2, 81-86.
- 6) Gohel V., Singh A, Vimal M, Ashwini P, and Chhatpar HS. 2008. Bioprospecting and Antifungal Potensial of Chitinolytic Microorganisms. *African Journal of Biotechnology*. 5:2, 54-72.
- 7) Tsigos I, Martinou A, Kafetzopoulos D, and Bouriotis V. 2000. Chitin Deacetylase: New, Versatile Tools in Biotechnology. *TIBTECH*. 18, 305-311.
- 8) Harman, G.E. dan Tronsmo, A. 1993. Detection and Quantification of N-Acetyl- Beta-D-glucosaminidase, Chitobiosidase, and Endochitinase In Solutions and on Gels. *Analitical. Biochemistry*. 208, 53-57.
- 9) Patil RS, Ghormade V, Deshpande MV. 2000. Chitinolytic Enzymes: An Exploration. *Technol* 26, 473-483.
- 10) Suryanto, D., dan Munir. 2006. Potensi Pemanfaatan Isolat Bakteri Kitinolitik Lokal Untuk Pengendalian Hayati Jamur [serial online]. *Prosiding Seminar hasilhasil penelitian. Universitas sumatera utara, 2006*. http://www.usu.ac.id/id/files/artikel/erman_munir/indonesia/2006_usu.pdf, [18 Februari 2012].
- 11) Susi. 2002. *Isolasi Kitinase dari Scleroderma columnae dan Trichoderma harzianum*. Jurnal Ilmu Dasar 3(1) : 30 – 35.
- 12) Dahiya, N., Tewari, R, Hoondal, G.S. 2006. Biotechnological Aspect of Chitinolytic Enzymes: a Review. *Appl Microbiol Biotechnol*. 71, 773-782.
- 13) Bolly, H.M.B. 2010. Enzimologi. ITB. Bandung.
- 14) Uma C, Arulraj C, Ravikumar G, et.al. 2012. Production and Purification of Chitinase by *Streptomyces* sp. from soil. *J. Adv. Sci. Res*. 3:3, 25-29.
- 15) Nurdebyandaru N, Mubarik NR, Prawasti T. 2010. Chitinolytic Bacteria Isolated from Chili Rhizosphere: Chitinase Characterization and Application as Biocontrol for *Aphis gossypii*. *Ind. J. Microbiol*. 4:3, 103-107.
- 16) Donderski, W. and Brzezinska, M.S. 2003. *The Utilization of N-acetylglucosamine and Chitin as Sources of Carbon and Nitrogen by Planktonic and Benthic Bacteria in Lake Jeziorak*. Polish Journal of Enviromental Studies. 12:6, 685-692.
- 17) Kamil Z., M. Rizk, M. Saleh and S. Moustafa. 2007. *Isolation and Identification of Rhizosphere Soil Chitinolytic Bacteria and their Potential in Antifungal Biocontrol*, Global Journal of Molecular Sciences 2:2, 57-66, 2007. IDOSI Publications.
- 18) Revathi M., Ramachandran Saravanan, Annaian Shanmugam. 2012. *Production and characterization of chitinase from Vibrio species, a head waste of shrimp Metapenaeus dobsonii (Miers, 1878) and chitin of Sepiella inermis Orbigny, 1848*. Advances in Bioscience and Biotechnology, 2012, 3, 392-397. Published Online August.
- 19) Muharni. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Kitinase dari Sumber Air Panas Danau Ranau Sumatera Selatan*. Jurnal Penelitian Sains Edisi Khusus Juni (D) 10, 06-09.
- 20) Nasran S., Farida A., dan Ninoek I. 2003. *Produksi Kitinase dan Kitin Deasetilase Dari Vibrio harveyi*. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia 5:9.
- 21) Rebecca LJ, Susithra, Sharmila S, Das MP. 2013. Isolation and Screening of Chitinase Producing *Serratia marcescens* from Soil. *J. Chem. Pharm. Res*. 5:2, 192-195.
- 22) Apriani, L. 2008. Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Kitinolitik Serta Pengujian Beberapa Variasi Suhu dan pH Untuk Produksi Enzim. Skripsi. Universitas Indonesia. Depok.
- 23) Narayana K, Vijayalakshmi M. 2009. Chitinase Production by *Streptomyces* sp. ANU 6277. *J. Microbial*. 40, 725-733.
- 24) Bhattacharya S, Chakraborty S, Das A. 2012. Optimization of Process Parameters for Chitinase Production by a Marine Isolate of *Serratia marcescens*. *J. Pharm. Biol. Sci*. 2:2, 8-20
- 25) Matsumoto, Y. Saucedo-Castañeda, G. Revah, S. and Shirai K. 2006. *Process Biochemistry*. 39:6, 665-671.

- 26) Nelson, D.L. and M. M. Cox. 2000. *Lehninger Principles of Biochemistry* – Third Edition. Worth Publisher. New York.
- 27) Margino, S., Behar, C., and Asmara, W. 2012. Isolation and Purification of Chitinase *Bacillus* sp. D2 Isolated from Potato Rhizosfer. *Indonesian Journal of Biotechnology* 17:1, 69-78.
- 28) Rochima, E. 2006. Pemurnian dan karakterisasi Kitin Deasetilase Termostabil dari *Bacillus papandayan* Asal Kawah Kamojang Jawa Barat. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran, Jatinagor. Bandung 8, 193-209.
- 29) Dewi, I.M. 2008. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Kitinase Termofilik Kasar dari Sumber Air Panas Tinggi Raja, Simalungun Sumatera Utara. Tesis Program Pasca Sarjana. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- 30) Kang, S.C., Park, S., Lee, D.G. 1999. Purification and Characterization of a Novel Chitinase from the Entomopathogenic Fungus, *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 73, 276-281.
- 31) Kim, K., Yang, Y., and Kim, J. 2003. Purification and Characterization of Chitinase from *Streptomyces* sp. M-20. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 36:2, 185-189.
- 32) Yong, T., Hong, J., Zhangfu, L., Li, Z., Xiuqiong, D., Ke, T., Shaorong, G. and Shigui, L. 2005. Purification and Characterization of an Extracellular Chitinase Produced by Bacterium C4. *Annals of Microbiology* 55:3, 213-218.
- 33) Hamid, R., Mahboob, A., Ahmad, M.M., Abdin, M.Z., and Javed, S. 2013. Purification and Characterization of Thermostable Chitinase from A Novel *S. Maltophilia* Strain. *Malaysian Journal of Microbiology* 9,1, 7-12.
- 34) Sakai, K., Yokota, A., Kurokawa, K., Wakayama, M., and Moriguchi, M. 2013. Purification and Characterization of Three Thermostable Endochitinases of A Noble *Bacillus* Strain, MH-1, Isolated from Chitin-Containing Compost. *Appl. Environ. Microbio.* 1998, 64:9, 3397.
- 35) Novitasari P. 2013. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Kitinolitik Penghambat Pertumbuhan Cendawan Patogen Asal Kokon Cricula trifenestrata*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- 36) Thiagarajan, V., Revathi, R., Aparanjini, K., Sivamani, P., Girilal, M., Priya, C.S., and Kalaichelvan, P.T. 2011. Extra cellular Chitinase Production By *Streptomyces* sp. PTK19 in Submerged Fermentation and Its Lytic Activity on *Fusarium oxysporum* PTK2 Cell Wall. *Int. J. Curr. Sci.* 1, 30-44.
- 37) Girindra, A. 1993. *Biokimia I*, cetakan 3. Gramedia. Jakarta. Hal. 100-101.
- 38) Wang, S.L., Chen, S. and Wang, C.L. 2008. Purification and Characterization of Chitinase and Chitosanases from A New Species Strain *Pseudomonas* sp. TKU015 Using Shrimp Shell as A Substrate. *Carbohydrate Research* 343, 1171-1179.
- 39) Bansode, V.B. and Bajekal, S.S. 2006. Characterization of Chitinase from Microorganisms Isolated from Lonar Lake. *Indian Journal of Biotechnology* 5, 357-363.
- 40) Ahmad R.Z. 2007. *Aktivitas Enzim Kitinase dan Protease Pada Cendawan Nematofagus (Duddingtonia flagrans Dan Saccharomyces cereviseae)*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- 41) Koga, D. 2005. *Application of chitinase in agriculture*. *J. Met. Mater. Miner.* 15, 33-36.
- 42) Gomaa, E.Z. 2011. Chitinase Production by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus licheniformis*: Their Potential in Antifungal Biocontrol. *Journal of Microbiology* (2012) 50:1, 103-111.