

## Pembentukan N-Asetilglukosamin dari Kitin Cangkang Udang oleh *Serratia marcescens* PT-6 yang dikultur pada berbagai pH dan Suhu

### Bioformation of N-Acetylglucosamine from Shrimp Shell Chitin by *Serratia marcescens* PT-6 Cultured in various pH and Temperature

Bekti W. Sari, Nurul B. Isnaini, Indun D. Puspita\*, Amir Husni & Ustadhi

Departemen Perikanan, Fakultas Pertanian UGM

Jl. Flora, Gedung A4, Bulaksumur Yogyakarta, 55281

\*Penulis untuk korespondensi, email: indun\_dp@ugm.ac.id

#### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH dan suhu dalam pembentukan N- Asetilglukosamin (NAG) dari kitin cangkang udang oleh *Serratia marcescens* PT-6 yang difermentasi dalam media kitin cair. Parameter yang diuji dalam proses pembentukan NAG meliputi pertumbuhan bakteri, aktivitas kitinase (U/ml), serta konsentrasi NAG dalam medium (mg/ml). Pertumbuhan bakteri diukur berdasarkan kekeruhan ( $OD_{600}$ ), sedangkan aktivitas kitinase dan konsentrasi NAG dalam medium dianalisis secara kuantitatif dengan metode kolorimetri. Variasi nilai pH yang dicobakan dalam media kitin cair adalah pH 5; 6; 7; 8, sedangkan variasi suhu yang dicobakan adalah 30°C; 37°C; dan 40°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi NAG maksimum yang dihasilkan oleh *Serratia marcescens* PT-6 sebesar 33,86 µg/ml pada hari ke-3 inkubasi, dengan kondisi pH 7 dan suhu 30°C. Aktivitas kitinase pada waktu yang sama mencapai nilai maksimum sebesar 0,002 U/ml, sedangkan nilai  $OD_{600}$  sebesar 0,42 menunjukkan bakteri berada pada fase logaritmik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Serratia marcescens* PT-6 berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut dalam proses biokonversi NAG dari limbah cangkang udang secara enzimatik dengan memperhatikan kondisi kulturnya.

**Kata kunci:** Kitinase, kitin, N-Asetilglukosamin, *Serratia marcescens* PT-6

#### Abstract

The study aimed to determine the effect of pH and temperature on N-Acetylglucosamine (NAG) formation from shrimp shell chitin by *Serratia marcescens* PT-6 fermented in chitin broth medium. Parameters examined on NAG formation include bacteria growth, chitinase activity (U/ml), and NAG concentration in medium (mg/ml). Bacteria growth was measured by turbidity ( $OD_{600}$ ), while chitinase activity and NAG concentration in the medium were analyzed quantitatively by colorimetric assay. The variation of initial pH examined in chitin broth medium was 5; 6; 7; 8, while temperature variation was 30°C; 37°C; dan 40°C. The results show that maximum concentration of NAG formed by *Serratia marcescens* PT-6 was 33.86 µg/ml on day-3 of fermentation, at pH 7 and temperature of 30°C. Chitinase activity on the same day was 0.002 U/ml, while  $OD_{600}$  value of the culture was 0.42 indicating the bacteria were in the log phase. This research implies that *Serratia marcescens* PT-6 is potential to be optimized further for the bioconversion process of NAG from shrimp shell waste through an enzymatic method by modifying its culture condition.

**Keyword:** Chitinase, chitin, N-Acetylglucosamine, *Serratia marcescens* PT-6

#### Pendahuluan

Kitin merupakan polimer terbanyak kedua di alam setelah selulosa yang tersusun dari  $\beta$ -1,4 N-Asetil-D-Glukosamin. Salah satu bahan alam yang banyak dieksplorasi sebagai sumber kitin adalah kulit udang karena jumlahnya yang melimpah, harganya yang murah, mudah didapat, serta memiliki kandungan kitin yang cukup tinggi, sebesar 20%-50% dari berat kering (Azhar *et al.*, 2010). Ketersediaan limbah kulit udang yang melimpah sebagai hasil samping dari industri pengolahan udang di Indonesia belum dimanfaatkan

secara optimal, sehingga seringkali menimbulkan pencemaran lingkungan. Menurut Swastawati *et al.* (2008), apabila pemanfaatan limbah kulit udang yang tersedia dapat dioptimalkan maka nilai jualnya akan meningkat, serta mengurangi pencemaran lingkungan.

Salah satu upaya peningkatan nilai jual limbah kulit udang yaitu dengan mengkonversinya menjadi kitin dan produk hidrolisisnya yaitu N-Asetilglukosamin (NAG) yang dilaporkan memiliki banyak manfaat dalam bidang bioteknologi dan industri. Menurut

Widhyastuti (2010), NAG bersifat stabil dan memiliki rasa manis, oleh karena itu senyawa tersebut sering diaplikasikan pada bidang industri, farmasi atau pangan. Senyawa NAG dalam bidang industri dimanfaatkan sebagai pengawet dan antibiotik (Yurnaliza, 2002), serta diaplikasikan pada kosmetik yang mampu mengikat kadar air (Sayo *et al.*, 2004). Pemanfaatan NAG dalam bidang pangan yaitu dapat diaplikasikan sebagai suplemen pangan pada susu UHT (Khusniati *et al.*, 2012), sedangkan NAG dalam bidang farmakologi berpotensi untuk penyembuhan luka (Minami & Okamoto, 2007), pengobatan osteoarthritis, gangguan tulang ataupun sendi, dan *inflammatory bowel disease* (Chen *et al.*, 2010).

Produksi NAG dapat dilakukan secara kimiawi melalui hidrolisis kitin menggunakan asam klorida (HCl). Metode tersebut kurang ramah lingkungan karena bahan kimia yang digunakan berupa asam pekat yang bersifat korosif, dan diperlukan dalam jumlah yang sangat banyak, sehingga menimbulkan limbah proses kimia yang berpotensi mencemari lingkungan (Chen *et al.*, 2010). Salah satu teknologi produksi NAG yang dapat menjadi alternatif adalah metode enzimatis dengan melibatkan peran bakteri kitinolitik.

Bakteri kitinolitik adalah bakteri penghasil kitinase yang berperan dalam mendegradasi kitin. *Serratia marcescens* merupakan salah satu bakteri yang memiliki aktivitas kitinolitik (Muharni, 2009). Laboratorium Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan UGM telah mengisolasi bakteri PT-6 dari sedimen tambak udang yang teridentifikasi secara molekular sebagai *Serratia marcescens* (99%) dengan indeks kitinolitik (IK) tinggi mencapai 2,14 (Kholifah, 2015; Triwijayani, 2016).

Nilai pH menurut Brzezinska & Donderski (2001) merupakan beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas kitinase yang diproduksi oleh bakteri, selain itu menurut Sumantha *et al.* (2006) peningkatan produksi enzim dapat dilakukan dengan optimasi parameter pH, suhu, serta komposisi medium. Penelitian Chakraborty *et al.* (2012) menunjukkan bahwa *Serratia marcescens* mampu menghasilkan aktivitas kitinase yang tinggi pada pH 7 yaitu sebesar 10,12 U/ml, dibandingkan pada keadaan asam dan basa. Chakraborty *et al.* (2012) juga menyebutkan bahwa suhu 30 °C merupakan suhu terbaik bagi *Serratia marcescens* untuk menghasilkan aktivitas kitinase hingga 10,63 U/ml. Pengaruh pH dan suhu terhadap produksi kitinase akan mempengaruhi pembentukan hasil hidrolisis kitin yang berupa monomer NAG. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pH dan suhu terbaik dalam pembentukan NAG dalam medium kitin oleh *Serratia marcescens* PT-6.

## Metode Penelitian

### *Persiapan media dan inokulum*

Media yang digunakan dalam penelitian berupa kitin cair (0,07% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,03% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,05% MgSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, 0,0001% ZnSO<sub>4</sub>, 0,0001% MnCl<sub>2</sub>, dan 2% koloidal kitin) dan kitin agar (0,07% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,03% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,05% MgSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, 0,0001% ZnSO<sub>4</sub>, 0,0001% MnCl<sub>2</sub>, 2% koloidal kitin, 2% agar) (Hsu & Lockwood, 1974). Pembuatan kitin mengacu pada Hargono & Sumantri (2008), sedangkan koloidal kitin mengacu pada Arnold & Solomon (1986).

Penyegaran *Serratia marcescens* PT-6 dilakukan dengan memasukkan 1 ose kultur dari stok gliserol dalam 7 ml kitin cair dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 3 hari. Kultur yang didapatkan ditransfer ke dalam kitin agar miring dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 3 hari. Bakteri yang tumbuh dijadikan sebagai sediaan kultur kerja yang disimpan pada suhu 4°C. Inokulum disiapkan dengan mengambil 1 ose bakteri dari sediaan kultur kerja ke dalam 7 ml kitin cair dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 3 hari.

### *Pembentukan NAG pada berbagai pH*

Media yang digunakan pada tahap ini berupa kitin cair dengan 4 variasi nilai pH awal media yaitu pH 5, 6, 7, dan 8, Nilai pH medium diatur menggunakan HCl 1 N dan NaOH 1 N. Tahapan ini diawali dengan memindahkan inokulum bakteri sebanyak 225 µl ke dalam 45 ml kitin cair dan diinkubasi selama 4 hari dalam *waterbath shaker* pada suhu 30°C serta agitasi 70 rpm. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Setiap 24 jam sekali, dilakukan pengambilan kultur uji untuk pengukuran kepadatan bakteri, aktivitas kitinase, dan konsentrasi NAG, masing-masing sebanyak 1 ml. Parameter yang diamati meliputi pertumbuhan bakteri menggunakan *optical density* (OD<sub>600</sub>), aktivitas kitinase (U/ml) berdasarkan Wang *et al.* (2010) dan Reissig *et al.* (1955), serta konsentrasi NAG (mg/ml) dalam medium fermentasi berdasarkan Reissig *et al.* (1955). Nilai pH terbaik dalam menghasilkan NAG pada tahap ini digunakan untuk tahap berikutnya.

### *Pembentukan NAG pada Berbagai Suhu*

Pembentukan NAG pada berbagai suhu diujikan dengan memvariasikan suhu inkubasi yang dilakukan sebanyak 3 perlakuan, masing-masing 3 kali ulangan, meliputi suhu 30°C; 37°C; dan 40°C. Pengukuran konsentrasi NAG yang terbentuk pada berbagai suhu dilakukan menggunakan metode Reissig *et al.* (1955).

### *Pengukuran Pertumbuhan Bakteri*

Sebanyak 1 ml biakan bakteri dalam medium kitin cair yang telah diambil, diukur absorbansinya dengan panjang gelombang  $\lambda = 600$  nm. Prinsip kerja *optical density* yaitu didasarkan pada pengukuran tingkat

kekeruhan sel bakteri.

**Pengukuran Aktivitas Kitinase**

Kultur uji disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Setelah didapatkan supernatan bebas sel melalui sentrifugasi, dilakukan pemisahan sampel dengan kontrol. Kontrol yang digunakan yaitu berupa supernatan bebas sel yang diberi perlakuan pemanasan dalam air mendidih selama 3 menit. Sebanyak 500 µl supernatan bebas sel, baik sampel maupun kontrol, direaksikan dengan 1 ml koloidal kitin 1,3% (dalam buffer fosfat 50 mM pH 7,4) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Campuran tersebut direbus dalam air mendidih selama 3 menit untuk menghentikan reaksi enzimatik yang terjadi, selanjutnya didinginkan dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit (Wang *et al.*, 2010).

Pengukuran konsentrasi NAG yang terbentuk dalam medium mengacu pada metode Reissig *et al.* (1955) yaitu dengan mereaksikan supernatan hasil reaksi sebanyak 250 µl ditambahkan kalium tetraborat sebanyak 50 µl untuk pengikatan NAG. Larutan direbus dalam air mendidih selama 3 menit agar mempercepat pengikatan NAG oleh kalium tetraborat, kemudian didinginkan, dan direaksikan dengan 1,25 ml reagen p-dimetilaminobenzaldehida (DMAB). Larutan segera diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, untuk selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 584 nm.

Nilai absorbansi sampel dan kontrol dibandingkan dengan nilai absorbansi larutan standar NAG. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan membuat larutan standar NAG pada berbagai konsentrasi (0; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15 µg/ml). Nilai absorbansi larutan standar NAG diukur menggunakan panjang gelombang yang sama dengan panjang gelombang untuk mengukur absorbansi sampel yaitu 584 nm sehingga diperoleh persamaan matematis sebagai kurva standar. Satu unit aktivitas kitinase didefinisikan sebagai jumlah µmol NAG yang dihasilkan dari reaksi enzimatik tiap menit pada suhu 37 °C selama 30 menit inkubasi.

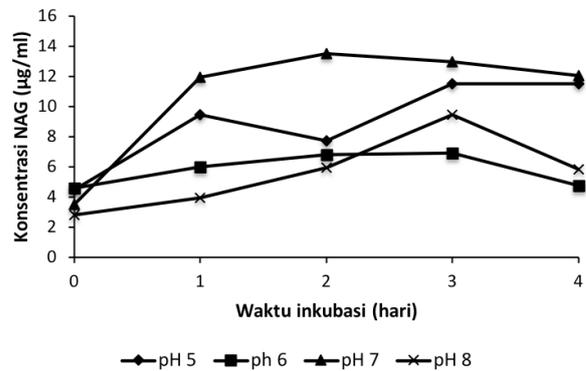
**Pengukuran Konsentrasi NAG**

Kultur uji disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Sebanyak 500 µl supernatan bebas sel digunakan untuk pengukuran konsentrasi NAG pada medium dengan mengacu metode Reissig *et al.* (1955) seperti yang telah dipaparkan sebelumnya. Konsentrasi NAG dihitung menggunakan persamaan kurva standar NAG pada berbagai konsentrasi yang dinyatakan dalam satuan mg/ml.

**Hasil dan Pembahasan**

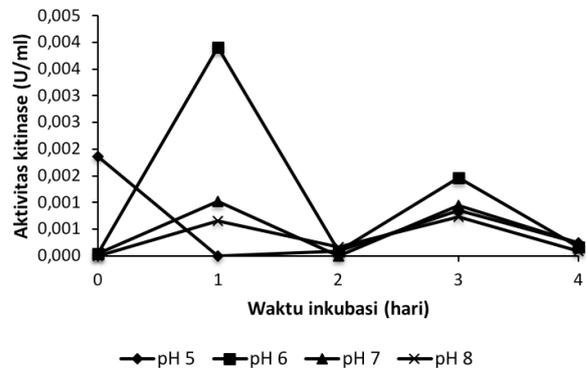
**Pembentukan NAG pada Berbagai pH**

Secara umum, konsentrasi NAG yang terbentuk pada hari pertama fermentasi pada semua perlakuan pH mengalami peningkatan dibandingkan hari ke-0, kemudian mengalami penurunan ketika memasuki hari ke-4 (Gambar 1). Konsentrasi NAG pada medium dengan pH 7 dan 5 lebih tinggi dibandingkan konsentrasi NAG pada medium dengan pH 6 dan 8. Selama proses fermentasi berlangsung, konsentrasi NAG pada pH 7 menunjukkan hasil tertinggi dibandingkan ketiga perlakuan lain, dengan konsentrasi NAG maksimum mencapai 13,48 µg/ml pada hari ke-2 fermentasi.



Gambar 1. Pengaruh pH terhadap konsentrasi NAG (µg/ml) dalam medium yang dihasilkan oleh *Serratia marcescens* PT-6 selama 4 hari inkubasi.

NAG merupakan monomer dari kitin yang berasal dari hidrolisis kitin dalam medium oleh kitinase, dalam hal ini dihasilkan oleh *Serratia marcescens* PT-6. Aktivitas kitinase *Serratia marcescens* PT-6 pada keempat pH menunjukkan hasil yang fluktuatif setiap harinya. Gambar 2 memperlihatkan bahwa tren aktivitas kitinase pada keempat pH mengalami peningkatan



Gambar 2. Pengaruh pH terhadap aktivitas kitinase (U/ml) yang dihasilkan oleh *Serratia marcescens* PT-6 selama 4 hari inkubasi.

pada hari ke-1 dan ke-3. Aktivitas kitinase tertinggi dari semua perlakuan pH dicapai pada pH 6 ketika memasuki hari pertama fermentasi yaitu sebesar 0,0039 U/ml.

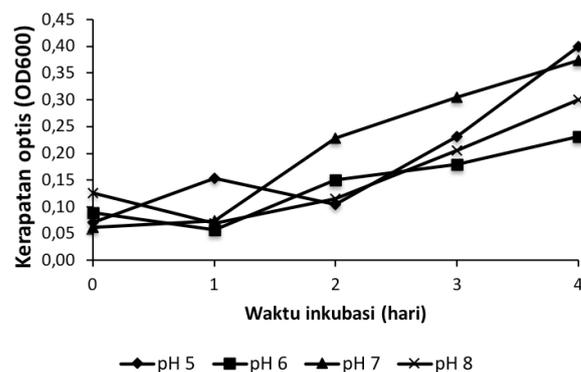
Variasi pH yang digunakan pada medium menunjukkan adanya perbedaan produksi kitinase *Serratia marcescens* PT-6. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH 6 merupakan pH yang paling sesuai bagi *Serratia marcescens* PT-6 untuk menghasilkan kitinase, ditunjukkan dengan tercapainya aktivitas kitinase tertinggi pada pH tersebut. Aktivitas kitinase tertinggi yang dihasilkan *Serratia marcescens* pada pH 6 juga dilaporkan dalam penelitian Sudhakar & Nagarajan (2011) serta Lamine *et al.* (2012). Aktivitas kitinase *Serratia marcescens* 97 yang diisolasi dari jamur (Sudhakar & Nagarajan, 2011) serta *Serratia marcescens* DSM 30121<sup>T</sup> (Lamine *et al.*, 2012) mencapai jumlah tertinggi pada pH 6 serta suhu 30°C berturut-turut sebesar 37,2 U/ml dan 0,556 U/ml.

Brzezinska & Donderski (2001) menyatakan bahwa nilai pH merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas kitinase yang diproduksi oleh bakteri. Setiap enzim memiliki pH optimal yang berbeda untuk aktivitasnya yaitu pada keadaan ketika ion H<sup>+</sup> dan OH<sup>-</sup> seimbang. Hal tersebut memungkinkan sisi aktif untuk bergabung dengan substrat sehingga laju reaksi pun dapat mencapai titik optimum. Perubahan nilai pH menyebabkan terganggunya keseimbangan ion H<sup>+</sup> dan OH<sup>-</sup> yang juga mempengaruhi ikatan hidrogen dan ionik sebagai penyusun enzim. Keadaan tersebut menyebabkan sisi aktif enzim tidak mampu bergabung dengan substrat sehingga laju reaksi menurun. Selama fermentasi, terjadi perubahan pH pada medium dengan perlakuan pH awal 5, 7, dan 8, sedangkan pH pada medium dengan perlakuan pH awal 6 tetap hingga akhir fermentasi (data tidak ditampilkan). Perubahan pH ini diduga mempengaruhi aktivitas kitinase akibat ketidakseimbangan ion H<sup>+</sup> dan OH<sup>-</sup> dalam medium fermentasi.

Berdasarkan Gambar 1 dan 2 dapat diamati bahwa produksi kitinase tidak selalu berbanding lurus dengan konsentrasi NAG yang dibebaskan. Tingginya produksi kitinase tidak selalu diikuti dengan konsentrasi NAG yang tinggi pula dalam medium fermentasi. Aktivitas kitinase tertinggi selama fermentasi dicapai pada perlakuan pH 6 pada hari ke-1, namun jumlah NAG yang dibebaskan oleh kitinase pada hari yang sama justru bernilai rendah. Hal serupa juga terjadi pada perlakuan pH 6 hari ke-3. Ketika kitinase menunjukkan aktivitas tertinggi pada hari ke-3, konsentrasi NAG yang dibebaskan pada medium justru menunjukkan hasil yang lebih rendah dibanding ketiga perlakuan lain.

Maggadani (2012) menyatakan bahwa apabila produk utama yang dihasilkan oleh kitinase berupa NAG, maka keberadaan N-Asetilglukosaminidase lebih dominan dibandingkan endokitinase. Sebaliknya apabila kitinase hanya menghasilkan produk NAG dalam jumlah yang rendah, diikuti dengan adanya produk oligomer lain membuktikan bahwa keberadaan endokitinasesnya lebih dominan atau sebanding dengan keberadaan eksokitinasesnya. Brurberg *et al.* (1996) menyatakan bahwa *Serratia marcescens* memiliki aktivitas endokitinase serta eksokitinase. Analisis degradasi oligomer N-Asetilglukosamin tersebut menunjukkan bahwa kitinase A (Chi A) dan kitinase B (Chi B) *Serratia marcescens* mampu membebaskan (NAG)<sub>2</sub>, serta terbentuk pula monomer dari rantai panjang (NAG)<sub>n</sub>.

Medium dengan pH awal 7 menunjukkan konsentrasi NAG yang relatif stabil dibandingkan ketiga perlakuan lain. Seperti terlihat pada Gambar 1. konsentrasi NAG pada medium dengan pH awal 7 menunjukkan hasil tertinggi dibanding ketiga perlakuan lain dari hari ke-1 hingga hari ke-4, meskipun aktivitas kitinase pada hari yang sama justru menunjukkan hasil yang lebih rendah dibanding perlakuan lain. Hal ini diduga terjadi karena adanya hubungan antara kitinase dengan NAG. Sesuai dengan pemaparan Donderski & Trzebiatowska (1999) yang menyatakan bahwa kemelimpahan jumlah NAG dapat menghambat kitinase bakteri yang diakibatkan oleh terbentuknya inhibitor katabolik pada saat sintesa kitinase berlangsung.



Gambar 3. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan *Serratia marcescens* PT-6 selama 4 hari inkubasi.

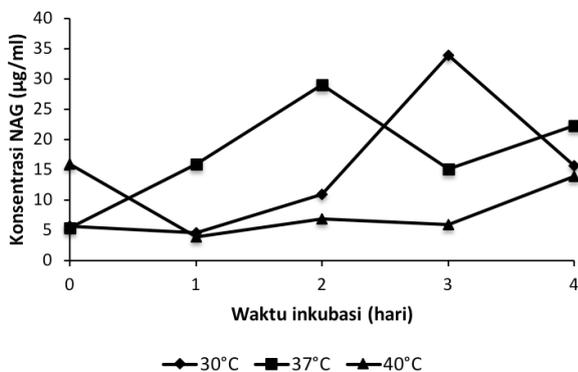
Gambar 3 menunjukkan bahwa *Serratia marcescens* PT-6 dapat tumbuh pada kisaran pH 5-8. Hal tersebut sesuai dengan Hardjito *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa *Serratia marcescens* dapat hidup pada kisaran pH 5 sampai 11. Begitu juga dengan Han *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa bakteri *Serratia* sp. SCH-1 yang diisolasi dari serangga di pegunungan kawasan

Korea Selatan dapat hidup pada kisaran pH 5-12.

Selama fermentasi hari ke-1 hingga hari ke-4, konsentrasi NAG tertinggi diperoleh pada perlakuan pH 7 ketika bakteri berada pada fase log (Gambar 3). Konsentrasi NAG pada nilai pH tersebut menunjukkan peningkatan hingga hari ke-2, seiring dengan meningkatnya jumlah sel bakteri atau disebut sebagai fenomena *growth associated product*. *Growth associated product* yaitu terjadinya hubungan yang sejalan antara pertumbuhan sel dengan produk yang dihasilkan (Shonnard, 2015). Fenomena *growth associated product* juga terjadi pada perlakuan pH 5. Selain menunjukkan adanya kenaikan jumlah sel yang diikuti kenaikan konsentrasi NAG, perlakuan pH 5 juga memperlihatkan bahwa penurunan sel bakteri diikuti dengan penurunan konsentrasi NAG pada hari ke-2.

**Pembentukan NAG pada Berbagai Suhu Inkubasi**

Suhu inkubasi merupakan salah satu faktor fisik yang penting dalam biokonversi kitin menjadi N-asetilglukosamin (NAG). Suhu inkubasi memberikan pengaruh yang berbeda terhadap konsentrasi NAG yang dihasilkan oleh setiap bakteri. Secara umum, konsentrasi NAG yang dihasilkan *Serratia marcescens* PT-6 pada berbagai suhu mengalami peningkatan seiring dengan waktu fermentasi, kecuali pada suhu 40°C konsentrasi NAG yang dihasilkan oleh *Serratia marcescens* PT-6 mengalami penurunan dibandingkan hari ke-0 fermentasi (Gambar 4). Konsentrasi NAG pada medium dengan suhu inkubasi 30°C dan 37°C lebih tinggi dibandingkan konsentrasi NAG pada medium dengan suhu inkubasi 40°C. Selama proses fermentasi berlangsung, konsentrasi NAG pada medium dengan suhu inkubasi 30°C menunjukkan hasil tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. *Serratia marcescens* PT-6 pada perlakuan suhu inkubasi 30°C mampu menghasilkan konsentrasi NAG maksimum mencapai 33,86 µg/ml pada hari ke-4 fermentasi.

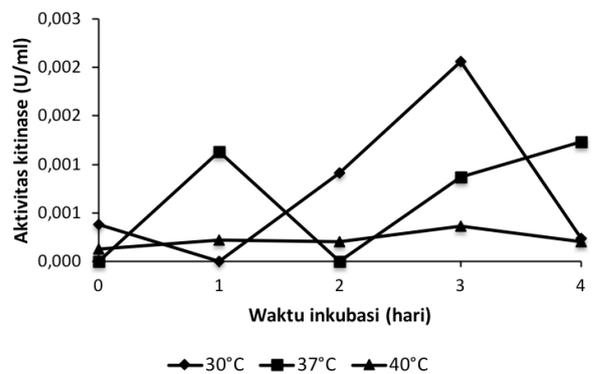


Gambar 4. Pengaruh suhu inkubasi terhadap konsentrasi NAG (µg/ml) dalam medium yang dihasilkan oleh *Serratia marcescens* PT-6 selama 4 hari inkubasi.

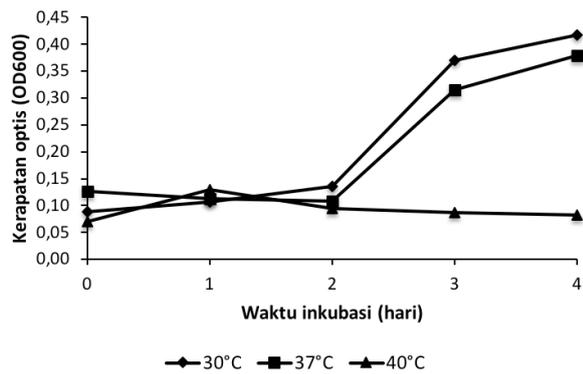
Menurut Kuddus & Ahmad (2013), suhu inkubasi mempengaruhi produksi enzim. Suhu inkubasi sangat berpengaruh terhadap jumlah enzim yang dihasilkan dan durasi fase sintesis enzim (Suresh & Chandrasekaran, 1999). Aktivitas kitinase *Serratia marcescens* PT-6 pada ketiga perlakuan suhu inkubasi menunjukkan hasil yang fluktuatif setiap harinya dan aktivitas kitinase *Serratia marcescens* PT-6 pada setiap perlakuan suhu inkubasi menunjukkan tren yang berbeda. *Serratia marcescens* PT-6 yang difermentasi pada suhu 30°C dan 37°C mencapai aktivitas kitinase tertinggi pada hari ke-3 dan ke-4 fermentasi sedangkan *Serratia marcescens* PT-6 yang difermentasi pada suhu 40°C mencapai aktivitas kitinase tertinggi pada hari ke-3 fermentasi. *Serratia marcescens* PT-6 mampu menghasilkan aktivitas kitinase maksimum mencapai 0,002 U/ml pada hari ke-3 fermentasi.

Berdasarkan Gambar 4 dan 5 dapat diamati bahwa NAG dan aktivitas kitinase *Serratia marcescens* PT-6 mencapai nilai maksimum pada suhu inkubasi yang sama, yaitu suhu 30°C. Hal ini sesuai dengan penelitian Chakraborty *et al.* (2012) menunjukkan aktivitas kitinase tertinggi *Serratia marcescens* dicapai pada suhu inkubasi 30°C (10,63 U/ml). Penelitian yang dilakukan oleh Lamine *et al.* (2012) juga menunjukkan bahwa *Serratia marcescens* DMS30121<sup>T</sup> menghasilkan kitinase tertinggi pada suhu 30°C (0,556 U/ml).

Kuddus & Ahmad (2013) menyatakan bahwa suhu inkubasi mempengaruhi berbagai proses biologi dan pertumbuhan bakteri. Secara umum *Serratia marcescens* PT-6 dapat tumbuh pada suhu inkubasi 30°C-40°C. Namun terdapat perbedaan pola pertumbuhan *Serratia marcescens* PT-6 pada berbagai suhu inkubasi. *Serratia marcescens* PT-6 yang ditumbuhkan dengan suhu 30°C dan 37°C mampu tumbuh lebih baik dibandingkan yang



Gambar 5. Pengaruh suhu inkubasi terhadap aktivitas kitinase (U/ml) yang dihasilkan oleh *Serratia marcescens* PT-6 selama 4 hari inkubasi.



Gambar 6. Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan *Serratia marcescens* PT-6 selama 4 hari inkubasi.

ditumbuhkan pada suhu 40°C. Hal ini terlihat pada Gambar 6 yang menunjukkan bahwa kepadatan optis *Serratia marcescens* PT-6 yang ditumbuhkan pada suhu 40°C lebih rendah dibandingkan dengan kepadatan optis *Serratia marcescens* PT-6 yang ditumbuhkan pada suhu 30°C dan 37°C. *Serratia marcescens* PT-6 yang ditumbuhkan pada suhu 30°C mampu menghasilkan kepadatan bakteri paling tinggi, yaitu 0,42 pada hari ke-4 fermentasi.

Penelitian ini menunjukkan bahwa dengan melakukan penyesuaian terhadap kondisi kultur yang optimal untuk tumbuh, pembentukan NAG dari hasil hidrolisis kitin dan aktivitas kitinase yang dihasilkan oleh *Serratia marcescens* PT-6 dapat ditingkatkan. Faktor kondisi kultur, selain pH dan suhu, yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri dan produksi enzim kitinase *Serratia marcescens* PT-6 perlu diteliti lebih jauh.

### Kesimpulan

Konsentrasi NAG tertinggi dari kitin cangkang udang oleh *Serratia marcescens* PT-6 dicapai pada kondisi kultur pH 7 dan suhu inkubasi 30°C yaitu sebesar 33,86 µg/ml.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih atas pendanaan yang diberikan oleh Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada.

### Daftar Pustaka

Arnold, L.D. & Solomon. 1986. Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology. American Society for Microbiology, Washington.  
 Azhar, M., J. Effendi, E. Syofyeni, R.M. Lesi, & S.

Novalina. 2010. Pengaruh Konsentrasi NaOH dan KOH Terhadap Derajat Deasetilasi Kitin dari Limbah Kulit Udang. Jurnal Eksakta. 1: 1-8.

Brurberg, M.B., I.F. Nes, & V.G.H. Eijsink. 1996. Comparative studies of chitinases A and B from *Serratia marcescens*. Microbiology. 142: 1581-1589.

Brzezinska, M.S. & W. Donderski. 2001. Occurrence and Activity of the Chitinolytic Bacteria of Aeromonas Genus. Polish Journal of Environmental Studies. 10: 2731.

Chakraborty, S., S. Bhattacharya, & A. Das. 2012. Optimization of Process Parameters for Chitinase Production by a Marine Isolate of *Serratia marcescens*. International Journal of Pharmacy and Biological Sciences. 2: 2230-7605.

Chen, J.K., C.R. Shen, & C.L. Liu. 2010. N-Acetylglucosamin: Production and Applications. Marine Drugs. 8: 2493-2516.

Donderski, W. & M. Trzebiatowska. 1999. Chitinase Activity Production by Planktonic, Benthic and Epiphytic Bacteria Inhabiting the Moty Bay of The Jeziorak Lake (Poland). Polish Journal of Environmental Studies. 8: 215-220.

Han, K.I., B.B. Patnaik, A.R. Cho, H.K. Lim, J.M. Lee, Y.G. Jang, Y.S. Jeong, T.K. Yoo, G.S. Lee, & M.D. Han. 2014. Characterization of Chitinase Producing *Serratia* and *Bacillus* Strains Isolated from Insects. Entomological Research. 44: 109-120.

Hardjito, L., A. Huq, & R.R. Colwell. 2002. The Influence of Environmental Conditions on the Production of Pigment by *Serratia marcescens*. Biotechnology and Bioprocess Engineering. 7: 100-104.

Hargono, A. & I. Sumantri. 2008. Pembuatan Kitosan dari Limbah Cangkang Udang Serta Aplikasinya dalam Mereduksi Kolesterol Lemak Kambing. Reaktor. 12: 53-57.

Hsu, S. & C. Lockwood. 1974. Powdered Chitin Agar as a Selective Medium for Enumeration of Actinomycetes in Water and Soil. Applied Microbiology. 29: 422-426.

Kholifah, A. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri-Bakteri Kitinolitik dari Sedimen Tambak Udang. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Skripsi.

Khusniati, T., N. Widhyastuti, I. Saskiawan, A. Choliq, & R. Handayani. 2012. Peningkatan Kualitas Produk Susu dengan N-Asetilglukosamina

- dan  $\beta$ -Galaktosidase di Jawa. Tim Pelaksana Insentif Peningkatan Kemampuan Peneliti dan Perekayasa. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Kuddus, S.M. & R.I.Z. Ahmad. 2013. Isolation of Novel Chitinolytic Bacteria and Production Optimization of Extracellular Chitinase. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 11: 39-46.
- Lamine, B.M., B.M. Lamine, & A. Bouziane. 2012. Optimization of the Chitinase Production by *Serratia marcescens* DSM 30121T and Biological Control of Locusts. *Journal Biotechnol Biomaterial*. 2: 133-137.
- Maggadani, B.P. 2012. Optimasi Produksi N-Asetilglukosamin dari Kitin Menggunakan Kitinase Hasil Isolasi Bakteri. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia. Thesis.
- Minami, S. & Y. Okamoto. 2007. Drug For Remedy Or Treatment of Wound. *European Patent Specification*. Bulletin. 2014/17.
- Muharni. 2009. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Kitinase dari Sumber Air Panas Danau Ranau Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*. 9: 12-15.
- Reissig, J.L., J.L. Strominger, & L.F. Leloir. 1955. A Modified Colorimetric Method for the Estimation of N-Acetylamino Sugars. *The Journal of Biological Chemistry*. 217: 959-966.
- Sayo, T., S. Sakai, & S. Inoue. 2004. Synergistic Effect of N-asetylglucosamine and Retinoids in Hyaluronan Production in Human Keratinocytes. *Skin Pharmacology and Physiology*. 17: 77-83.
- Shonnard, D.R. 2015. Chapter 6: How Cells Grow. Department of Chemical Engineering. Michigan Technological University.
- Sudhakar & P. Nagarajan. 2011. Production of Chitinase by Solid State Fermentation from *Serratia marcescens*. *International Journal of ChemTech Research*. 3: 590-598.
- Sumantha, A., C. Larroche, & A. Pandey. 2006. Microbiology and Industrial of Food Grade Protease: A Perspective. *Food Technology & Biotechnology*. 44: 211-220.
- Suresh, P.V. & M. Chandrasekaran. 1999. Impact of Process Paramaters on Chitinase Production by an Alkalophilic Marine *Beauveria bassiana* in Solid State Fermentation. *Process Biochemistry*. 34: 257-267.
- Swastawati, F., I. Wijayanti, & E. Susanto. 2008. Pemanfaatan Limbah Kulit Udang Menjadi Edible Coating untuk Mengurangi Pencemaran Lingkungan. *Jurnal*. 4: 101-106.
- Triwijayani, A. U. 2016. Identifikasi Bakteri Kitinolitik dari Sedimen Tambak Udang dan Karakteristik Kitinasenya. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Skripsi.
- Wang, S. L., B.S. Lin, T.W. Liang, C.L. Wan, P.C. Wu, & J.R. Liu. 2010. Purification and Characterization of Chitinase from New Species Strain, *Pseudomonas* sp. TKU008. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 20: 1001-1005.
- Widhyastuti, N. 2010. Purifikasi N-Asetil-D-glukosamina Hasil Sintesa Secara Enzimatis untuk Bahan Obat dan Pangan Fungsional. Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Laporan Akhir Program Insentif Peneliti dan Perekayasa LIPI.
- Yurnaliza. 2002. Senyawa Khitin dan Kajian Aktivitas Enzim Mikrobial Pendegradasinya. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatra Utara. Kajian Pustaka.