

ISBN: 978-979-530-132-5

BUKU PROSIDING

III. A. 1. c.1. b. / 44

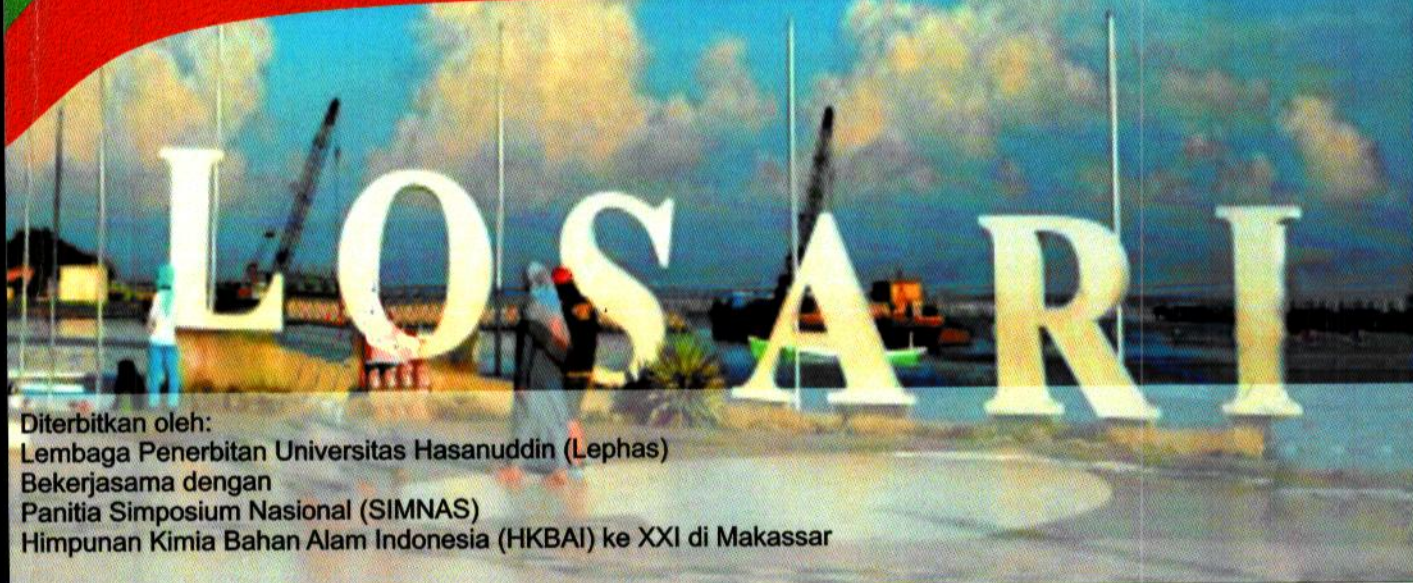
III. A. 1. c.1. b. / 45



Simposium Nasional

Kimia Bahan Alam ke XXI – 2013 (SimNasKBA-2013)
Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia (HKBAI)

Hotel Swiss Bell Inn Makassar, 3 – 5 September 2013



Diterbitkan oleh:
Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin (Lephas)
Bekerjasama dengan
Panitia Simposium Nasional (SIMNAS)
Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia (HKBAI) ke XXI di Makassar



PT. Buchi Indonesia



PT. Vale Indonesia Tbk.



PT. Ditek Jaya

BUKU PROSIDING



Simposium Nasional

Kimia Bahan Alam ke XXI – 2013 (SimNasKBA-2013)
Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia (HKBAI)

Hotel Swiss Bell Inn Makassar, 3 – 5 September 2013

Diterbitkan oleh:
Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin (Lephas)
Bekerjasama dengan
Panitia Simposium Nasional (SIMNAS)
Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia (HKBAI) ke XXI di Makassar



PT. Buchi Indonesia



PT. Vale Indonesia Tbk.



PT. Ditek Jaya

BUKU PROSIDING

Simposium Nasional Kimia Bahan Alam ke XXI – 2013 (SimNasKBA-2013)

Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia (HKBAI)

ISBN : 978-979-530-132-5

Jumlah halaman : 170 halaman

Editor : 1. Prof. Dr. Nunuk Harinai Soekamto, MS
2. Dr. Paulina Taba, M.Phill
3. Dr. Sci. Muhammad Zakir

Desain Cover : Iwan Permana & Hariyanto

Layout : Iwan Permana

Diterbitkan oleh : Lembaga Penerbitan Universitas Hasanudin

Bekerjasama dengan

Panitia Simposium Nasional (SIMNAS)

Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia (HKBAI) ke XXI di Makassar

Dicetak oleh : CV.21COM

KATA PENGANTAR

Puji syukur kita panjatkan kepada Allah SWT, karena atas izin-Nya jualah sehingga Buku Prosiding Simposium Nasional ke XXI Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia (SimNasKBA-2013) yang telah diselenggarakan pada hari/tanggal: Kamis, 3 s.d 5 September 2013 di Hotel Swiss Bell Inn Makassar, ini dapat diterbitkan.

Simposium Nasional (SIMNAS) ini merupakan kegiatan tahunan yang diadakan oleh Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia (HKBAI).

Makalah yang termuat dalam prosiding ini merupakan karya ilmiah terpilih melalui proses seleksi yang dilakukan oleh Anggota Tim Penilai Makalah dan Prosiding Simposium Nasional ke XXI (SimNasKBA-2013) Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia (HKBAI).

Penerbitan prosiding ini tidak lepas dari kontribusi berbagai pihak, oleh karena itu Tim Editor mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

- Anggota Tim Penilai Makalah dan Prosiding atas kontribusinya dalam proses penilaian makalah yang masuk,
- Seluruh penulis/pemakalah, dan
- Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin (Lephas) dan CV.21COM yang telah bekerjasama melaksanakan penerbitan dan pencetakan prosiding ini.

Makassar, 10 Februari 2014

Tim Editor

DAFTAR ISI

Judul	Hal.
Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Dan Kulit Batang Sala (<i>Cynometra ramiflora</i> Linn.) terhadap <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Andi Suhendi, Muhtadi, Peni Indrayudha, Tanti Azizah dan Haryoto</i>	1-3
Karakterisasi Senyawa Aktif Antioksidan dan Antibakteri dalam Ekstrak Etanol Buah Namnam (<i>Cynometra cauliflora</i> L.) <i>Dede Sukandar dan Eka Rizki Amelia</i>	4-7
Respon Spermatozoa Manusia Terhadap Gizi Kerang Darah <i>Anadara granosa</i> L. <i>Eddyman W. Ferial</i>	8-11
Peranan Morfologi Dan Tipe Stomata Daun Dalam Mengabsorpsi Karbon Dioksida Pada Pohon Hutan Kota UNHAS Makassar <i>Elis Tambaru, Andi Ilham Latunra dan Sri Suhadiyah</i>	12-17
Isolasi dan Uji Aktivitas Senyawa Steroid Dari Ekstrak Kulit Batang <i>Kleinhovia hospita</i> Linn. <i>Fitriani, Sugiarti, Iwan Dini dan Darminto</i>	18-22

Judul	Hal.
Sitotoksitas Ekstrak Etanolik Kulit Batang dan daun Tumbuhan Sala (<i>Cynometra ramiflora</i> Linn)	23-26
<i>Haryoto, Muhtadi, Tanti Azizah, Peni Indrayudha, dan Andi Suhendi</i>	
Isolasi dan Pemurnian Enzim Selulase dari Keong Sawah <i>Pila ampullacea</i> Menggunakan Serbuk Gergaji Kayu	27-30
<i>Hasty Hamzah, Abd. Rauf Patong dan Seniwati Dali</i>	
Toksitas Akut Oral Ekstrak Etanol Ketumpangan Air (<i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth)	31-36
<i>Indah Dwiatmi Dewijanti, Marissa Angelina, Sri Hartati, dan Betty E</i>	
Produksi dan Aplikasi Kitin Deasetilase dari <i>Bacillus licheniformis</i> HSA3-1a Sebagai Biotermitisida (Anti Rayap)	37-42
<i>Ischaidar, Abdur Rahman Arif, Hasnah Natsir, dan Seniwati Dali</i> → 13-19	
Peranan Logam Esensial Cu terhadap Bioaktivitas Sponge (Porifera)	43-47
<i>Lydia Melawaty, Alfian Noor, Tjodi Harlim, dan Nicole de Voogd</i>	

Judul	Hal.
Optimasi Degradasi Lignin Dari Tongkol Jagung Menggunakan <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Lentinus edodes</i> dan <i>Pleurotus ostreatus</i> <i>Mahyati, Abdul Rauf Patong, Muh. Nasir Djide, dan Paulina Taba</i>	48-51
Sintesis 2-Etilheksil Oleat sebagai Aditif Penurun <i>Cloud Point</i> Biodiesel Sawit <i>Mardiyanti Dwi Saptarini, Dewi Meliati Agustini, dan Tirto Prakoso</i>	52-57
Karakterisasi dan Uji Toksisitas Akut dari Ekstrak Etanol Tanaman Lokio (<i>Alium chinense</i>) <i>Marissa Angelina, Sri Hartati, dan Indah Dwiyanti</i>	58-64
Kandungan Fitokimia dan Aktivitas Antimalaria in-vivo Ekstrak Kayu Ular (<i>Strychnos ligustrina</i>) <i>Maximus M. Taek</i>	65-69
Pencelupan Kain Sutra dengan Ekstrak Etanol Kulit Buah Galinggem dengan Teknik Jumpitan pada Variasi Jenis dan Konsentrasi Basa <i>Nur Fitri, Dewi Meliati Agustini, Kurniawan, Ajeng T. Syawalia, Ockky Muhammad Iqbal, Panji Febriadi Hussein, dan Iqbal Nazri Adlani Syam</i>	70-76
Produksi Dan Aplikasi Kitin Deasetilase Dari Bakteri <i>Bacillus Licheniformis</i> Hsa3-1a Sebagai Antimikroba <i>Abdur Rahman Arif, Ischaidar, Hasnah Natsir, Seniwati Dali</i>	77-82

Judul	Hal.
Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak n-Heksan dari Daun Keremunting yang Beraktivitas sebagai Anti Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> <i>Rahmaniar Mulyani, Yenny Febriani Yun, Yusi Fudiesta, dan Doni Respati Alfrilindo</i>	83-89
Bioaktivitas Ekstrak dan Fraksi dari Daun dan Kuncup Bunga Tanaman Hias <i>Hydrangea macrophylla</i> (Thunb) terhadap Sel <i>Murine</i> Leukemia P388 <i>Riska Fatmawati, Dewi Meliati Agustini, Kalih Novasa, Nenden Sri Mulya Sari, dan Kurnia Permadi</i>	90-95
Uji Fitokimia dan Potensi Antibakteri dari Ekstrak Daun <i>Melochia umbellata</i> (Houtt) Stapf var <i>Degrabrata</i> <i>Selfi Wullur, Nunuk Hariani Soekamto, Firdaus Zenta, dan Hasnah Natsir</i>	96-100
Ekstrak Daun Tanaman Pare (<i>Momordica charantia</i> L) Dapat Meningkatkan Superoksid Dismutase (SOD), HDL (<i>High Density Lipoprotein</i>), dan Menurunkan Malondialdehid pada Tikus Wistar Hiperkolesterolemia <i>Sri Wahjuni</i>	101-107
Pemberian Ekstrak Bunga Wijaya Kusuma (<i>Epiphyllum oxypetalum</i>) Dapat Meningkatkan Superoxide Dismutase Serta Menurunkan Sel Vasculer Adhesi Molekul-1 (VCAM-1) Pada Endotel Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia <i>Sri Wahjuni, A. Al. Mayun Laksmiwati, Ni G. A. M Dwi Adiastruti</i>	108-115
Penggunaan Biomassa <i>Azolla microphylla</i> Diimpregnasi Kromium(III) untuk Adsorpsi Zat Warna Anionik <i>Congo Red</i> <i>Suriati Eka Putri</i>	116-121
Isolasi Enzim Selulase Dari Kerang Kepah <i>Atactodea striata</i> Menggunakan Substrat Kertas Koran Bekas <i>Widiastini Arifuddin, Abd. Rauf Patong, dan Seniwati Dali</i>	122-126
Pemanfaatan <i>Nannochloropsis salina</i> sebagai biosorben ion Cd^{2+} dan Ni^{2+} <i>Yusafir Hala, Paulina Taba, Grace Imelda Sarubang, dan Neneng Fitri Ani</i>	127-132

Produksi Dan Aplikasi Kitin Deasetilase Dari Bakteri *Bacillus Licheniformis* Hsa3-1a Sebagai Antimikroba

Abdur Rahman Arif^{1a}, Ischaidar^a, Hasnah Natsir^b, Seniwati Dali^b

^a Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin, Makassar;

^b Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar.

Abstrak

Kitin deasetilase (E.C.3.5.1.41) merupakan enzim yang dapat mengkatalisis proses hidrolisis gugus asetamido *N*-asetil-*D*-glukosamin pada kitin menjadi kitosan. Kitin deasetilase dapat diperoleh dari beberapa mikroba tertentu, salah satunya pada bakteri dari genus *Bacillus*. Pada penelitian ini kitin deasetilase diperoleh dari Bakteri *Bacillus licheniformis* HSA3-1a yang diisolasi dari sumber air panas Sulili, Pinrang. Penelitian ini bertujuan untuk mengaplikasikan kitin deasetilase yang diekskresikan oleh *B. licheniformis* HSA3-1a sebagai antimikroba. Produksi optimum kitin deasetilase oleh bakteri *B. licheniformis* dengan pH media 7 dan suhu 50°C setelah diinkubasi selama 72 jam. Hasil penelitian ini menunjukkan aktivitas spesifik optimum dari kitin deasetilase sebesar 0,00131 U/mg. Volume enzim yang digunakan untuk sampel uji sebesar 30 µL. Uji antimikroba menunjukkan bahwa kitin deasetilase berpotensi sebagai antimikroba karena dapat menghambat pertumbuhan *Escheria coli* dengan zona hambatan sebesar 8,6 mm, persentase daya hambat sebesar 30,71% sedangkan pada *Escheria coli* sebesar 9,6 mm dengan persentase daya hambat sebesar 56,30%.

Kata kunci: Kitin deasetilase, Antimikroba, *Bacillus licheniformis* HSA3-1a, *E. Coli*, *S. Aureus*

Abstract

Chitin deacetylase is an enzyme that can catalyze hydrolysis process of acetamido group *N*-acetil-*D*-glucosamin to produce chitosan. Chitin deacetylase can be derived from some microbe, one of them is *Bacillus* genus. In this study, chitin deacetylase derived from *Bacillus licheniformis* HSA3-1a which isolated from Sulili hot spring, pinrang. The aim of this study to apply chitin deacetylase excreted by *B. licheniformis* HSA3-1a as antimicrobials. After 72 hours incubation at 50°C and pH of media is 7, optimum production of chitin deacetylase by *B. licheniformis* HSA3-1a obtained. Optimum specific activity of chitin deacetylase give value 0,00131 U/mg. 30µL of enzyme was used for sample test. Antimicrobial test show that chitin deacetylase potential as antimicrobial because can inhibit *Staphylococcus aureus* which give inhibition zone value 8,6 mm with 30,71% inhibition meanwhile for *Escheria coli* which give inhibition zone value 9,6 mm with 56,30% inhibition.

Keywords: Chitin deacetylase, Antimicrobials, *Bacillus licheniformis* HSA3-1a, *E. Coli*, *S. aureus*

1. Pendahuluan

Pemanfaatan enzim dalam bidang bioteknologi saat sekarang ini mengalami perkembangan yang cukup pesat. Berbagai macam jenis enzim telah berhasil diisolasi dari beberapa jenis sumber seperti tanaman, hewan dan mikroba. Namun, isolasi enzim dari mikroba cenderung lebih banyak dilakukan karena mikroba memiliki kemampuan laju tumbuh yang tinggi dalam lingkungan yang terkontrol dan produksi enzim yang tinggi karena enzim diekskresikan secara ekstraseluler [1].

Salah satu kelompok enzim yang banyak dimanfaatkan dalam bidang bioteknologi adalah enzim kitinolitik. Kitin deasetilase (E.C.3.5.1.41) merupakan jenis enzim kitinolitik yang berperan dalam mengkatalisis reaksi hidrolisis gugus asetamido dari residu *N*-asetil-*D*-glukosamin dari kitin menjadi amina (-NH₂) pada β-(1-4)-*N*-glukosamina (kitosan) [2].

Kitin deasetilase dapat diisolasi dari bakteri. Salah satu bakteri penghasil enzim kitin deasetilase adalah *Bacillus licheniformis* HSA3-1a yang merupakan bakteri termofilik hasil skrining dari sumber air panas sulili, Pinrang [3]. Proses isolasi kitin deasetilase dilakukan melalui proses peremajaan mikroba, penyiapan inokulum, penentuan waktu produksi optimum kemudian dilakukan produksi pada kondisi optimum [4].

Kitin merupakan polimer berantai lurus tersusun atas residu *N*-asetilglukosamin melalui ikatan β-(1,4) yang terdapat berlimpah di alam setelah selulosa [5]. Sumber utama kitin adalah pada dinding sel jamur dan bakteri serta pada limbah hasil laut seperti: kulit udang, lobster, cangkang kepiting dan kerang-kerangan. Penyebaran kitin yang relatif luas menjadikan enzim pendegradasi kitin, kitin deasetilase, berpotensi diaplikasikan untuk beberapa manfaat, salah satunya adalah sebagai antimikroba [6].

¹ Alamat korespondensi: Ar rahman arif08@yahoo.com

Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi dan menguji potensi antimikroba enzim kitin deasetilase yang diisolasi dari bakteri *B. lichen formis* HSA3-1a.

2. Metode Penelitian

Bahan yang digunakan adalah *B. lichen formis* HSA3-1a, *Escheria Coli*, *Staphillococcus Aureus*, bakto agar, yeast ekstrak, bakto pepton, NaCl, K₂HPO₄, MgSO₄.7H₂O, CaCl₂, koloidal kitin, glikol kitin, buffer fosfat sitrat (pH 7), CH₃COOH, NaNO₂, Asam sulfamat, HCl, Indol, etanol, reagen *Lowry* B, reagen *Lowry* A, glukosamin, bovine serum albumin (BSA), *paper disc*, *cotton swab*, akuades.

Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-Vis (Spektronik 20D+), neraca digital analitik, sentrifuge dingin, *shaker incubator*, inkubator (*Memmert*), *autoclave*, enkas, pipet mikro, jarum ose, tabung rekasi, cawan petri serta alat-alat gelas yang umum digunakan.

2.1 Peremajaan Bakteri *Bacillus lichen.formis* HSA3-1a

Peremajaan dilakukan dengan menumbuhkan stok bakteri *B. Lichen formis* HSA3-1a ke dalam medium LA (*Luria Agar*) modifikasi + 0,5% koloidal kitin untuk memperoleh isolat yang segar [7].

2.2 Produksi Kitin Deasetilase

Produksi kitin deasetilase diawali dengan pembuatan inokulum kemudian dilanjutkan dengan proses fermentasi (produksi enzim), dimana biakan bakteri murni hasil peremajaan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang masing-masing telah diisi 50 mL medium inokulum lalu diinkubasi dalam *shaker incubator* 180 rpm, 50°C selama 20-24 jam. Komposisi medium adalah yeast ekstrak (0,05%), NaCl (0,1%), bakto pepton (0,01%), CaCl₂ (0,01%), K₂HPO₄ (0,01%), MgSO₄. 7H₂O (0,01%), koloidal kitin (0,5 %) sebagai substrat. Untuk produksi enzim, 10-15% inokulum aktif dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi medium produksi yang komposisinya sama dengan medium inokulum, kemudian diinkubasi pada kondisi yang sama selama 4 hari dengan *shaker incubator*. Penarikan contoh tiap 24 jam dilakukan untuk pengukuran OD (*Optical Density*), uji aktivitas kitin deasetilase dan uji protein dengan metode *Lowry* [3, 4, 7, 8].

Filtrat kultur (enzim ekstrak kasar) diperoleh dengan sentrifugasi larutan contoh pada kecepatan 3000 rpm, suhu 4°C selama 15 menit. Pengukuran dilakukan selama 4 hari untuk menentukan pencapaian kondisi optimum [4].

2.3 Uji Aktivitas Kitin deasetilase

Prinsip pengukuran kitinase adalah berdasarkan jumlah gula pereduksi dihasilkan dari hidrolisis koloidal kitin dengan metode Tokoyasu termodifikasi. Campuran reaksi terdiri dari Larutan digesti meliputi 100 µL substrat glikol kitin, 300 µL bufer, dan 200 µL enzim diinkubasi 30 menit pada suhu optimumnya, kontrol enzim adalah enzim yang diinkubasi terpisah dengan buffer dan substrat selama 30 menit. Larutan digesti diambil 500 µL, kemudian ditambahkan 500 µL asam asetat 33% dan 500 µL natrium nitrit 5%, dikocok dan didiamkan 10 menit suhu ruang. Setelah itu ditambahkan 500 µL amonium sulfamat 12.5%. Lalu ditambahkan 2000 µL asam klorida 5%, dan 200 µL indol 1%, direbus 5 menit dan didinginkan. Selanjutnya ditambahkan 2000 µL etanol 96% Konsentrasi glukosamin yang bereaksi dengan indol membentuk warna merah bata, dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang 405 nm. Standar yang digunakan adalah glukosamin standar dengan variasi konsentrasi 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mM [9].

2.4 Penentuan kadar protein

Penentuan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode *Lowry*, dengan menggunakan standar *Bovine Serum Albumin* (BSA), dimana sebanyak 2 mL enzim direaksikan 2,75 mL reagen *lowry* B dan didiamkan pada suhu kamar. Setelah 15 menit, ditambahkan reagen *lowry* A sebanyak 0,25 mL, dihomogenkan lalu didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum (λ 640 nm) [8].

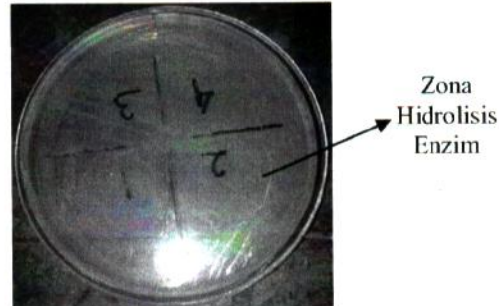
2.5 Potensi Antimikroba

Uji potensi kitin deasetilase antimikroba dilakukan dengan metode lempeng atau difusi agar dengan menggunakan cakram kertas (*paper disc*). Cakram kertas diberi sampel yaitu kitin deasetilase ekstrak kasar sebanyak 30 µL kemudian *paper disc* diletakkan pada permukaan medium MHA (*Muller Hinton Agar*) yang telah diinokulasikan bakteri *E. Coli* dan *S. Aureus*. Diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 24 jam, diukur daerah hambatan (zona) dengan menggunakan mistar geser yang dinyatakan dalam milimeter. Untuk kontrol positif, digunakan kloramfenikol dan untuk kontrol negatif digunakan BSA [10].

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Peremajaan Bakteri *Bacillus licheniformis* HSA3-1a

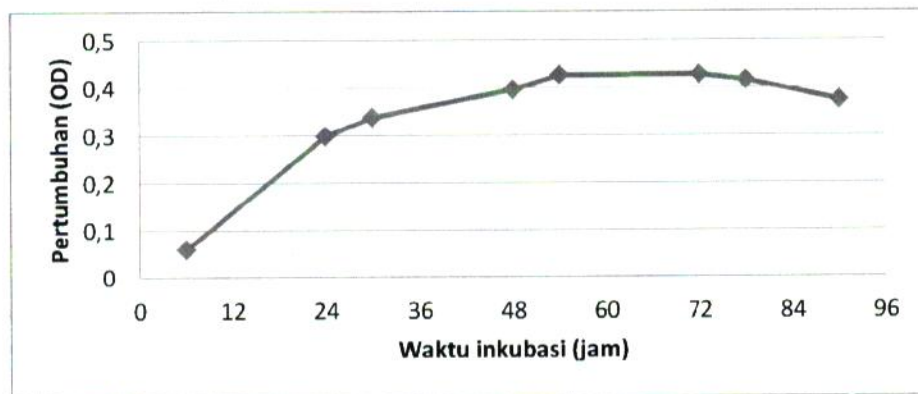
Mikroba termofilik *B. licheniformis* HSA3-1a merupakan isolat yang memiliki aktivitas kitinolitik dan dapat tumbuh secara optimal pada kondisi temperatur 50°C dengan pH 7,0 pada medium LA (*Luria agar*) modifikasi dan medium inokulum cair dengan menggunakan koloidal kitin 0,5% sebagai substratnya [3].



Gambar 1. Koloni *B. licheniformis* HSA3-1a dalam medium padat LA

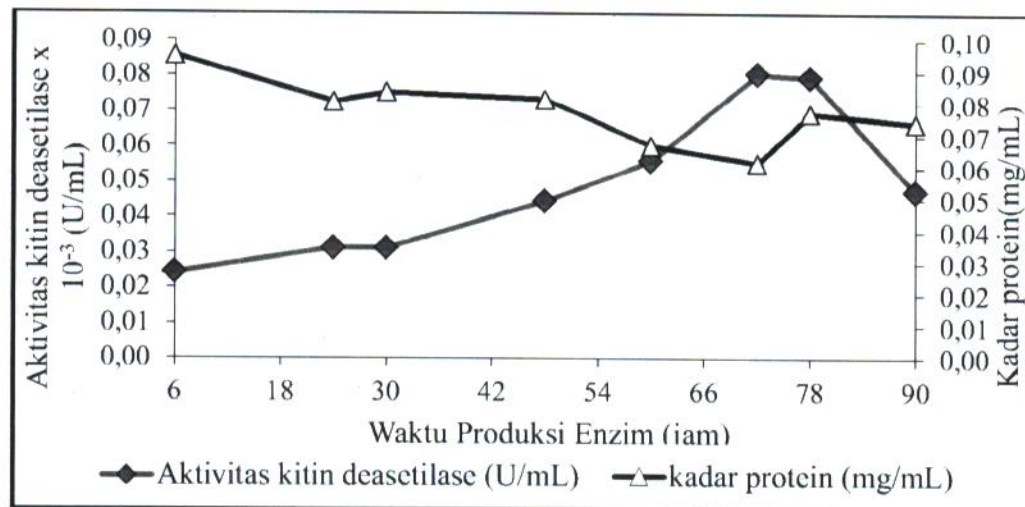
3.2 Produksi Kitin Deasetilase

B. licheniformis HSA3-1a ditumbuhkan lebih lanjut pada medium fermentasi untuk mengetahui kondisi optimal produksi, sebab dalam medium fermentasi pertumbuhan mikroba dan produk yang dihasilkan dapat dipantau dengan baik sesuai kondisi yang optimal. Pertumbuhan *B. licheniformis* HSA3-1a pada medium fermentasi meningkat dalam interval pertambahan waktu. Dari hasil penarikan contoh yang dilakukan tiap interval 6 dan 18 jam selama 4 hari, peningkatan terus terjadi hingga hari ke-3 dan mulai menurun pada hari ke-4.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan (OD) terhadap waktu inkubasi

Pada grafik terlihat bahwa pertumbuhan optimal mikroba dari tiap interval penarikan contoh adalah pada waktu inkubasi 72 jam (3 hari) dengan nilai OD 0,428 kemudian menurun pada penarikan contoh untuk 78 dan 80 jam (hari ke-4). Hal tersebut disebabkan karena terjadinya akumulasi bahan toksik, nutrisi yang sangat terbatas sehingga banyak sel yang mati. Jumlah sel mati bertambah secara eksponensial atau kebalikan dari fase logaritmik pertumbuhan. Dalam fase ini sel hidup hanya dapat bertahan untuk sementara, waktu generasi sangat lama atau bahkan tidak ada sama sekali. Disamping itu sel-sel akan dihancurkan oleh pengaruh enzim itu sendiri (*otolisis*), selanjutnya sel mikroba mati secara total [11].



Gambar 3. Grafik waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim (U/mL) dan kadar protein (mg/mL)

Sejalan dengan pengukuran kurva pertumbuhan (OD) dilakukan pula pengukuran aktivitas enzim. Namun, terlebih dahulu dilakukan proses sentrifugasi dingin terhadap suspensi bakteri pada suhu 4°C dengan kecepatan 3600 rpm selama 15 menit. Hal tersebut bertujuan untuk mengendapkan sel sehingga dapat diperoleh filtrat enzim, selain itu sentrifugasi pada suhu dingin untuk menghindarkan terjadinya proses denaturasi akibat panas yang dapat berdampak pada hilangnya kemampuan enzim dalam mengkatalisis. Dari hasil pengukuran diperoleh bahwa aktivitas optimum enzim terjadi pada hari ke-3 dan mengalami penurunan pada hari ke-4 (Gambar 3).

Pada gambar 3 terlihat bahwa aktivitas kitin deasetilase mencapai nilai optimum pada waktu inkubasi 72 jam (hari ke-3) yaitu sebesar $0,0807 \times 10^{-3}$ U/mL pada hari ke-4 untuk waktu inkubasi 78 dan 90 jam terjadi penurunan aktivitas enzim yaitu $0,0796 \times 10^{-3}$ dan $0,0473 \times 10^{-3}$ U/mL. Enzim pendegradasi kitin, yaitu kitin deasetilase di produksi setelah pertumbuhan mencapai fase stasioner, yaitu pada hari ke-3 (72 jam) waktu fermentasi, dimana pada fase tersebut aktivitas kitin deasetilase optimum. Hal tersebut disebabkan oleh terjadinya kondisi tertentu di dalam medium, yaitu kondisi kerapatan sel dan ketersediaan nutrisi dalam mediumnya semakin berkurang. Berkurangnya nutrisi pada media menyebabkan enzim kitin deasetilase yang diekskresikan oleh bakteri keluar sel dalam jumlah yang banyak mendegradasi kitin pada dinding sel mikroba tersebut dan menggunakannya sebagai substrat alternatif [12].

3.3 Penentuan kadar protein

Enzim kitin deasetilase yang diperoleh dari proses sentrifugasi dingin, dilanjutkan dengan pengukuran kadar protein terhadap tiap pengambilan contoh dengan variasi waktu inkubasi pada media fermentasi produksi. Hasil pengukuran kadar protein tiap pengambilan contoh enzim ekstrak kasar (*crude*) dengan variasi waktu fermentasi dapat dilihat pada gambar 3.

Kadar protein ditentukan dengan metode *Lowry*. Protein yang terkandung dalam tiap fraksi akan bereaksi dengan molekul komponen reagen *Lowry* membentuk larutan berwarna biru. Kadar protein dihitung berdasarkan nilai absorbansi yang sebanding dengan kadar protein pada panjang gelombang maksimum (640 nm) terhadap kurva standar *bovine serum albumin*.

Kadar protein enzim kitin deasetilase dari *B. Lichen formis* HSA3-1a pada pertumbuhan (OD) optimum yang diperoleh yaitu 0,0616 mg/mL, dengan aktivitas kitin deasetilase $0,0807 \times 10^{-3}$ Unit/mL, serta aktivitas spesifik kitin deasetilase yaitu 0,0013 Unit/mg. Enzim kitin deasetilase yang dihasilkan dalam penelitian ini merupakan enzim ekstrak kasar (*crude*) yang belum difraksinasi dengan amonium sulfat, sehingga masih diperoleh aktivitas kitin deasetilase yang kecil

Tabel 1. Kadar protein, dan aktivitas spesifik kitin deasetilase dari *B. lichen formis* HSA3-1a

Sampel	Kadar protein (mg/mL)	Akt. Kitin deasetilase (U/mL)	Akt. spesifik Kitin deasetilase (U/mg)
Kitin deasetilase (<i>crude</i>)	0,0616	$0,0807 \times 10^{-3}$	0,0013

3.4 Uji Potensi Antimikroba

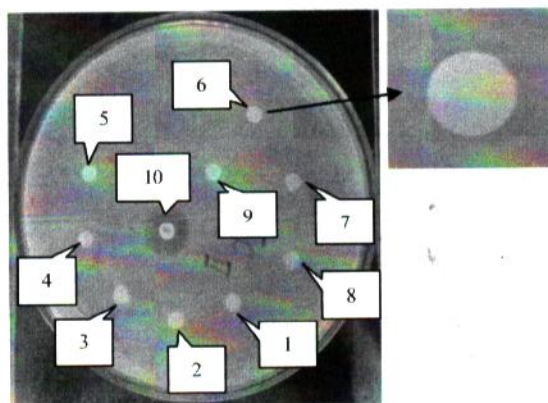
Potensi kitin deasetilase sebagai antimikroba merujuk pada kemampuan enzim ini dalam menghidrolisis kitin, baik kitin dalam komponen struktural dari golongan crustaceae (kepiting, udang dan lobster) maupun pada dinding sel bakteri dan jamur patogen tanaman [3].

Potensi antimikroba *crude* kitin deasetilase dari tiap hasil pengambilan contoh selama 4 hari selanjutnya dilakukan pengujian dengan menggunakan metode difusi agar dengan menggunakan cakram kertas (*paper disc*). Selanjutnya *paper disc* yang telah diberikan *crude* enzim diletakkan pada permukaan medium, selama masa inkubasi enzim akan berdifusi ke dalam medium yang sebelumnya telah diinokulasi dengan bakteri yang sensitif dan membentuk daerah hambatan (zona). Hasil yang diperoleh untuk 2 bakteri uji dapat dilihat pada table 2.

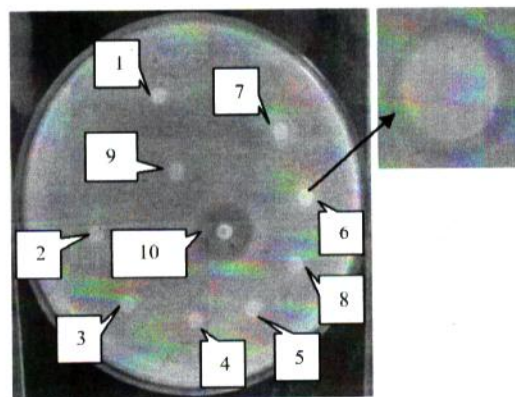
Pengujian bioaktivitas kitin deasetilase menggunakan ekstrak kasar sebanyak 30 μ L. Sebagai control negative digunakan BSA (*Bovine Serum Albumin*) dan control positif digunakan kloramfenikol. Kontrol positif yang digunakan diasumsikan sebagai antimikroba standar yang bioaktivitasnya 100%. Data hasil pengujian bioaktivitas (Tabel 2) menunjukkan bahwa ekstrak kasar kitin deasetilase dari tiap pengambilan contoh dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji dengan kemampuan yang beragam. Kitin deasetilase memperlihatkan hambatan yang efektif terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada waktu optimum inkubasi enzim selama 72 jam dengan zona hambatan sebesar 8,6 mm, persentase daya hambat sebesar 30,71%. Hal yang sama juga terlihat pada *E.coli* dengan zona hambatan sebesar 9,6 mm dan persentase daya hambat sebesar 56,30% untuk waktu inkubasi enzim yang sama yaitu 72 jam.

Tabel 2. Bioaktivitas kitin deasetilase terhadap bakteri *E.coli* dan *S. aureus*
Daya Hambat Terhadap Bakteri
(mm)

No.	Pengambilan contoh Kitin Deasetilase (jam)	Daya Hambat Terhadap Bakteri (mm)			
		<i>E. coli</i> (mm)	%	<i>S. aureus</i> (mm)	%
1.	6	9,2	53,96	6,0	0
2.	24	9,3	54,55	6,9	24,64
3.	30	9,5	55,72	6,0	0
4.	48	8,95	52,49	6,0	0
5.	54	9,4	55,13	6,0	0
6.	72	9,6	56,30	8,6	30,71
7.	78	8,4	49,27	7,2	28,71
8.	90	8,5	49,85	6,7	23,92
9.	BSA (Kontrol Negatif)	6,0	0	6,0	0
10.	Kloramfenikol (Kontrol Positif)	17,05	100	28,0	100



Gambar 4. Bioaktivitas *crude* kitin deasetilase terhadap pertumbuhan *E.Coli*



Gambar 5. Bioaktivitas *crude* kitin deasetilase pertumbuhan *S. aureus*

Mekanisme degradasi hidrolisis kitin terhadap bakteri terkait adanya kitin pada dinding sel bakteri yang dimanfaatkan oleh kitin deasetilase sebagai substratnya. Penghambatan atau terbunuhnya mikroba yaitu enzim mampu menembus dinding sel serta dapat menghambat sintesis dinding sel menyebabkan terjadinya kerusakan dinding sel akibat perbedaan tekanan osmotik di dalam dan di luar yang berakibat fungsi integritas sel mengalami lisis. Oleh karena itu, setiap zat yang mampu merusak dinding sel atau mencegah sintesisnya, akan menyebabkan terbentuknya sel-sel yang peka terhadap tekanan osmotik [3,13].

4. Simpulan

1. Kitin deasetilase diproduksi secara optimum oleh *B. licheniformis* HSA3-1a selama 72 jam waktu fermentasi dengan karakteristik enzim antara lain aktivitas enzim sebesar $0,0807 \times 10^{-3}$ Unit/mL, kadar protein 0,0616 mg/mL serta aktivitas spesifik 0,0013 Unit/mg.
2. Ekstrak kasar kitin deasetilase dari *B. licheniformis* HSA3-1a dapat digunakan sebagai antimikroba dengan menghambat pertumbuhan bakteri uji yaitu *E.coli* dengan persentase daya hambat sebesar 56,3% (zona hambat 9,6 mm) dan *S. aureus* dengan persentase daya hambat sebesar 30,71% (zona hambat 8,6 mm)

UcapanTerimaKasih

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Dr. Hj. Hasnah Natsir, M.Si dan Ibu Dr. Hj. Seniwati Dali, M.Si atas bimbingan, waktu, bantuan dana serta sumbangsih pemikiran selama penelitian ini.

Referensi

- [1] D. C. Sianturi, "Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara", Tesis Magister, Universitas Sumatera Utara, Indonesia, 2008.
- [2] I. Tsigos dan V. Bouriotis, "Purification and Characterization of Chitin Deacetylase from *Colletotrichum lindemuthianum*", *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 270, no. 44, hal 26286, 1995.
- [3] H. Natsir, "Study of Thermostable Chitinase Enzymes From Thermophile Bacteria: Purification, Characterization and Application In Hydrolyzing of Chitin", Doctoral Dissertation, Hasanuddin University, Indonesia, 2010.
- [4] A. Artiningsih, A. Noor dan H. Natsir, "Usaha Biokonversi Kitin Asal Kepiting Rajungan Menjadi Kitosan", *Marina Chimica Acta*, vol.4, no.1, hal 9, 2003.
- [5] P. Sugita, T. Wukirsari, A. Sjahriza, D. Wahyono, "Kitin", dalam Kitosan Sumber Biomaterial Masa Depan, Topik dalam Bioteknologi, hal. 18, IPB Press, Bogor, Indonesia, 2009.
- [6] K. Sakai, A. Yokota, H. Kurokawa, M. Wakayama, dan M. Moriguchi, "Purification and Characterization of Three Thermostable Endochitinase of a Noble Bacillus sp. Strain, MH-1 Isolated from Chitin-Containing Compost", *App. And Env. Microbiology*, vol. 64, no. 9, hal. 3397-3402, 1998.
- [7] H. Natsir, A.R. Patong, M.T. Suhartono dan A. Ahmad, "Isolation And Purification Of Thermostable Chitinase Bacillus Licheniformis Strain HSA3-1a From Sulili Hot Springs In South Sulawesi", *Int. J. Pharm. Bio. Science*, vol. 4, no. 3, hal. 1252-1259, 2013.
- [8] M. Bintang, "Uji Lowry", dalam Biokimia Teknik Penelitian, Topik dalam Biokimia, hal. 104-106, Erlangga, Jakarta, Indonesia, 2010.
- [9] K. Tokoyasu, H. Ono, K. Hayasi, dan Y. Mori, "Purification and Characterization of Extracellular Chitin Deacetylase from *Colletotrichum lindemuthianum*", *Biosc. Biotech. Biochem*, vol. 10, hal 1598-1603, 1996.
- [10] M. N. Djide, "Uji Potensi Antimikroba", dalam Mikrobiologi Farmasi, Topik dalam Mikrobiologi, hal. 45-47, Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia, 2008.
- [11] A. Ali, "Kurva Pertumbuhan Mikroba", dalam Mikrobiologi Farmasi, Topik dalam Mikrobiologi, hal. 149-155, State University of Makassar Press, Makassar, Indonesia, 2005.
- [12] H. Natsir, A. Noor, dan N. Asfari, "Konversi Khitin dari Kulit Kepiting (*Scylla serrata*) menjadi Khitosan dengan Enzim Kitin Deasetilase", *Marine Chimica Acta*, vol. 6, no. 1, hal 6-9, 2004.
- [13] A. Ningsih, Subehan, M.N. Djide, "Potensi Antimikroba dan Analisis Spektroskopi Isolat Aktif Ekstrak n-Heksan Daun Sungkai (*Peronema canescens*.Jack) Terhadap Beberapa Mikroba Uji", *e-Journal. Prog.Pasc. UNHAS*, hal. 10, 2013.