



**Karakterisasi Suhu Optimum Enzim Kitinase Fungi Kitinolitik *Aspergillus niger*
Asal Limbah Eksoskeleton Udang Windu (*Penaeus monodon*)**

***Optimum Temperature Characterization of the Chitinase Enzyme of the Chitinolytic Fungus
Aspergillus niger Origin of Tiger Prawn Exoskeleton Waste (Penaeus monodon)***

Muna Riska, Iswadi, Samingan, Hafnati Rahmatan, Wiwit Artika

Program Studi Pendidikan Biologi FKIP USK

*Email: munariska.bio19@fkip.unsyiah.ac.id

Abstrak

Fungi kitinolitik merupakan fungi yang dapat memproduksi enzim kitinase. Kitinase ialah enzim hidrolase yang mampu menguraikan senyawa polimer kitin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui suhu optimum enzim kitinase fungi kitinolitik *Aspergillus niger* asal limbah eksoskeleton udang udang windu (*Penaeus monodon*). Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif sedangkan metode penelitian yang digunakan ialah eksperimen. Parameter yang diamati ialah aktivitas enzim kitinase dari fungi kitinolitik berdasarkan variasi suhu. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan mengukur kekeruhan koloidal kitin menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm. Data dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk grafik. Dari penelitian didapatkan hasil bahwa isolat fungi *Aspergillus niger* memiliki aktivitas kitinase optimum pada suhu 50 °C dengan aktivitas enzim (0,0751 U/mL). Suhu dibawah optimum menyebabkan enzim tidak dapat bekerja karena kekurangan energi sedangkan suhu diatas suhu optimum menyebabkan kerusakan stuktur enzim sehingga tidak dapat berikatan dengan inducer. Simpulan dari penelitian ini ialah isolat fungi *Aspergillus niger* yang berasal dari limbah eksoskeleton udang memiliki aktivitas tertinggi enzim kitinase pada suhu 50 °C.

Kata kunci: fungi, kitinase, kitinolitik

Abstract

Chitinolytic organisms are fungi that can deliver the compound chitinase. Chitinase is a hydrolase protein that can separate chitin polymer compounds. This exploration intends to decide the ideal temperature of the chitinase catalyst of the chitinolytic growth Aspergillus niger from tiger prawn (Penaeus monodon) exoskeleton squander. This examination utilizes a quantitative methodology while the exploration strategy utilized is trial and error. The boundary noticed was the movement of the chitinase compound from chitinolytic organisms in view of temperature varieties. Using a spectrophotometer at a wavelength of 660 nm, the turbidity of colloidal chitin was measured for enzyme activity measurements. Information is broke down expressively and showed in graphical structure. According to the findings of the study, the fungal isolate Aspergillus niger exhibited the highest level of chitinase activity (0.0751 U/mL) at a temperature of 50°C. The enzyme's inability to function is caused by a lack of energy at temperatures below the optimal, while damage to the enzyme's structure at temperatures above the optimal prevents it from binding to the inducer. The study's conclusion is that at 50 °C, isolates of the fungus Aspergillus niger derived from shrimp exoskeleton waste have the highest chitinase enzyme activity.

Key words: fungus, chitinase, chitinolytic



Pendahuluan

Fungi merupakan organisme heterotrof yang berperan penting dalam kehidupan. Fungi yang bersifat saprofit sangat berperan penting dalam proses penguraian bahan-bahan organik sehingga menghasilkan suatu unsur yang dapat dimanfaatkan oleh organisme lain (Solle, 2017). Keberadaan fungi saprofit berperan dalam proses pembusukan materi organik dalam tanah seperti kitin, lignin, dan selulosa (Corneliyawati et al., 2018). Fungi tidak dapat mencerna nutrisi oleh sebab itu fungi mengabsorpsi nutrisi dari luar tubuhnya dengan mengeluarkan enzim-enzim ke lingkungan luar. Dengan bantuan enzim, fungi dapat menyerap nutrisi yang sebelumnya telah dipecah menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana. (Solle, 2017). Fungi yang berkemampuan menguraikan ikatan kitin dengan bantuan enzim kitinase dikenal dengan sebutan fungi kitinolitik (Khikmah, 2016).

Kitinase merupakan enzim yang berperan dalam menguraikan kitin pada ikatan β -1,4 glikosidik (Hanif, 2012). Penguraian kitin menjadi karbon dan nitrogen dengan bantuan kitinase merupakan cara yang efektif dan ramah lingkungan dibandingkan dengan menggunakan bahan kimia (Selvia et al, 2013). Kitinase dapat dihasilkan oleh beberapa genera fungi yaitu seperti *Aspergillus*, *Beauveria*, *Thricoderma*, *Mucor*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Absidia*, dan lainnya (Elawati et al, 2018; Corneliyawati et al, 2018).

Pemanfaatan enzim kitinase saat ini banyak dilakukan dalam bidang pertanian yaitu sebagai pengendali hayati (Herdyastuti et al, 2009). Dalam bidang pertanian, kitinase difungsikan sebagai pengontrol hama tanaman seperti serangga hama, cendawan patogen, dan untuk merusak lapisan kulit luar larva nyamuk (Suryadi et al, 2020; Sembiring et al, 2021). Fungi yang memiliki kandungan enzim kitinase menarik untuk diteliti karena kemampuannya dalam mengubah kitin menjadi produk yang ramah lingkungan (Sudaryati dan Evi, 2016).

Produk hasil degradasi kitin dengan bantuan enzim kitinase sangat bermanfaat terutama dalam bidang pertanian dan kesehatan. Karakterisasi suhu optimum perlu dilakukan untuk melihat aktivitas enzim kitinase tertinggi dalam mendegradasi kitin sehingga dihasilkan produk yang optimal. Penelitian ini dilakukan untuk melihat suhu optimum yang dibutuhkan oleh fungi kitinolitik spesies

Aspergillus niger yang berasal dari limbah eksoskeleton udang untuk mencapai aktivitas enzim kitinase tertinggi.

Metode Penelitian

Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif dengan jenis penelitian eksperimen.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Februari sampai Agustus 2023 di Laboratorium Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Syiah Kuala.

Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah isolat fungi kitinolitik *Aspergillus niger* yang berasal dari limbah eksoskeleton udang windu (*Panaeus monodon*).

Prosedur

Sterilisasi Alat

Sebelum peralatan dan bahan digunakan dalam penelitian, maka terlebih dahulu harus dilakukan sterilisasi pada suhu 121°C sampai mencapai tekanan 1 atm menggunakan autoklaf. Alat yang tidak disterilkan dengan autoklaf seperti jarum inokulum disterilkan dengan menggunakan alkohol 75% dan dibakar dengan pembakar spiritus.

Peremajaan Isolat Fungi Kitinolitik

Isolat fungi kitinolitik diperoleh dari kultur stok yang tersedia. Peremajaan isolat diawali dengan pembuatan media PDA sebagai media tumbuh baru jamur yang akan diremajakan. Media dibuat dengan 11,7 g PDA dan kloramfenikol 0,01 g ke dalam 300 ml aquades. Kemudian disetarakan dengan menggunakan *hot plate stirrer*. Larutan tersebut selanjutnya disterilisasikan selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm di dalam autoklaf. Setelah disterilisasikan, media selanjutnya dituang ke dalam *petridish* dan dibiarkan sampai memadat. Setelah itu, dilakukan inokulasi isolat fungi dengan menggunakan jarum inokulum. Pengerjaan inokulasi dikerjakan dalam *laminar air flow*. Pada suhu ruang, kultur disimpan selama 4 hari.

Pembuatan Koloidal Kitin

Sebanyak 20 g kitin yang telah dihaluskan diambil dan dicampur dengan 400



ml HCl pekat. Kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *hot plate stirrer* selama 2 jam. Selanjutnya larutan dinkubasi selama 24 jam di dalam *freezer*. Setelah itu, larutan disaring dengan menggunakan kertas filter dan dinetralkan menggunakan NaOH 12N dan aquades steril sampai mencapai pH 7. Kemudian filtrat dan residu dipisahkan menggunakan *centrifuge* selama 10 menit pada kecepatan 4000 rpm. Residu dicuci dengan menggunakan aquades steril dan disentrifugasi. Residu lalu disimpan selama 24 jam di dalam *Freezer* lalu akan digunakan sebagai koloidal kitin (Widhyastuti, 2007).

Produksi Kitinase

Proses produksi kitinase diawali dengan pembuatan media padat *Potato Dextrose Agar* (PDA). Selanjutnya dilakukan pembuatan media pertumbuhan yang dibuat dari (g/L air): MgSO₄·7H₂O 5 g; KH₂PO₄ 7,5 g; CaCl₂·H₂O 1 g, *yeast extract* 1 g dan 100 ml aquades (Purkan et al., 2016). Dimasukkan isolat fungi ke dalam media PDA lalu dibiarkan pada suhu ruang selama 4 hari. Ditumbuhkan isolat fungi pada media PDA dan dibiarkan selama 4 hari pada suhu ruang. Selanjutnya 7 ml aquades steril ditambahkan ke dalam kuvet dan dipanen spora menggunakan ose. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur kerapatan optik (OD) spora pada panjang gelombang 660 nm hingga serapannya mencapai 0,5 (Widhyastuti, 2007). Inokulum sebesar 1 ml dimasukkan ke dalam 100 ml media pertumbuhan dan disimpan pada suhu 30°C. Dilakukan inkubasi dalam *waterbath shaker* dengan kecepatan penggojokan 170 rpm. Kemudian diambil 5 ml inokulum dan dipisahkan dengan *centrifuge* pada kecepatan 3500 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. *crude enzim* berada pada bagian supernatan diuji aktivitas enzimnya agar diketahui karakterisasi pH optimum dan karakterisasi suhu optimum (Purkan et al., 2016).

Karakterisasi Suhu Optimum

Proses karakterisasi suhu optimum dikerjakan dengan mencampurkan 400 µl ekstrak kasar enzim kitinase dengan 1600 µl substrat koloidal kitin (1% koloidal kitin dalam 50 mM buffer). Selanjutnya larutan disimpan di dalam inkubator selama 30 menit dengan variasi suhu, yaitu 20°C, 30°C, 40°C, 50°C dan 60°C (Purkan et al., 2016). Selanjutnya, suspensi dikocok dengan vortex selama 1 menit

lalu diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer (Kholifah, 2013).

Pengujian Aktivitas Kitinase

Aktivitas ekstrak kasar enzim kitinase dihitung pada serapan panjang gelombang 660 nm dengan alat spektrofotometer (Nurmalinda et al., 2020). Aktivitas enzim kitinase dapat diukur berdasarkan sisa substrat kitin yang belum terhidrolisis. Pergerakan kimia kitinase ditentukan mengingat adanya kelebihan substrat kitin yang belum terhidrolisis. Hasil kontrol *Optical Density* (OD) dikurangi dengan sisa OD kitin sehingga menghasilkan *Optical Density* (OD) yang kemudian diubah menjadi kondisi garis $y = 1,422x + 0,060$ untuk menghitung kandungan kitin (Ningrum, 2012)

Hasil perhitungan kadar kitin dimasukkan ke dalam rumus aktivitas enzim. Adapun rumus untuk menghitung aktivitas enzim adalah sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas Enzim (U/mL)} = \frac{K \times 1000}{t \times \text{BM}}$$

Keterangan:

K = Konsentrasi (%)

t = Waktu inkubasi

BM = Berat molekul (Glc-NaC = 221,21 g/mol)

Teknik Pengumpulan Data

Pergerakan senyawa diperkirakan menggunakan teknik turbidimetri (Harman et al., 1993), yang bergantung pada pengurangan kekeruhan kitin koloid pada frekuensi konsumsi 660 nm (Kholifah, 2013). Tiga ulangan digunakan dalam setiap percobaan.

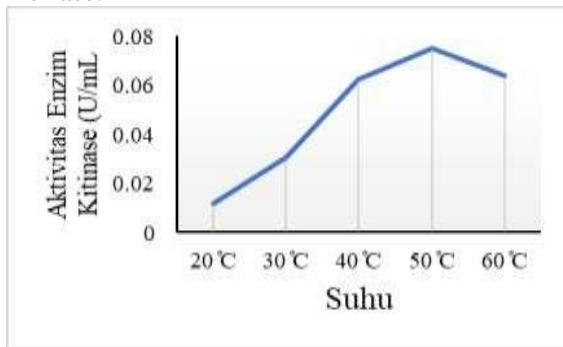
Teknik Analisis Data

Data dianalisis dengan metode deskriptif kuantitatif yaitu dengan cara mengklasifikasikan data berdasarkan pengukuran variabel. Data akan disajikan dalam bentuk grafik dari masing-masing aktivitas enzim yang diperoleh

Hasil Penelitian dan Pembahasan

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kerja enzim adalah suhu. Untuk mengetahui kerja optimal enzim kitinase perlu diketahui suhu optimum. Untuk menentukan suhu optimum digunakan suhu 20°C, 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C dengan menggunakan dukungan pH buffer. Gambar 1 menunjukkan pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim

kitinase.



Gambar 1. Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim Kitinase

Berdasarkan Gambar 1, aktivitas enzim kitinase meningkat seiring dengan meningkatnya suhu, namun aktivitas enzim akan menurun setelah dicapainya suhu optimum. Aktivitas enzim kitinase tertinggi isolat fungi *Aspergillus niger* pada suhu 50°C dengan aktivitas enzim (0,0751 U/mL).

Enzim merupakan rangkaian asam amino yang aktivitasnya dipengaruhi oleh suhu (Istia'nah et al, 2020). Aktivitas enzim kitinase optimum pada suhu 50 °C termasuk ke dalam kategori termozim atau termostabil yang dapat tahan terhadap suhu tinggi (Meryandini et al, 2010; Alam et al, 2013). Hardi (2017) melanjutkan bahwa setiap kenaikan 10°C di atas suhu minimum, aktivitas enzim dapat berlipat ganda hingga mencapai kondisi optimum. Purkan (2016) memahami bahwa tingkat respons katalisis protein enzim akan meningkat seiring dengan ditambahnya pengaruh suhu. Memperluas suhu ke suhu ideal menyebabkan peningkatan kecepatan respon katalis karena adanya pemuatan energi motorik yang mempercepat perkembangan protein dan substrat. Ketika suhu optimum tercapai, pengaruh antara katalis dan substrat sangat kuat, sehingga penyatuan protein dengan substrat menjadi lebih baik dan produk yang dihasilkan semakin meluas (Istia'nah et al., 2020).

Aktivitas enzim kitinase fungi *Aspergillus niger* pada suhu 20°C aktivitasnya rendah. Hal ini disebabkan ketidakmampuan enzim untuk bekerja secara optimal akibat kurangnya energi untuk melakukan reaksi (Purkan et al., 2014). Penurunan aktivitas enzim juga terjadi saat mencapai suhu 60 °C setelah mengalami kondisi suhu optimum. Hal ini terjadi mengingat bahan kimia enzim tersusun atas protein yang dapat mengalami kerusakan karena pengaruh suhu yang tinggi. Untuk

mempengaruhi kemampuan enzim dalam berikatan dengan substrat, denaturasi ini mengubah konformasi enzim dengan meregangkan ikatan hidrogen reversibel (Haedar, 2017). Dijelaskan lebih lanjut oleh Hardoko et al (2019) bahwa denaturasi enzim dapat mengubah struktur sekunder, tersier, dan kuartir dari molekul protein yang menyebabkan enzim tidak dapat beraktivitas secara optimal.

Simpulan dan Saran

Simpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa aktivitas enzim kitinase fungsi kitinolitik *Aspergillus niger* asal limbah eksoskeleton udang windu (*Penaeus monodon*) optimum pada suhu 50 C.

Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan untuk mengaplikasikan enzim kitinase pada serangga patogen tanaman padi (*Oryza sativa*).

Daftar Pustaka

- Alam, M. S., Sarjono, P. R., & Aminin, A. L. (2013). Isolasi dan Karakterisasi Selulase dari Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. *Jurnal Sains dan Matematika*, 21(2), 48-53.
- Corneliyawati, E., Massora, M., & Khikmah, K. (2018). Optimalisasi Produksi Enzim Kitinase Pada Isolat Jamur Kitinolitik Dari Sampel Tanah Rizosfer. *Edubiotik: Jurnal Pendidikan, Biologi dan Terapan*, 3(1), 62-69.
- Elawati, N. E., Pujiyanto, S., & Kusdiyantini, E. (2018). Karakteristik dan Sifat Kinetika Enzim Kitinase Asal Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 5(1), 1-7.
- Haedar, N., Fahrudin, F., Aryanti, W., & Natsir, H. (2017). Produksi dan Karakterisasi Enzim Kitinase dari Bakteri Kitinolitik Asal Kerang *Anadara granosa*. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 8(1), 14-21
- Hanif, A., Suryanto, D., & Nurwahyuni, I. (2012). Pemanfaatan bakteri kitinolitik dalam menghambat pertumbuhan *Curvularia* sp. penyebab penyakit bercak daun pada tanaman mentimun. *J Saintia Biologi*, 1(1), 26-32.



- Hardoko, H., Mastuti, T. S., Puspasari, D., & Halim, Y. Utilization of Crude Intracellular Chitinase Enzyme from *Providencia stuartii* for Glucosamine Production from Shrimp Shells. *Reaktor*, 19(2), 62-67.
- Harman, G.E., Hayes, C.K., Lorito, M., Broadway, R.M., Di Pietro, A., Peterbauer, C. dan Tronsmo, A. (1993). Chitinolytic Enzymes of *Trichoderma harzianum*: Purification of Chitobiosidase and Endochitinase. *Phytopathology*, 83(3), 313- 318.
- Herdyastuti, N., Raharjo, T. J., Mudasir, M., & Matsjeh, S. (2009). Chitinase and Chitinolytic Microorganism: Isolation, Characterization and Potential. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9(1), 37-47.
- Istia'nah, D., Utami, U., & Barizi, A. (2020). Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus megaterium* pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*, 2(1), 11-17.
- Khikmah, S. Sebastian.M. Rina S.K. (2016). Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Kapang Kitinolitik yang Diisolasi dari Tanah Pembuangan Limbah Udang dan Rizosfer Solanaceae. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 1(1),1-8.
- Kholifah, A. (2013). Pemurnian Parsial dan Uji Stabilitas Enzim Kitinase dan β -1,3-Glukanase dari Cairan Digestif *Achatina fulica*. [Skripsi, Universitas Airlangga], Surabaya.
- Meryandini, A., Widosari, W., Maranatha, B., Sunarti, T. C., Rachmania, N., & Satria, H. (2010). Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara Journal of Science*, 13(1), 33-38.
- Ningrum, D. R. (2012). *Purifikasi Parsial dan Karakterisasi Enzim Kitinase dari Cairan Digestive Gland Achatina fulica*. [Skripsi, Universitas Airlangga], Surabaya.
- Nurmalinda, A., N. R. Mubarik dan L. Sudirman. (2020). Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Kitinase Penghambat Pertumbuhan Cendawan Patogen Tanaman. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(1), 35-42.
- Purkan, P., Baktir, A., & Sayyidah, A. R. (2016). Produksi Enzim Kitinase dari *Aspergillus niger* Menggunakan Limbah Cangkang Rajungan Sebagai Induser. *Jurnal Kimia Riset*, 1(1), 34-41.
- Purkan, P., Baktir, A., & Sumarsih, S. (2014). Eksplorasi Bakteri Kitinolitik dari Sampah Organik: Isolasi dan Karakterisasi Enzim Kitinase. *Molekul*, 9(2), 128-135.
- Selvia, R. I., Wuryanti, W., & Sriatun, S. (2013). Isolasi dan karakterisasi kitinase dari isolat jamur akuatik kitinolitik berasal dari kupu-kupu (Lepidoptera). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16(3), 97-101.
- Sembiring, S. C., Warouw, V., Wullur, S., Bara, R. A., Salaki, M. S., & Ginting, E. L. (2021). Isolation and Screening the Symbiont Bacteria of the Sponge *Drumacidon* sp from Manado Bay, North Sulawesi that Producing Chitinase and Protease. *Jurnal Ilmiah PLATAX*, 9(1), 123-131.
- Solle, H., Klau, F., & Nuhamara, S. T. (2017). Keanekaragaman Jamur di Cagar Alam Gunung Mutis Kabupaten Timor Tengah Utara, Nusa Tenggara Timur. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 105- 110.
- Sudaryati, Y. S., & Evi, T. (2016). Pemanfaatan Limbah Kulit Udang untuk Menghasilkan Enzim Kitinase dari *Streptomyces macrosporeus* InaCC A454. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 18(1), 91-101.
- Suryadi, Y., Susilowati, D., Samudra, I. M., Permatasari, M., & Ambarsari, L. (2020). Karakterisasi Kitinase Isolat Bakteri Rhizosfir Asal Cianjur dan Aktivitasnya terhadap Patogen *Colletotrichum* sp. *Bioma: Jurnal Ilmiah Biologi*, 9(1), 54-71
- Widhyastuti, N. (2007). Produksi Kitinase Ekstraseluler *Aspergillus rugulosus* 501 Secara Optimal pada Media Cair. *Berita Biologi*, 8(6), 547-553.