

**UJI APLIKASI ENZIM KITOSANASE YANG DIPRODUKSI  
OLEH ISOLAT BAKTERI JB<sub>1</sub> DARI TERASI  
UNTUK PEMBUATAN OLIGOMER KITOSAN**

Oleh  
**HENNY ENDAH SETYANI**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDERALAYA  
2007**



576.119  
Set  
4  
2007



**UJI APLIKASI ENZIM KITOSANASE YANG DIPRODUKSI  
OLEH ISOLAT BAKTERI JB<sub>4</sub> DARI TERASI  
UNTUK PEMBUATAN OLIGOMER KITOSAN**

**Oleh  
HENNY ENDAH SETYANI**

R. 16074  
I. 17256



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDERALAYA  
2007**

©Hak cipta milik Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, tahun 2007

Badan Riset Kelautan dan Perikanan Departemen Kelautan dan Perikanan  
Hak cipta dilindungi

Dilarang mengutip dan memperbanyak tanpa izin tertulis dari pemegang hak milik sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apapun, baik cetak, fotokopi, microfilm dan sebagainya

## SUMMARY

**HENNY ENDAH SETYANI.** Application of Chitosanase produced by JB<sub>4</sub> Isolated from Terasi to Prepare Oligomers of Chitosan (Supervised by **AGUS WIJAYA, ACE BAEHAKI** and **YUSRO NURI FAWZYA**).

The objective of the research was to apply chitosanase produced by a bacterial strain JB<sub>4</sub> isolated from terasi to prepare oligomers of chitosan.

The research was conducted in Laboratory of Biotechnology, Research Center For Fisheries Product Processing and Biotechnology for Marine and Fisheries, Jakarta Pusat, from March 2006 to January 2007.

The experiment was designed in two steps to analyze the effectivity of chitosanase to produce chitosan oligomers at different enzyme concentrations. At first step, chitosan was incubated with chitosanase (concentration of 22 U/g chitosan) at 40°C for 2, 4, 6 and 8 hours, whereas at second step chitosan was incubated with chitosanase (concentration of 5 U/g chitosan) at 40°C for 1, 2, 3 and 4 hours. Observed parameters included viscosity, composition of chitosan oligomers and their molecular weight.

The results showed that chitosanase hydrolyzed chitosan effectively into chitosan oligomers, showed by reduction in molecular weight and decreasing viscosity of the samples. The dominant oligomer was trimer with viscosity between 1.03 and 1.04 cPs (first step) and 0.97 and 0.98 cPs (second step) for chitosan from prawn, whereas chitosan from crab had viscosity between 1.03 and 1.04 cPs. Chitosan oligomers originated from prawn had molecular weight of 1,349 Da and



between 424 and 535 Da from the first and second steps, respectively. However, molecular weight chitosan oligomers originated from crab could not be determined.

## RINGKASAN

**HENNY ENDAH SETYANI.** Uji Aplikasi Enzim Kitosanase Yang Diproduksi Oleh Isolat Bakteri JB<sub>4</sub> dari Terasi untuk Pembuatan Oligomer Kitosan (Dibimbing oleh **AGUS WIJAYA, ACE BAEHAKI** dan **YUSRO NURI FAWZYA**).

Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan uji aplikasi enzim kitosanase dari isolat bakteri JB<sub>4</sub> yang berasal dari terasi guna menghasilkan oligomer kitosan.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Departemen Kelautan dan Perikanan Jakarta Pusat dari bulan Maret 2006 sampai dengan Januari 2007.

Penelitian dilaksanakan dalam dua tahap untuk menguji kemampuan enzim kitosanase dalam menghasilkan oligomer kitosan dengan konsentrasi enzim yang berbeda. Pada tahap pertama, larutan kitosan diinkubasi dengan enzim kitosanase selama 2, 4, 6, dan 8 jam (jumlah unit enzim adalah 22 unit per gram kitosan). Sedangkan pada tahap kedua oligomer kitosan diinkubasi dengan enzim kitosanase selama 1, 2, 3, dan 4 jam (jumlah unit enzim adalah 5 unit per gram kitosan). Pengamatan terhadap oligomer kitosan yang dihasilkan pada dua tahap ini meliputi: viskositas, identifikasi oligomer dan berat molekul.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim kitosanase dari isolat bakteri JB<sub>4</sub> mampu menghidrolisis kitosan menjadi oligomer kitosan dengan mengakibatkan penurunan viskositas dan berat molekul. Jenis oligomer yang dominan adalah trimer dengan viskositas untuk substrat kitosan udang berkisar antara 1,03-1,04 cPs (tahap pertama) dan 0,97-0,98 cPs (tahap kedua). Sedangkan untuk substrat kitosan



rajungan viskositas berkisar antara 1,02-1,04 cPs. Berdasarkan hasil pengukuran berat molekul terhadap ke dua substrat, maka berat molekul oligomer kitosan dari substrat kitosan udang adalah 1.349 Da (tahap pertama) dan 424-535 Da (tahap kedua) sedangkan berat molekul dari substrat kitosan rajungan tidak dapat ditentukan.

**UJI APLIKASI ENZIM KITOSANASE YANG DIPRODUKSI  
OLEH ISOLAT BAKTERI JB<sub>4</sub> DARI TERASI  
UNTUK PEMBUATAN OLIGOMER KITOSAN**

**Oleh  
HENNY ENDAH SETYANI**

**SKRIPSI  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Perikanan**

**pada  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDERALAYA  
2007**



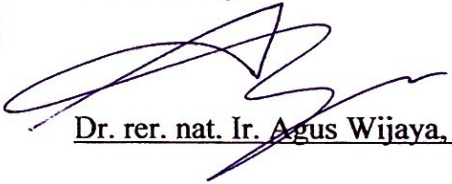
Skripsi

UJI APLIKASI ENZIM KITOSANASE ISOLAT BAKTERI JB<sub>4</sub> DARI TERASI  
UNTUK PEMBUATAN OLIGOMER KITOSAN

Oleh  
HENNY ENDAH SETYANI  
05023110006

telah diterima sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar  
Sarjana Perikanan

Pembimbing I




Dr. rer. nat. Ir. Agus Wijaya, M.Si

Pembimbing II



Ace Baehaki, S.Pi, M.Si

Pembimbing III



Ir. Yusro Nuri Fawzya, M.Si

Inderalaya, Mei 2007

Fakultas Pertanian  
Universitas Sriwijaya

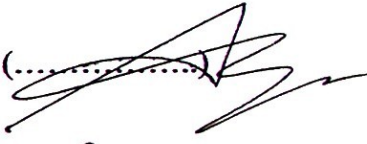




Dekan,



Dr. Ir. Imron Zahri, M.S  
NIP. 130516530

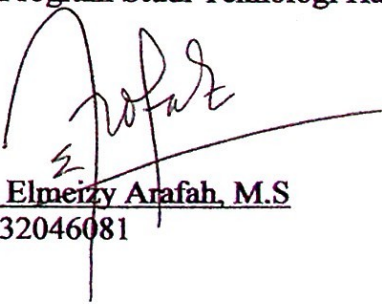
Skripsi berjudul "Uji aplikasi enzim kitosanase yang diproduksi oleh isolat bakteri JB<sub>4</sub> dari terasi untuk pembuatan oligomer kitosan" oleh Henny Endah Setyani telah dipertahankan di depan Komisi Penguji pada tanggal 20 April 2007

### Komisi Penguji

|  |            |   |
|--|------------|---|
| 1. Dr. rer. nat. Ir. Agus Wijaya, M.Si | Ketua      | (.....  )   |
| 2. Ace Baehaki, S.Pi, M.Si             | Sekretaris | (.....  )   |
| 3. Ir. Yusro Nuri Fawzya, M.Si         | Sekretaris | (.....  ) |
| 4. Herpandi Gumay, S.Pi, M.Si          | Anggota    | (.....  ) |
| 5. Rinto, S.Pi, M.P                    | Anggota    | (.....  ) |

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Teknologi Hasil Perikanan

  
Dr. Ir. Elmeizy Arafah, M.S  
NIP. 132046081



## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa seluruh data dan informasi yang disajikan dalam skripsi ini, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya, adalah hasil penelitian atau investigasi saya sendiri dan belum pernah atau tidak sedang diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan lain atau gelar kesarjanaan yang sama ditempat lain.

Inderalaya, Mei 2007

Yang membuat pernyataan



~~Henny Endah Setyani~~

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan pada tanggal 6 Januari 1985 di Palembang. Merupakan anak pertama dari empat bersaudara. Orang tua bernama Burhanuddin dan Erny.

Pendidikan sekolah dasar diselesaikan pada tahun 1996 di SDN 636 Palembang. Sekolah menengah pertama pada tahun 1999 di SMP Negeri 19 Palembang dan sekolah menengah umum tahun 2002 di SMU Negeri 3 Palembang. Sejak Agustus 2002 penulis tercatat sebagai mahasiswa di Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

Pada tahun 2003/2004 penulis aktif sebagai anggota dari IMASILKAN untuk bidang ilmu pengetahuan. Sejak tahun 2004 sampai tahun 2005 menjadi asisten mata kuliah Dasar-Dasar Mikrobiologi Akuatik dan Mikrobiologi Hasil Perikanan.



## KATA PENGANTAR

Rasa syukur yang tak terhingga kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan Karunia-Nya sehingga telah mempermudah langkah penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Skripsi yang berjudul “Uji Aplikasi Enzim Kitosanase yang Diproduksi Oleh Isolat Bakteri JB<sub>4</sub> dari Terasi Untuk Pembuatan Oligomer Kitosan” ini dibuat berdasarkan data dan hasil pengamatan yang didapat penulis di lokasi penelitian, yaitu tepatnya di Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.

Dalam menyusun skripsi ini penulis banyak mendapatkan bantuan serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Ayah dan bunda tercinta yang telah memberikan doa, doa, doa dan bantuan baik moril maupun material. Alhamdulillah ”Uni lulus juga”. I \_Love\_U\_All.
2. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Bapak Dr. Ir. Imron Zahri, M.S. dan Ketua Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Ibu Dr. Ir. Elmeizy Arafah, M.S.
3. Bapak Dr. rer. nat. Ir. Agus Wijaya, M.Si. selaku Pembimbing I dan Bapak Ace Baehaki, S.Pi, M.Si. selaku Pembimbing II yang telah banyak meluangkan waktu dan dengan penuh kesabaran memberikan pengarahan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.

4. Ibu Ir. Yusro Nuri Fawzya, M.Si. selaku pembimbing III dan semua staf peneliti di BBRPPBKP (terutama buat Bu Umi, Mbak Henny, Mas Dedi, Mbak Ari, dan Mas Rudi) yang telah memberikan bantuan dan arahan kepada penulis selama penelitian berlangsung.
5. Bapak Herpandi Gumay, S.Pi., M.Si dan Bapak Rinto, S.Pi., M.P. yang telah memberikan arahan, saran dan kritiknya dalam penyelesaian skripsi ini serta Bapak dan Ibu Dosen yang telah memberikan bimbingan selama masa studi.
6. Bapak Budi Purwanto, S.Pi. selaku pembimbing akademik dan Ibu Indah Widiastuti, S.Pi. sebagai dosenku plus sebagai tempat curhat dan berkeluh kesah.
7. *All of my Friends At "THI 02"* (especially Telly, Mamat, Lia, Ewi, Indah, and Fegu) beserta teman-temanku diberbagai tempat. Makasihya untuk semua bantuan kalian dan semoga sukses dalam tahap selanjutnya, Oke!!!!!!!!!!!!
8. Buat seseorang yang merupakan teman terbaikku. Makasih ya untuk semua masukan yang diberikan kepada saya dan berkat masukan itu juga akhirnya saya bisa mengalami berbagai macam proses perubahan yang sangat menyenangkan. ^\_^

Mudah-mudahan skripsi ini dapat memberikan sumbangan pemikiran yang bermanfaat bagi kita semua.

Inderalaya, April 2007

Penulis

## DAFTAR ISI

|   |       |
|---|-------|
| DAFTAR TABEL .....                                  | xvi   |
| DAFTAR GAMBAR .....                                 | xvii  |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                               | xviii |
| I. PENDAHULUAN .....                                | 1     |
| A. Latar Belakang .....                             | 1     |
| B. Tujuan Penelitian.....                           | 3     |
| C. Hipotesis.....                                   | 3     |
| II. TINJAUAN PUSTAKA .....                          | 4     |
| A. Oligomer Kitosan (Kitoooligosakarida).....       | 4     |
| 1. Produksi Oligomer Kitosan.....                   | 5     |
| 2. Aplikasi Oligomer Kitosan.....                   | 8     |
| B. Kitosanase .....                                 | 12    |
| III. PELAKSANAAN PENELITIAN .....                   | 17    |
| A. Tempat, Waktu dan Sumber Pendanaan .....         | 17    |
| B. Alat dan Bahan .....                             | 17    |
| C. Metode Penelitian.....                           | 18    |
| 1. Pembuatan Koloidal Kitin.....                    | 18    |
| 2. Produksi Enzim Kitosanase Ekstraseluler.....     | 19    |
| 3. Pembuatan Kitosan Dapat Larut .....              | 19    |
| 4. Produksi Oligomer Kitosan Secara Enzimatis ..... | 20    |
| D. Pengamatan .....                                 | 20    |
| 1. Uji Aktivitas Enzim Kitosanase.....              | 20    |
| 2. Penentuan Kadar Protein Erzim Kitosanase.....    | 22    |





|   |    |
|---|----|
| 3. Pengukuran Viskositas .....                                | 22 |
| 4. Pengukuran Berat Jenis .....                               | 24 |
| 5. Identifikasi Oligomer Kitosan .....                        | 24 |
| 6. Penentuan Berat Molekul .....                              | 25 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....                                 | 26 |
| A. Produksi Enzim Kitosanase.....                             | 26 |
| B. Aplikasi Kitosanase untuk Pembuatan Oligomer Kitosan ..... | 29 |
| 1. Konsentrasi Enzim Sebesar 22 unit per gram Kitosan .....   | 31 |
| 2. Konsentrasi Enzim Sebesar 5 unit per gram Kitosan .....    | 33 |
| a. Viskositas .....   | 33 |
| b. Identifikasi Oligomer Kitosan.....                         | 37 |
| c. Berat Molekul .....  | 39 |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN .....                                 | 43 |
| A. Kesimpulan.....  | 43 |
| B. Saran.....   | 44 |
| DAFTAR PUSTAKA .....  | 45 |
| LAMPIRAN  |    |

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| 1. Spesifikasi oligomer kitosan .....  | 5  |
| 2. Karakteristik kitosanase dari berbagai organisme.....   | 16 |
| 3. Hasil uji aktivitas enzim kitosanase isolat bakteri JB <sub>4</sub> pada beberapa tahapan proses .....          | 28 |
| 4. Spesifikasi kitosan yang digunakan sebagai substrat.....  | 29 |
| 5. Viskositas larutan kitosan udang setelah penambahan enzim sebesar 22 unit per gram kitosan .....                | 32 |
| 6. Perubahan viskositas larutan kitosan sebelum dan sesudah penambahan enzim sebesar 5 unit per gram kitosan ..... | 35 |
| 7. Viskositas intrinsik dan berat molekul larutan kitosan sebelum dan sesudah penambahan enzim kitosanase .....    | 41 |

## DAFTAR GAMBAR

|   |    |
|---|----|
| 1. Struktur kimia kitosan dan oligomer kitosan .....  | 6  |
| 2. Hasil identifikasi oligomer kitosan pada konsentrasi enzim sebesar 22 unit per gram kitosan..... | 33 |
| 3. Hasil identifikasi oligomer kitosan pada konsentrasi enzim sebesar 5 unit per gram kitosan ..... | 39 |





## DAFTAR LAMPIRAN

|  |    |
|--|----|
| 1. Kurva standar glukosamin.....   | 52 |
| 2. Kurva standar protein .....   | 53 |
| 3. Penentuan aktivitas kitosanase .....  | 54 |
| 4. Penentuan kadar protein dan aktivitas spesifik kitosanase.....  | 56 |
| 5. Perhitungan viskositas kitosan dan oligomer kitosan pada konsentrasi enzim sebesar 22 unit per gram kitosan ..... | 58 |
| 6. Perhitungan viskositas kitosan dan oligomer kitosan pada konsentrasi enzim sebesar 5 unit per gram kitosan .....  | 59 |
| 7. Perhitungan viskositas kitosan kontrol.....   | 60 |
| 8. Perhitungan berat molekul kitosan dan oligomer kitosan rajungan .....   | 61 |
| 9. Perhitungan berat molekul kitosan dan oligomer kitosan udang .....  | 64 |
| 10. Gambar <i>Ubbelohde</i> viskometer.....  | 69 |
| 11. Komponen pereaksi lowry .....  | 70 |

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Kitosan merupakan biopolimer alami turunan kitin yang secara komersial dibuat dari limbah kulit udang atau rajungan. Menurut No dan Meyer (1997), kitin dari kulit udang dapat menghasilkan kitosan sekitar 80%. Kitosan yang ada di pasar Indonesia saat ini berasal dari Korea Selatan, India, Jepang, USA dan negara maju lainnya dengan harga minimum antara US\$ 25-30 per kg, sedangkan harga kitin minimum antara US\$ 9-10 per kg (Wibowo, 2006).

Kitosan dan turunannya memiliki sifat yang ramah lingkungan dan hampir tidak beracun sehingga banyak diaplikasikan pada berbagai bidang industri, bioteknologi, farmasi, makanan, pertanian dan teknologi lingkungan (Li *et al.*, 1997). Jeon dan Kim (2000<sub>a</sub>) mengemukakan bahwa tingginya viskositas dan berat molekul menyebabkan terbatasnya penggunaan kitosan dalam bidang farmasi karena penyerapan untuk penggunaan secara *in vivo* rendah. Oleh karena itu depolimerisasi kitosan menjadi oligomer kitosan (kitoooligosakarida) merupakan salah satu cara untuk mengatasi masalah keterbatasan penggunaan.

Oligomer kitosan atau kitoooligosakarida merupakan produk turunan kitosan yang mempunyai sifat fungsional lebih baik dibandingkan kitosan, seperti bersifat aktif secara biologis sebagai antitumor, antimikroba, antifungal, antioksidan dan memiliki *immunostimulating effect*. Nilai lebih oligomer tidak hanya terletak pada sifat fungsional saja tetapi juga kemampuannya untuk larut dalam air (Choi *et al.*, 2004).

Informasi pasar menyebutkan bahwa dalam bentuk oligomer, kitosan memiliki harga 6 kali lebih mahal dibanding dalam bentuk polimer dan monomernya (glukosamin). Oligomer kitosan di pasaran internasional memiliki harga US\$ 60,000 per ton, sedangkan harga glukosamin dan polimer kitosan jauh di bawah oligomernya, yaitu US\$ 10,000 per ton. Hal tersebut dapat terjadi karena oligomer kitosan disebutkan lebih memiliki potensi aktivitas biologis serta memiliki kelebihan-kelebihan lain (Chasanah, 2006).

Oligomer kitosan dapat dibuat dengan menghidrolisis kitosan secara kimia, iradiasi dan *hydrodynamic shearing*, akan tetapi cara-cara tersebut menghasilkan oligomer kitosan dengan derajat polimerisasi yang rendah (Cheng dan Li, 2000). Oligomer kitosan dengan derajat polimerisasi yang tinggi seperti pentamer sampai heptamer mempunyai karakteristik fungsional yang lebih baik dibandingkan oligomer kitosan dengan derajat polimerisasi rendah karena memiliki kemampuan yang lebih kuat untuk menghambat pertumbuhan beberapa mikroorganisme patogen dalam makanan (Shahidi *et al.*, 1999).

Oligomer kitosan dengan derajat polimerisasi yang tinggi hanya dapat diperoleh melalui hidrolisis kitosan secara enzimatik. Cara ini dinilai memiliki beberapa kelebihan, antara lain lebih ramah lingkungan, relatif terkontrol dan tidak bersifat merusak bahan. Jenis enzim tertentu telah dilaporkan dapat menghidrolisis kitosan seperti kitinase dan lysozim (Suhartono *et al.*, 2002), protease, glukonase, tannase, lipase dan papain juga mempunyai kemampuan menghidrolisis kitosan (Pantaleone *et al.*, 1992 *dalam* Meidina *et al.*, 2005). Akan tetapi kitosanase lebih efisien digunakan untuk memproduksi oligomer kitosan karena menunjukkan aktivitas yang cukup baik pada konsentrasi yang kecil (Meidina *et al.*, 2005).



Salah satu sumber kitosanase untuk produksi oligomer kitosan adalah bakteri. Indonesia sebagai negara kepulauan berpotensi besar memiliki bakteri-bakteri yang menghasilkan enzim kitosanase. Salah satu sumber yang diduga menjadi habitat bagi bakteri penghasil enzim kitosanase adalah terasi. Terasi merupakan produk hasil fermentasi laktat dengan bahan baku yang biasa digunakan adalah udang rebon.

Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan memiliki koleksi isolat-isolat bakteri kitinolitik penghasil enzim kitosanase yang berasal dari beberapa sumber. Salah satu isolat bakteri yang telah dilakukan karakterisasi enzimnya adalah isolat JB<sub>4</sub> yang berasal dari terasi. Untuk mendapatkan informasi mengenai oligomer kitosan dari enzim ini maka perlu dilakukan aplikasi enzim tersebut pada substrat kitosan.

## **B. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan uji aplikasi enzim kitosanase dari isolat bakteri JB<sub>4</sub> yang berasal dari terasi guna menghasilkan oligomer kitosan.

## **C. Hipotesis**

Enzim kitosanase dari isolat bakteri JB<sub>4</sub> yang berasal dari terasi diduga dapat menghidrolisis kitosan menghasilkan oligomer kitosan.

## DAFTAR PUSTAKA



- Anonimous. *Spesification of Chitooligosaccharides*. 2006. (Online). (<http://www.dalwoo.com/chitosan/product.html>, diakses 14 Mei 2006).
- Apriyantono, A., Fardiaz, D., Puspitasari, N., Sedarnawati dan Budiyanto, S. 1989. *Petunjuk Analisa Pangan*. IPB Press, Bogor.
- Arnold, L.D. dan N.A. Solomon.1986. *Manual of Industrial Mirobiology and Biotechnology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Barreteau, H., Delattre, C., dan Michaud, P. 2006. *Production of Chitooligosaccharides as Promising New Food Additive Generation*. *Food Technol. Biotechnol.* 44(3): 323-333.
- Bastaman, S. 1989. *Studies on Degradation and Extraction of Chitin and Chitosan from Prawn Shells*. The Queen's University, Belfast.
- Boucher, I., Dupuy, A. Vidal, P., Neugebauer, W.A., dan Brzezinski, R. 1992. *Purification and Characterization of Chitosanase from Streptomyces N174*. *Appl. Microb. Biotechnol.* 38: 188-193.
- Brzezinski, R., Boucher, I., Dupuy, A., dan Plouffe, B. 1997. *Actinomycetes as Model Organism for the Study of Chitosanase*. *Chitin Handbook*. European Chitin Soc. pp: 291-295.
- Cabrera, J.C. dan Cutsem, P.V. 2005. *Preparation of Chitooligosaccharides with Degree of Polymerization Higher than 6 by Acid or Enzymatic Degradation of Chitosan*. *Biochemical Engineering Journal.* 25: 165-172.
- Chasanah,E. 2006. *Kitosan Oligomer: Aplikasi dan Produksi*. Proseding Seminar Nasional Kitin dan Kitosan. Bogor, 16 Maret 2006. pp 122-131.
- Chaplin, M.F. dan Bucke, C. 1990. *Enzyme Technology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Cheng, C.Y dan Li, Y-K. 2000. *an Aspergillus Chitosanase with Potential for Large Scale Preparation of Chitooligosaccharides*. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 32: 197-203.



- Chen, A-N., Taguchi, T., Sakai, K., Kikuchi, K., Wang, M-W., dan Miwa, I. 2003. *Antioxidant Activities of Chitobiose and Chitotriose*. Biol. Pharm. Bull. 26(9): 1326-1330.
- Choi, W.S., Ahn, K-J, Lee, D-W, Byun, M-W dan Park, H-J. 2002. *Preparation of Chitosan Oligomers by Irradiation*. Polymer Degradation and Stability. 78: 533-538
- Choi, Y.C., Kim, E.J., Piao, Z., Yun, Y.C. dan Shin, Y.C. 2004. *Purification and Characterization of Chitosanase from Bacillus sp. Strain KCTC 0377BP and Its Application for the Production of Chitosan Oligosaccharides*. Appl. Environ. Microbiol. 70(8): 4522-4531.
- Copeland, R.A. 2000. *Methods for Protein Analysis: A Practical Guide to Laboratory Protocols*. Chapman and Hall, New York.
- Cuero, R.G., Waniska, R., Fajardo, J., Osuji, G. dan Duffus, E. 1992. *Enhancement of Phytoalexin and Chitosanase by Chitosan in Germinating Peanuts, Biocontrol of Toxigenic Fungi and Mycotoxin*. In C.J., Brine, P.A. Sandford dan J.P. Zikakis (ed). Adv in Chitin and Chitosan. Elsevier, London. pp. 419-432.
- Emmawati, A. 2005. *Produksi Kitosan dengan Kombinasi Metode Kimia dan Enzimatis Menggunakan NaOH dan Kitin Deasetilase*. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Gritter, R.J., Bobbitt, J.M. dan Schwarting, A.E. 1985. *Introduction to Chromatography Ditjemahkan oleh Padmawinata, P.* Kromatografi. Penerbit ITB, Bandung.
- Hai, L., Diep, T.B., Nagasawa, N., Yoshii, F. dan Kume, T. 2003. *Radiation Depolymerization of Chitosan to Prepare Oligomers*. Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B. 208: 466-470.
- Harrington, R.E. 1984. *Viscosity*. In D.W. Gruenwedel dan J.R. Whitaker (ed). Food Analysis: Principles and Technique, Vol 2, Psychochemical Techniques. Marcel Dekker, New York. pp: 95-148.
- Hirano, S. dan Nagano, N. 1989. *Effect of Chitosan, Pectic Acid, Lysozyme and Chitinase on the Growth of Several Phytopathogens*. Agric. Biol. Chem. 53: 3065-3066.
- Hutadilok, N., Mochimasu, T., Hisamiro, H., Hayashi, K.I., Tachibana, H., T. Ishii, dan Hirano, S. 1993. *The Effect of N-Substitution on the Hydrolysis of Chitosan by an Endo-Chitosanase*. Journal of Carbohydr. Polymers. 268: 143-149.



- Il'ina, A.V., Tikhonov, V.E., Albulov, A.I., dan Varmalov, V.P. 2000. *Enzymic Preparation of Acid Free Water Soluble Chitosan*. *Process biochemistry*. 35: 563-568.
- Je, J-Y, Park, P-J, dan Kim, S-K. 2004. *Radical Scavenging Activity of Heterochitooligosaccharides*. *Eur Food Res Technol*. 219: 60-65.
- Jeon, Y-J dan Kim, S-K. 2000a. *Continous Production of Chitoologosaccharides Using a Dual Reactor System*. *Process Biochemistry*. 35: 623-632.
- Jeon, Y-J dan Kim, S-K. 2000b. *Production of Chitoologosaccharides Using an Ultrafiltration Membrane Reactor and Their Antibacterial Activity..* *Carbohydrate Polymers*. 41: 133-141.
- Kittur, F.S., Kumar, A.B.V., Varadaraj, M.C., dan Tharanathan, R.N. 2005. *Chitooligosaccharides-Preparation with the Aid of Pectinase Isozyme from Aspergillus niger and Their Antibacterial Activity*. *Carbohydrate Research*. 340: 1239-1245.
- Kumar, A.B.V., Gowda, L.R. dan Tharanathan, R.N. 2004. *Non-Specific Depolymerization of Chitosan by Pronase and Characterization of Resultant Products*. *Eur. J. Biochem* 271: 713-723.
- Kuo, C.H., Chen, C.C. dan Chiang, B.H. 2004. *Proses Characteristics of Hydrolysis of Chitosan in A Continuous Enzymatic Membrane Reactor*. *Journal of Food Science*. 69(7): 332-337
- Li, Q., E.T. Dunn, E.W. Grandmaison dan Goosen, M.F.A. 1997. *Application and Properties of Chitosan*. In Goosen, M.F.A. (ed). *Application of Chitin and Chitosan*. Technomic Publishing Company, Switzerland. pp: 5-9.
- Lin, H., Wang, H., Xue, C. dan Ye, M. 2002. *Preparation of Chitosan Oligomers by Immobilized Papain*. *Enzyme and Microbial Technology*. 31: 588-592.
- Machfud, Said. E.G., dan Krisnani. 1989. *Fermentor*. PAU-IPB, Bogor.
- Meidina, Sugiyono, Jenie, B.S.J., dan Suhartono, M.T. 2005. *Aktivitas Antibakteri Oligomer Kitosan Yang Diproduksi Menggunakan Kitosanase Dari Isolat B. licheniformis MB-2*. (Online). (<http://www.ipitek.net.id>, diakses 14 Mei 2006).
- Muzzarelli, R.A.A. 1997. *Depolymerization of Chitins and Chitosans with Hemicellulase, Lysozyme, Papain and Lipases*. In Muzzarelli, R.A.A dan Peter M.G. (ed). *Chitin Handbook*. European Chitin Society, Italy. pp:153-163.
- Muzzarelli, R.A.A., W. Xia, M. Tomasetti dan P. Illari. 1995. *Depolymerization of Chitosan and Substituted Chitosan with the Aid of A Wheat Germ Lipase Preparation*. *Enzyme and Microbial Technology*. 17: 541-545.



- Nicholas, T.A. 2003. *Antimicrobial Use of Native and Enzymatically Degraded Chitosan For Seafood Application*. (Online). (<http://www.library.umaine.edu/theses/pdf/NicholasTA2003.pdf>, diakses 8 Desember 2006).
- No, H.K. dan Meyers, S.P. 1997. *Preparation of Chitin and Chitosan*. In Muzarelli, R.A.A. dan Peter, M.G. (ed). *Chitin Handbook*. European Chitin Society, Italy. pp: 475-487.
- No, H.K., Park, N.Y., Lee, S.H., Hwang, H.J., dan Meyers, S.P. 2002. *Antimicrobial Activities of Chitosans and Chitosan Oligomers with Different Molecular Mass on Spoilage bacteria isolated from Tofu*. *J. Food Sci.* 67: 1511-1514.
- Okajima, S., Ando, A., Shinomaya, H., dan Fuji, T. 1994. *Purification and Characterization of a Extracellular Chitosanase Produced by Amycolatopsis CsO-2*. *J. Ferment Bioproc.* 77(6): 617-620.
- Park, P-J, Je, J-Y, dan Kim, S-K. 2003. *Free Radical Scavenging Activity of Chitooligosaccharides by Electron Spin Resonance Spectrometry*. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4624-4627.
- Park, J.K., K. Shimono, N. Ochiwa, K. Shigeru, M. Kurita, Y. Ohta, K. Tanaka, H. Natsuda dan M. Kawamukai. 1999. *Purification, Characterization and Gene Analysis of Chitosanase (ChoA) from Matseubacter chitosanotabidus 3001*. *J. Bacteriol.* 181: 6642-6649.
- Reyes, M.P., dan Corona, F.G. 1997. *The Bifunctional Enzyme Chitosanase-Cellulase Produced by the Gram Negative Microorganism Myxobacter sp. AL-1 is Highly Similar to Bacillus subtilis Endoglucanases*. *Arch. Microbiol.* 168: 321-327.
- Seino, H., Tsukada, K. dan Shimasue, Y. 1991. *Properties and Action Pattern of Chitosanase from Bacillus sp PI-7S*. *Agric. Biol. Chem* 55(9): 2421-2423
- Shahidi, F, Arachchi, J.K.V. dan Jeon, Y-K. 1999. *Food Applications of Chitin and Chitosans*. *Trends Food Sci Technol.* 10: 37-51.
- Shimosaka, M., Nogawa, M., Ohno, Y., dan Okazaki, M. 1993. *Chitosanase from the Plant Pathogenic Fungus, Fusarium solani f. sp. Phaseoli-Purification and Some Properties*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57(2): 231-235.
- Shimosaka, M., Nogawa, M., Wang, Y.X., Kumehara, M., dan Okazaki, M. 1995. *Production of Two Chitosanase from a Chitosan-Assimilating Bacterium, Acinetobacter sp. Strain CHB101*. *Appl. Environ. Microbiol.* pp: 438-442.
- Somashekar, D. dan Joseph, R. 1996. *Chitosanase-Properties and Application: a Review*. *Bioresource Technology.* 55: 35-45.



- Suhartono, M.T., 1989. *Enzim dan Bioteknologi*. DEPDIKBUD-Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Antar Universitas Bioteknologi, Bogor.
- Suhartono, M.T., Chasanah, E. dan Pyun, Y.R. 2002. *Biotechnology of Chitosanolytic Enzymes*. *Nutraceuticals and Food*. 7: 461-465.
- Sunardi. 2001. *Isolasi Kitosan Dan Aplikasinya Sebagai Zat Antibakteri Dengan Metode Total Plate Count (TPC)*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Tjandra, D. 1999. *Isolasi dan Pemilihan Bakteri Asidofilik Penghasil Enzim Kitinase dari Indonesia*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Tsai, G-J, Wu, Z-Y, dan Su, W-H. 2000. *Antibacterial Activity of a Chitooligosaccharides Mixture Prepared by Cellulase Digestion of Shrimp Chitosan and Its Application to Milk Preparation*. *J. Food Prot.* 63(6): 747-752.
- Tsai, G.J., Zhang, S.L., dan Shieh. P.L. 2004. *Antimicrobial Activity of Low Molecular Weight Chitosan Obtained From Cellulose Digestion of Chitosan*. *J. Food Prot.* 67: 396-398.
- Uchida, Y., Izume, M., dan Ohtakara, A. 1988. *Preparation of Chitosan Oligomer with Purified Chitosanase and its Application*. In G. Skjak-Braek, T. Anthonsen dan P. Sandford (Ed). *Chitin and Chitosan*. London. pp: 373-382.
- Uchida, Y. dan Ohtakara, A. 1998. *Chitosanase from Bacillus Species*. *Methods in Enzymology*. 161: 501-506.
- Wahyuni, S. 2006. *Aktivitas Kitoooligomer Hasil Reaksi Enzimatis terhadap Proliferasi Sel Kanker*. Prosiding Seminar Nasional Kitin dan Kitosan. Bogor, 16 Maret 2006. pp 88-101.
- Wibowo, S. 2006. *Produksi Kitin dan Kitosan Secara Komersial*. Prosiding Seminar Nasional Kitin dan Kitosan. Bogor, 16 Maret 2006. pp 122-131.
- Xie, W., Xu, P., dan Liu, Q. 2001. *Antioxidant Activity of Water Soluble Chitosan Derivatives*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11: 1699-1701.
- Yamasaki, Y., Hayashi, I., Ohta, Y., Nakagawa, T., Kawamukai, M., dan Matsuda, H. 1993. *Purification and Mode of Action of Chitosanolytic Enzyme from Enterobacter sp. G-1*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57(3): 444-449.
- Yang, Y., Shu, R., Shao, J., Xu, G., dan Gu, X. 2006. *Radical Scavenging Activity of Chitooligosaccharide with Different Molecular Weights*. *Eur. Food Res. Technol.* 222: 36-40.
- Yoon, H.G., Kim, H.Y., Hong, B.S., Shin, D.H., dan Cho, H.Y. 2001. *Thermostable Chitosanase from Bacillus sp. Strain CK4: Its Purification, Characterization and Reaction Patterns*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65(4): 802-809.

- Yoshihara, K., Hosokawa, J., Kubo, T., Nishiyama, M., dan Koba, Y. 1992. *Purification and Properties of a Chitosanase from Pseudomonas sp. H-14*. Biosci. Biotechno. Biochem. 56(6): 972-973.
- Zhang, H., Du, Y., Yu, X., Mitsutomi, M. dan Aiba, S-I. 1999. *Preparation of Chitooligosaccharides from Chitosan by a Complex Enzyme*. Carbohydrate Research. 320: 257-260.
- Zilda, D.S. dan Fawzya, Y.N. 2006. *Production and Characterization Chitosanase from Bacteria Isolated from Terasi*. Paper Presented at Asean Biochem. Sem. and Workshop on Enzymes: Industrial and Medical Prospects, Surabaya, 6-7 Februari 2006.