EKSPLORASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM KITOSANASE DARI TUMBUHAN RAWA SAKATIGA INDRALAYA

OLEH

NURJAM SULASI

05053110008

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

INDRALAYA

2010

S
578.768 07
Sul
e
c-101039
2010

R. 18353
1. 18797

EKSPLORASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM KITOSANASE DARI TUMBUHAN RAWA SAKATIGA INDRALAYA

DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
UPT
PERPUSTAKAAN

OLEH

NURJAM SULASI

05053110008

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

INDRALAYA

2010

SUMMARY

NURJAM SULASI, Exploration bacteria in producing chitosanase from plants in swamp Sakatiga, Indralaya (Supervised by **INDAH WIDIASTUTI** and **MARINI WIJAYANTI**).

The purpose of this research was to explore bacteria in producing chitosanase from plants in swamp Sakatiga, Inderalaya and to measure the activities of this enzyme. The research was conducted from August while 2009 in the Technology of Fishery Product Laboratory and Aquaculture Laboratory, Agricultural Faculty, Sriwijaya University. Laboratory Microbiology and Biochemistry, Agricultural Bogor University.

The research had been done in four phases. There were sampling and its preparation, isolating bacteria which produce chitosanase, producing chitosanase and determining optimum time in producing it, and also measuring its activities.

The result of this research revealed that *Nymphae rubra* and *Salvina natans* produced Td_1S_4, Td_2S_4, and Kia_2S_4 isolate of bacteria producing chitosanase. The highest activities of chitosanase from Td_1S_4 isolate of *Nymphae rubra* was shown 0,25 U/ml at fourth day. The highest activities of chitosanase from Kia_2S_4 isolate of *Salvina natans* was shown on the third day 0,23 U/ml and the highest activities of chitosanase from Td_2S_4 isolate of *Nymphae rubra* was shown on the third day by 0,06 U/ml.

RINGKASAN

NURJAM SULASI, Eksplorasi Bakteri Penghasil Enzim Kitosanase dari Tumbuhan Rawa (Dibimbing oleh **INDAH WIDIASTUTI DAN MARINI WIJAYANTI**).

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi bakteri penghasil enzim kitosanase diambil dari tumbuhan yang ada di perairan rawa Sakatiga, Indralaya dan Mengukur aktivitas enzim kitosanase yang dihasilkan oleh bakteri dari tumbuhan rawa. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai Januari 2009 di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan dan Laboratorium Mikrobiologi Budidaya Perairan. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya dan Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia, Institut Pertanian Bogor.

Penelitian ini dilakukan melalui empat tahapan yaitu tahapan pertama adalah pengambilan dan preparasi sampel, tahapan kedua adalah isolasi bakteri rawa yang menghasilkan kitosanase, tahapan ketiga adalah memproduksi kitosanase dan menentukan waktu optimum dalam produksi kitosanase di rawa tesebut, tahapan keempat merupakan pengukuran aktivitas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi Bakteri Penghasil Enzim Kitosanase dari tumbuhan rawa menghasilkan 3 isolat Td_1S_4, Td_2S_4 bakteri penghasil enzim kitosanase dari tumbuhan teratai dan isolat Kia_2S_4 dari tumbuhan kiambang. Aktivitas kitosanase tertinggi ditunjukkan oleh isolat Td_1S_4 dari tumbuhan teratai dengan nilai 0,25 U/ml pada hari ke-4. Isolat Kia_2S_4 dari tumbuhan kiambang dengan aktivitas tertinggi pada hari ke-3 dengan nilai 0,23 U/ml dan isolat

Td_2S_4 dari tumbuhan teratai dengan aktivitas tertinggi pada hari ke-3 dengan nilai 0,06 U/ml.

EKSPLORASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM KITOSANASE DARI TUMBUHAN RAWA SAKATIGA INDRALAYA

OLEH

NURJAM SULASI

SKRIPSI

sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Perikanan

Pada

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA

INDRALAYA
2010

Skripsi

EKSPLORASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM KITOSANASE DARI TUMBUHAN RAWA SAKATIGA INDRALAYA

Oleh
NURJAM SULASI
05053110008

telah diterima sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar
Sarjana Perikanan

Pembimbing I,

Indah Widiastuti, SPi, M.Si.

Pembimbing II,

Marini Wijayanti, S.Pi, M.Si.

Indralaya, Mei 2010
Fakultas Pertanian
Universitas Sriwijaya
Dekan

Prof. Dr. Ir. H. Imron Zahri, M.S.
NIP. 195210281975031001

Skipsi berjudul "Eksplorasi Bakteri Penghasil Enzim Kitosanase dari Tumbuhan Rawa, Sakatiga Indralaya" oleh Nurjam Sulasi telah dipertahankan di depan Komisi Penguji pada tanggal 28 April 2010 .

Komisi Penguji

1. Indah Widiastuti, SPi, M.Si	Ketua	(.....)
2. Marini Wijayanti, S.Pi, M.Si	Sekretaris	(.....)
3.. Rinto, S.Pi, M.P.	Anggota	(.....)
4. Agus Supriadi, S.Pi, M.Si.	Anggota	(.....)

Mengesahkan,

Ketua Program Studi
Teknologi Hasil Perikanan

Rinto, S.Pi, M.P
NIP. 197606012001121001

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 dengan pembimbing dan belum pernah atau sedang diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan di tempat lain.

Indralaya, Mei 2010

Yang membuat pernyataan

Nurjam Sulasi

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Plaju pada tanggal 20 Agustus 1987, merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara dari pasangan H. M. Nur dan Hj. Masfufah. Pendidikan sekolah dasar diselesaikan pada tahun 1999 di Madrasah Tarbiyah Islamiyah Plaju, Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama pada tahun 2002 di SLTP YKPP 1 Plaju, Palembang dan Sekolah Menengah Atas tahun 2005 di SMA YKPP 1 Plaju. Penulis tercatat sebagai mahasiswi Universitas Sriwijaya, Fakultas Pertanian Program Studi Teknologi Hasil Perikanan sejak Agustus 2005 melalui jalur SPMB.

Penulis telah melaksanakan praktik lapang yang berjudul Proses Pengalengan Ikan di PT. Maya Food Indutries Pekalongan, Jawa Tengah pada tahun 2008 yang dibimbing oleh Bapak Herpandi, S.Pi., M.Si. dan Bapak Rinto, S.Pi., M.P. Penulis pernah dipercaya sebagai asisten mata kuliah Mikrobiologi Hasil Perikanan tahun 2008, Refrigerasi Hasil Perikanan dan Mutu Hasil Perikanan pada tahun 2009. Tutor Mata Kuliah Agama Islam tahun 2009.

Selama menjadi mahasiswa Fakultas Pertanian Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, penulis aktif dalam kegiatan non formal. Kegiatan non formal pernah menjabat sebagai Anggota Departemen Kesejahteraan Musola (Kesmus) di Badan Wakaf dan Pengkajian Islam (BWPI) tahun 2006. Sebagai Staf Departemen Ekonomi Badan Eksekutif Mahasiswa Universitas tahun 2008 dan sebagai Ketua Departemen Kerohanian IMASILKAN periode 2007/2008.

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Eksplorasi Bakteri Penghasil Enzim Kitosanase dari Tumbuhan Rawa Sakatiga, Indralaya. Shalawat dan salam selalu tercurahkan pada Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya hingga akhir zaman.

Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.

Pada kesempatan ini, Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Imron Zahri selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
2. Bapak Herpandi, S.Pi, M.Si. dan Agus Supriadi, S.Pt, M.Si selaku pembimbing akademik yang telah memotivasi, membantu dan memberikan bimbingan, nasehat selama perkuliahan.
3. Ibu Indah Widiastuti, S.Pi, M.Si dan Ibu Marini Wijayanti, S.Pi, M.Si.selaku Pembimbing I dan Pembimbing II yang selalu membantu dan memberikan arahan, perhatian, motivasi serta ilmu selama melakukan penelitian dan penyelesaian skripsi.

4. Bapak Rinto, S.Pi, M.P, Bapak Ace Baehaki, S.Pi., M.Si, Bapak Budi Purwanto, S.Pi, Ibu Susi Lestari, S.Pi, Ibu Rodiana Nopianti, S.Pi, dan Ibu Santi Dwita Lestari, S.Pi, Mbak Ani atas perhatian dan bantuannya.
5. Kepada kedua orang tuaku tercinta (Ayah H. M.Nur dan Ibu Hj. Masfufah) atas do'a dan segenap kasih sayang dan doanya. Ayuk-Ayukku (Hj. Nurmalia dan Hj. Nunji) atas bantuan dan doanya, dan keluarga besar H. Ahmad dan keluargaku di Pekalongan terima kasih atas semua bantuannya dan doanya.
6. Terima kasih kepada teman-teman sepenelitian (Dwi dan Aidil), Teman seperjuangan di Badan Wakaf dan Pengkajian Islam (BWPI) atas doanya dan tausyiahnya. Teman THI 05 dan BDA 05 terima kasih banyak atas semua bantuannya dan adik-adik tingkatku. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan dapat mendukung kemajuan ilmu pengetahuan khususnya bidang perikanan. Amin.

Indralaya, Mei 2010

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL xvi

DAFTAR GAMBAR xvii

DAFTAR LAMPIRAN xviii

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang 1

B. Tujuan 2

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri 3

B. Kitin 3

C. Kitosan 7

D. Enzim Kitosanase 10

E. Rawa 12

F. Tumbuhan Rawa 12

III. PELAKSANAAN PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu 16

B. Alat dan Bahan 16

C. Metode Penelitian 16

D. Cara Kerja 17

E. Analisis Data 20

UPT PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
NO. DAFTAR : 101039
TANGGAL : 08 JUN 2010

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi Bakteri dari Tumbuhan Rawa 21

B. Produksi Enzim..... 26

C. Pengukuran Aktivitas Enzim Kitosanase..... 27

V. KESIMPULAN

A. Kesimpulan 32

B. Saran 32

DAFTAR PUSTAKA 33

LAMPIRAN 36

DAFTAR TABEL

Halaman

1. Kualitas Standar Kitosan..... 9

2. Kitosanase yang telah diisolasi dari beberapa mikroorganisme..... 12

3. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh 22

4. Data diameter indek kitosanase yang dihasilkan oleh isolat bakteri..... 25

DAFTAR GAMBAR

Halaman

1. Struktur Kitin 5
2. Jalur Degradasi kitin secara enzimatis 6
3. Struktur kitosan 8
4. Tumbuhan Kiambang (*Salvina natans*) 14
5. Tumbuhan Teratai (*Nymphae rubra*) 15
6. Koloni Bakteri pada pemurnian (A) Kia2S4, (B) Td1S4, (C) Td2S4..... 24
7. Zona Jernih dari isolat (A) Kia_2S_4, (B) Td_1S_4, (C) Td_2S_4 25
8. Aktivitas Kitosanase dari isolat (A) isolat (Kia2S4), (B) isolat (Td2S4), (C) isolat (Td1S4)..... 28

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

1. Kurva Stur Glukosamin..... 37
2. Data Aktis Enzim Kitosanase 38
3. Perhitungaktivitas Kitosanase..... 40

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kitosanase adalah enzim glikosil hidrolase yang mengkatalisis hidrolisis ikatan β- 1-4- glikosidik dari kitosan sehingga menghasilkan glukosamin oligosakarida (Yun *et al*, 2005). Kitosanase adalah enzim hidrolitik yang beraksi pada ikatan β (1,4) glikosidik dari kitosan, yaitu sebuah biopolimer lurus β (1,4) yang terikat GlcN untuk membebaskan oligomer kitosan. Oligosakarida GlcNAc dan GlcN memiliki sifat aktifitas biologis yang penting (Cheng *et al*, 2005).

Kitosanase menarik perhatian yang luas pada aplikasinya dalam obat-obatan, industri, dan pertanian. Begitu juga oligomer kitosan mendapat perhatian karena tidak hanya larut dalam air namun juga mempunyai aktifitas biologis tersendiri seperti aktivitas anti tumor, anti fungi, dan anti bakteri. Berpengaruh terhadap peningkatan kekebalan dan meningkatkan pertahanan tubuh (Wang *et al*, 2007).

Salah satu sumber enzim kitosanase adalah berasal dari berbagai macam organisme, seperti: *Actinomycetes*, fungi, tumbuhan dan bakteri. Pada tumbuhan kitosanase dipercaya dapat digunakan untuk pertahanan melawan jamur patogen (Wang *et al*, 2007). Mikroorganisme yang terdapat pada lahan rawa ialah *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thioploca*, dan jamur golongan rendah (*Actinomycetes*) (Subba-Roa, 1994 *dalam* Noor, 2007). Lahan rawa lebak merupakan suatu ekosistem yang cukup unik akibat perbedaan genangan air dan adanya periode tergenang dan periode kering. Adanya periode basah dan kering yang berkesinambungan serta adanya perbedaan pemanfaatan lahan lebak diduga akan berpengaruh terhadap keragaman mikroba

(Gofar *et al*, 2007). Beberapa publikasi hasil penelitian melaporkan bahwa tanaman yang mengekspresikan gen kitinase terbukti mempunyai ketahanan terhadap berbagai cendawan tertentu, seperti tanaman tembakau yang tahan terhadap cendawan *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotinia sclerotiorum*, tanaman mentimun yang tahan terhadap serangan *Botrytis cinerea* dan tanaman padi yang tahan terhadap *Rhizoctonia solani* (Siswanto et al, 2003).

Mengingat luasnya aplikasi enzim kitosanase, maka perlu diadakan penelitian untuk mendapatkan bakteri penghasil kitosanase. Eksplorasi dilakukan untuk mendapatkan bakteri penghasil enzim kitosanase dari tumbuhan rawa perairan Sakatiga, Indralaya.

B. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Eksplorasi bakteri penghasil enzim kitosanase diambil dari tumbuhan yang ada di perairan rawa Sakatiga, Indralaya.
2. Mengukur aktivitas enzim kitosanase yang dihasilkan oleh bakteri dari tumbuhan rawa.

DAFTAR PUSTAKA

Aziz S.M, Y.M. Mostafa, dan F.E. Moafi. 2008. Partial purification and some properties of the chitosanases produced by Bacillus Alvei Nrc-14. J. Appl. Sci. Res. 4(10):1285-1290

Budiani. A, I. Susanti, S. Mawardi, D.A. Santoso dan Siswanto. Ekspresi β-1,3 glukanase dan kitinase pada tanaman kopi arabika (cofee arabica L.) tahan dan rentan karat daun. Menara perkebunan. 72(2):57-71.

Cheng, C.H. Chang, Y.J. Wu, dan Y.K. Li. 2005. Exploration of glycosyl hydrolysis family 75,4 chitosanase from *Aspergillus fumigatus*. J. Biol. Chem. 281(6): 3137-3144.

Dewi A.S dan Y.N. Fawzya, 2006. Kitosan Oligosakarida : Produksi dan Potensinya Sebagai. Antibakteri. Squalen. 1:29-33.

Dwijoseputro,1998. Dasar-dasar Mikrobiologi. Djambatan. Jakarta.

Ernest, J.1996. Mikrobiologi Kedokteran. Kedokteran EGC. Jakarta.

Fawzya.Y.N, N. Indriati, dan Th.D. Suryaningrum. 2004. Pengaruh Kitin Pada Medium Produksi Terhadap Aktivitas Kitin deasetilase dari Bacillus K29-14. J. Penelitian Perikanan Indonesia.10:11-17.

Gofar, M. Amin, dan Napoleon. 2007. Keragaman mikroba tanah pada lahan budidaya daerah lebak. J. Akta Agrosia 1:5-10.

Hotmatua, A. 2004. Potensi Anti Mikroba Oligomer Kitosan Yang dihasilkan Dengan Menggunakan Enzim Termostabil Kitosanase LH 28.38. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Irianto, 2007. Mikrobiologi: Menguak dunia mikroorganisme. Yrama Widya. Bandung.

Marianto, L.A. 2003. Tanaman Air. Agromedia Pustaka.

Marcotte. E, P.J. Hart, I. Bouchar, R. Brzezinki, dan J.D. Robertus.1993. Crystallization of a chitosanase N174. J. Mol. Biol. 232:995-996.

Meidina, Sugiyono, S. L. Jenie, dan M.T. Suhartono. 2005. Aktivitas AntiBakteri Oligomer Kitosan yang Diproduksi Menggunakan Kitonase dari Isolat B. Licheniformes MB-2. Prosiding seminar dan kongres perhimpunan ahli teknologi pangan Indonesia, Jakarta. 17-18 November 2004.

DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL UNIVERSITAS SRIWIJAYA UPT PERPUSTAKAAN

Mulyani, S. 2006. Anatomi Tumbuhan. Kanisius. Yogyakarta.

Jasran. F. Ariyanti. dan N. Indriati. 2003. Produksi kitinase dan kitin deasetilase dari *Vibrio harveyi*. J.Penelitian Perikanan Indonesia. 9: 33-38.

Noor, M. 2007. Rawa Lebak: Ekologi, Pemanfaatan dan Pengembangannya. PT Grafindo Persada. Jakarta.

Pasaribu, N. 2004. Berbagai Ragam Pemanfaatan Polimer. Digitized USU digital library. Sumatera Utara. (online). (http:www. Library.usu.id/dowload/ft/kimia.nuraida.pdf, diakses 28 juni 2009).

Pratiwi, S.T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Fakultas Farmasi. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.

Purwoko, T. 2007. Fisiologi Mikroba. Bumi Aksara. Jakarta.

Puspita, E.2007. Studi Karakteristik Kitosanase dari Isolat Basillus Licheniformis MB-2. Skripsi. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Rochima. 2005. Karakteristik kitin dan kitosan asal limbah rajungan Cirebon Jawa Barat. (online) (http:www. Google.com, diakses 10 April 2009).

Setyani, H. 2007. Uji Aplikasi Enzim Kitosanase Yang Diproduksi Oleh Isolat Bakteri JB4 Dari Terasi Untuk Pembuatan Oligomer Kitosan. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. Indralaya.

Sunatmo, T I. 2007. Eksperimen Mikrobiologi Dalam Laboratorium. Ardy Agency. Jakarta.

Suriawiria. 2003. Mikrobiologi Air. PT Alumni. Bandung.

Sutedjo, M.2002. Pengantar Ilmu Tanah. PT Rineka Cipta. Jakarta.

Siswanto, F. Octavia, A. Budiani, Sudarsono, Priyono dan S. Mawardi. 2003. transformasi kopi robusta (*Cofeea carephora*) dengan gen kitinase melalui agrobagterium lumefaciens IB A 4404. Menara perkebunan . 71(8):56-69.

Srijanto, I. Paryanto, Masduki, dan Purwantingsih. Pengaruh derajat deasetilasi bahan baku pada depolimerasi kitosan. Akta kimindo. 1(2):67-72.

Tjitrosoepomo,1981. Taksonomi Tumbuhan (Taksonomi Khusus). Bhratara Karya Aksara. Jakarta.

Toharisman, A. 2007. Peluang Pemanfaatan Enzim Kitinase Di Industri Gula. Kitinase. P3G1.(online) (http: www. Sugarreaserch.org/konsep.peninkatan. rendemen untuk mendukung program akselarasi industri gula, diakses 28 Juni 2009).

Wang Y, P Zhou, Jianxing Y MS, P.MS Xiaorong, dan P.P Wang. 2007. Antimicrobial Effect Of Chitooligosaccharides Produced By Chitosanase From Pseudomonas CUY8. Asia Pac. J Clin Nutr;16.

Yun .C, D. Amakata, Y. Matsuo, H. Matsuda, dan M. Kawamukai. 2005. New Chitosan degrading strain that produce chitosanase similar to cho A of Mitsuaria chitosanitabida. Appl Environ Microbiol. 71(9):5138-5144.

Yunaliza. 2002. Senyawa kitin dan kajian aktivitas enzim mikrobial. (online). (http:www. Library.usu.id/dowload/ft/kimia.nuraida.pdf, diakses 28 juni 2009).

Zilda, D.S, Y.N Fawzya, dan E. Chasanah.2006. Karakteristik enzim kitosanase dari bakteri kitinolitik Tsa1 yang diisolasi dari terasi. J. Pascapanen dari bioteknologi kelautan dan perikanan . 1(1).