

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar, A., Ingemannsson T dan Magnien E., 1998, Extremophile microorganisms as cell Factories, *Sci Technol Aliment*, **2**, 367-373.
- Ahmaloka, A., Suharto, S., Nurbaiti, I.N., Tika, dan warganegara, F.M., 2006, Ribotyping Identification of Thermophilic Bacterium from Papandayan Crater, *Proceeding of ITB Engineering Science*, **38**, (1); 1-10.
- Akhsani, G., Suprihadi, A., dan Pujiyanto, S., 2017, Uji Aktivitas Kitin Deasetilase Isolat Bakteri dari Kawasan Geothermal Dieng, *Jurnal Akademika Biologi*, **6**, (3); 12-21.
- Akihary, C.V., dan Kolondam, B.J., 2020, Pemanfaatan Gen 16S rRNA sebagai Perangkat Identifikasi Bakteri untuk Penelitian di Indonesia, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, **9**, (1); 1-21.
- Angka, S.L., dan Suhartono, M.T., 2000, *Pemanfaatan Limbah Bioteknologi Hasil Laut*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Arfah, R.A., Patong, A.R., Ahmad, A dan Djide, M.N., 2014, Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofil Penghasil Amilase dari Sumber Air Panas Lejja Sulawesi Selatan, *Al-Kimia*, **2**, (2); 36-46.
- Arnold, L.D dan Salomon, N.A., 1986, *Manual of Industrial Microbiology and Biotech*, American Society for Microbiology, Washington.
- Blair, D.E., Schuttelkopf, A., Macrae, J.I., Van Alten, M.F., 2005, Structur and Metal-Dependent Mechanism of Peptidoglycan Deacetylase, a Streptococcal Virulence Factor, *PNAS*, **102**, (43); 15429-15434.
- Brock, T.D., dan Mardigan, M.T., 1991, *Biology of Microorganisms*, 6th Ed, Prentice-Hall International Inc, New Jersey.
- Budiani, A., Santoso, D.A., Susanti, Mawardi, S., dan Siswanto, 2004, Ekspresi β -1,3 Glukanase dan Kitinase pada Tanaman Kopi Arabika (*Coffea Arabica* I) Tahan dan Rentan Karat Daun, *Jurnal Menara Perkebunan*, **72**, (2); 57-71.
- Cahyani, L., 2013, *Pemanfaatan Tepung Cangkang Udang sebagai Media Produksi Kitinase oleh Bakteri Kitinolitik Isolat 26*, Skripsi, Universitas Jember, Jawa Timur.
- Cappucino J. G., 1983, *Microbiology: A Laboratory Manual*, Addison Wesley, Publishing Company.

- De Rossa, M., Gambacorta, A., dan Gliozi, A., 1986, Structure, Biosynthesis and Physicochemical Properties of Archaeabacterial Lipids, *Microbiological Reviews*, **50**, 70-80.
- Dewi, I.M., 2008, *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Kitinase Termofilik Kasar dari Sumber Air Panas Tinggi Raja Simalungun Sumatera Utara*, Tesis Program Pascasarjana, universitas Sumatera Utara, Medan.
- Fawzya, Y.N., Indriati, N dan Suryaningrum, T.H., 2004, Pengaruh Penambahan Kitin pada Medium Produksi Terhadap Aktivitas Kitin Deasetilase dari *Bacillus K29-14*, *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, **10**, (3); 11-18.
- Fikrianda, 2000, *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Selulase Ekstermofilik dari Ekosistem Air Hitam*, Tesis, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fitriani, E., 2003, *Aktifitas Enzim Karboksimetil Selulase Bacillus Pumilus Galur 55 pada Berbagai Suhu Inkubasi*, Kimia FMIPA IPB, Bogor.
- Gooday, G.W., 1990, The Ecology of Chitin Degradation, Advances and Biotechnology, **34**, (11); 715–719.
- Hadiutomo, 1990, *Mikrobiologi Dasar Jilid 1*, Erlangga, Jakarta.
- Hadioetomo, R.S., 1993, *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek : Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Haedar, N., Natsir, H., Fahrudin, Aryanti, .., 2017, Produksi dan Karakterisasi Enzim Kitinase dari Bakteri Kitinolitik Asal Kerang Anadara Granosa, *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, **8**, (15); 14-21.
- Haliza, W., dan Suhartono, M.T., 2012, Karakterisasi Kitinase dari Mikrobia, *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian*, **8**, (1); 1-14.
- Hasanela, N., Tanasale, M., dan Tehubijuluw, H., 2020, Karakterisasi Biopolimer Kitosan Hasil Deasetilasi Limbah Kepiting Rajungan (Portunus Sanginolentus) Menggunakan NaBH₄ Dalam NaOH, *Indo. J. Chem. Res*, **8**, (1); 66-71.
- Hasri, 2010, Prospek Kitosan dan Kitosan Termodifikasi sebagai Biopolimer Alami yang Menjanjikan, *Jurnal Chemical*, **11**, (2); 1-10.
- Harahap dan Fauziyah, 2012, *Fisiologi Tumbuhan*, UNIMED, Medan.
- Hardi, J., Ruslan, Razak, A.R., dan Silva, 2017, Karakterisasi Enzim Kitinase dari Isolat Bakteri Termofilik B1211 Asal Air Panas Bora, *Kovalen*, **3**, (2); 172-179.

- Hendarsyah, D., 2006, *Karakterisasi Kitin Deasetilase Termostabil Isolat Bakteri Asal Pancuran Tujuh Baturaden Jawa Tengah*, Skripsi tidak diterbitkan, Institut Pertanian Bogor, Jawa Barat.
- Husniati, Oktarina, E., dan Laila, A., 2012, Isolasi Enzim Kitin Deasetilase dari Isolat Tanah Humus *Aspergillus aculeastus* dan Identifikasi Enzim Tersebut dalam Produksi Kitosan, ISBN, 1, (3); 427-433.
- Irawati, R., 2016, *Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi oleh Bacillus circulans*, Skripsi tidak diterbitkan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Janda, M., dan Abbott, S., 2007, 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory Pluses Perils and Pitfalls, *Journal of Clinical Microbiology*, 45; 2761-2764.
- Jusuf, M., 2001, *Genetika I Struktur dan Ekspresi gen*, IPB, Bogor.
- Lay, B.W, 1994, *Analisis Mikroba di Laboratorium*, Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Lehninger, A.L., 1997, *Dasar-Dasar Biokimia*, Erlangga, Jakarta.
- Lehninger, A.L., 1992, *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1*, Erlangga, Jakarta.
- Li, Q., E.T., Dunn, E.W., Grandmaison., dan Goosen, M.F.A., 1992, Applications and Properties of Chitosan, *J. Bioactive and Compatibl Polym*, 7, (4); 370-397.
- Mahmudah, R., Baharuddin, M., dan Sappewali, 2016, Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja Kabupaten Soppeng, *Al-Kimia*, 4, (1); 31-42.
- Marganof, 2003, *Potensi Limbah Udang sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium dan Tembaga) di Perairan*, Program Pasca Sarjana Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Mayende L., Wilhelmi B.S., Pletschke B.I.. (2006). Cellulase (CMCase) and polyphenol oxidase from thermophilic *Bacillus* spp. Isolated from compost. *Soil Biol Biochem*. 38, 2963-2966.
- Maziah, A.Z., 2009, *Produksi dan Karakterisasi Protease Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Platungan Kendal*, Skripsi tidak diterbitkan, Universitas Negeri Semarang, Semarang.
- Mudasir, Rahadjo, G., Tahir, I., dan Wahyuni, E.T., 2008, Immobilization of Dithizon Onto Chitin Isolated From Prawn Seawater Shells (*P. Marguensis*)

- and it's Preliminary Study for The Adsorption of Cd(II) Ion, *J.of Physical Science*, **19**, (1); 63-78.
- Muharni, 2009, Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Kitinase dari Sumber Air Panas Danau Ranau Sumatera Selatan, *Jurnal Penelitian Sains*, **9**, 12-15.
- Muharni dan Widjajanti, H, 2011, Skrining Bakteri Kitinolitik Antagonis Terhadap Pertumbuhan Jamur Akar Putih (*Rigidoporus lingosus*) dari Rizosfir Tanaman Karet, *Jurnal Penelitian Sains*, **14**, (1); 51-56.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., dan Rodell, V.W., 2003. *Harper's Illustrated BioChemistry Ed ke-26*, McGraw-Hill, San Francisco.
- Nasran, S., Ariyani, F., dan Indriati, N., 2003, Produksi Kitinase dan Kitin Deasetilase dari *Vibrio harveyi*, *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, **9**, (5); 33-38.
- Natsir, H., 2000, *Karakterisasi dan Purifikasi Enzim Pendegradasi Kitin dari Mikroba Asidofilik Asal Kawah Kamojang*, Tesis, Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Natsir, H., Chandra, D., Rukayadi, Y., Suhartono, M.T., Hwang, J.K. and Pyun, Y.R. 2002. Biochemical Characteristics of Chitinase Enzyme from *Bacillus* sp. of Kamojang Creater, Indonesian. *J. of Biochem. Molecular Biology and Biophysics*, **6** (4); 279–282.
- Natsir, H., 2010 a, *Kajian Enzim Kitinase Termostabil dari Bakteri Termofilik: Pemurnian, Karakterisasi dan Aplikasi dalam Hidrolisis Kitin*. Disertasi, tidak diterbitkan, Program Pascasarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Natsir, H., Patong, A.R., Suhartono, M.T., dan Ahmad, A., 2010 b, Production and Characterization of Chitinase Enzymes from Sulili Hot Springbin South Sulawesi *Bacillus* sp. HSA,3-1a, *Indonesia Journal Chemistry*, **10**, (2); 256-260.
- Natsir, H., Patong, A.R., Suhartono, M.T., dan Ahmad, A., 2013. Isolation and Purification of Termostabil Chitinase *Bacillus licheniformis* Strain HSA3-1a From Sulili Hot Springs in South Sulawesi, Indonesia, *Inter. J. Pharm. Bio. Sci.*, **4**, (3); 1252 – 1259.
- Natsir, M., Kurniwati, D., dan Suryani, W.O., 2013, Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme Kitinolitik Asal Limbah Cairan Rumen Sapi, serta Optimasi Produksi Enzim Kitinase, *J. Prog. Kim. SI*, **3**, (1); 56-62.
- Naz, S., 2002, *Enzymes and Food*, Oxford University Press, Oxford.

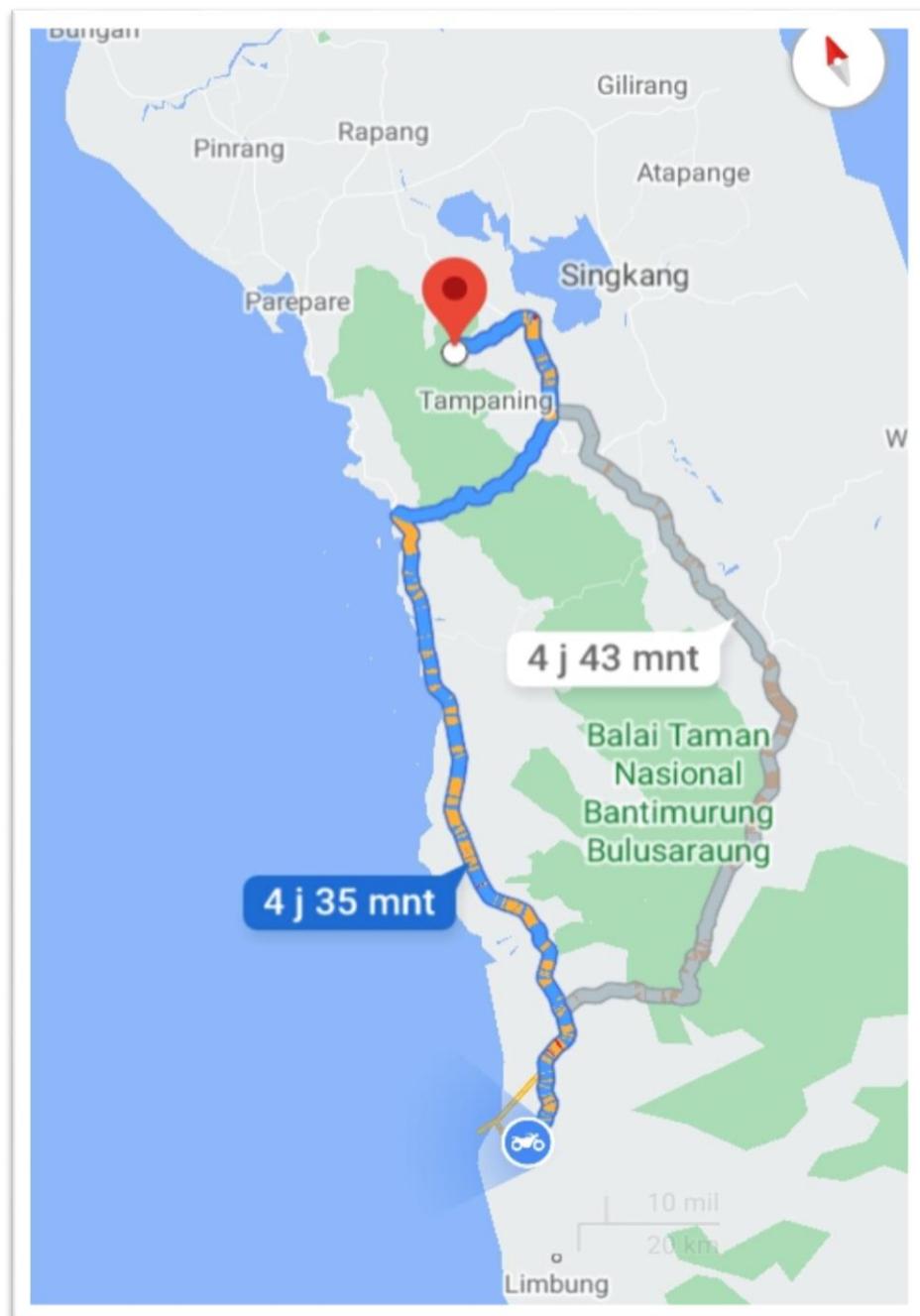
- Nochure, S.V., Roberts, M.F., dan Demain, A.I., 1993, True Cellulase Production by *Clostridium thermocellum* Grown on Different Carbon Sources, *Biotechnol Lett*, **15**; 641-646.
- Novianti, T., Ardiningsih, P., dan Rahmalia,W., 2012, Pengaruh Temperatur Terhadap Aktivitas Enzim Protease dari Daun Sansang (*Pycnarrhena cauliflora Diels*), *JKK*, **1**, (1); 31-34.
- Nur'aini, H., dan Apriyani, S., 2015, Penggunaan Kitosan untuk Memperpanjang Umur Simpan Buah Duku (*Lansium Domesticum Corr*), *Agritepa*, **1**, (2); 195-210.
- Orinda, E., Indun, D., Puspita, M.P., Putra, Ustadi, Iwan, Y.B., dan Lelana, 2015, Aktivitas Enzim Pendegradasi Kitin dari Isolat SD123 Asal Petis serta Karakterisasi pH dan Suhu Aktivitas Enzim Hasil Purifikasi Parsial, *J. Fish Sci*, **17**, (2); 96-102.
- Poedjiadi, A., 1994, *Dasar-dasar Biokimia*, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Poedjiadi, A., 2009, *Dasar-dasar Biokimia Edisi Revisi*, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Poernomo, A.T., Isnaeni, Sugianto, Purwanto, D.A., Dwi, A.C., dan Suryagama, D., 2017, Pengaruh Nutrisi pada Produksi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Termofilik Isolat LS-1 Lumpur Sidoarjo, *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, **2**, (2); 52-59.
- Prashanth, K.V.H., dan Tharanathan, R.N., 2007, Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential—an overview, *Trends in Food Science and Technology*, **18**, (3); 117-131.
- Prima, R.E., 2012, *Produksi dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Xilanase dari Acinetobacter baumanii M-13.2A*, Skripsi, Universitas Indonesia, Depok.
- Purwanto, M.G.M., 2014, Perbandingan Analisis Kadar Protein Terlarut dengan Berbagai Metode Spektroskopi UV-Visible, *Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi*, **7**, (2); 1-71.
- Rahayu, S., 2000, *Pemurnian dan Karakterisasi Kitinase dan Kitin Deasetilase Termostabil dari Isolat Bacillus K-29-14 Asal Kawah Lamongan*, Jawa Barat, Tesis Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rahayu, S., 2014, *Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Sumber Air Panas Tamalantik Mamasa Sulawesi Barat*, Skripsi tidak diterbitkan, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Rasni H., 2017, *Uji Sitotoksitas Metronidazol Berbasis Hidrogel Kitosan terhadap Viabilitas Sel Fibroblas 3T3 Secara in vitro*, Tesis, PPDGS

Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatera Utara, Medan.

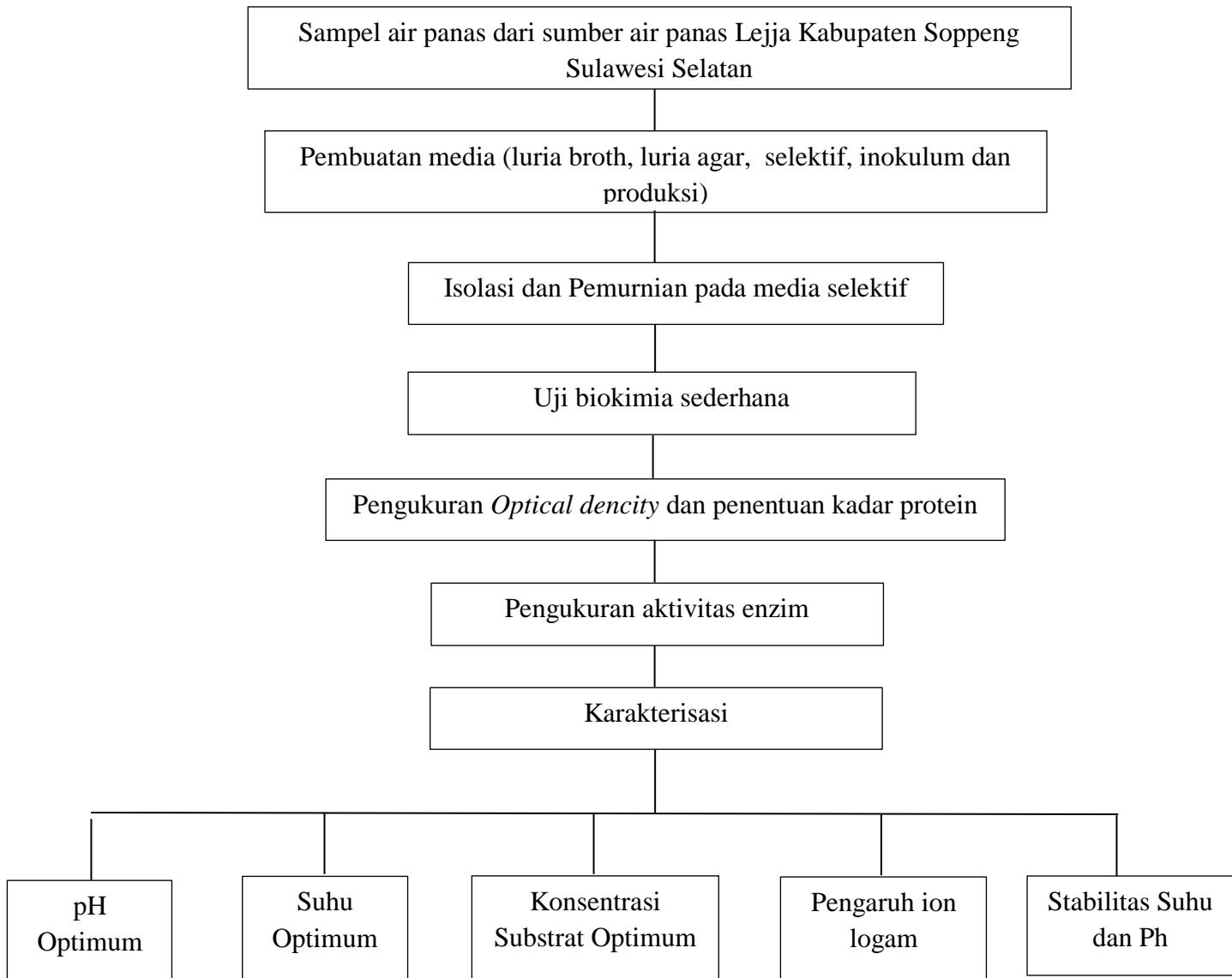
- Ravikumar, M., dan Perinbam, K., 2016, Production, Optimization and Characterization of Chitin Deacetylase from Marine bacteria *Bacillus cereus* TK19, *Journal of Academia and Industrial Research*, **5**, (5); 72-76.
- Ruma, M.T.L., Refli, Suwardi, E., 2020, Isolasi dan Karakterisasi Golongan Bakteri Kitinolitik pada Limbah Udang Vaname, *Jurnal Biotropikal Sains*, **17**, (2); 14-23.
- Saini, DR.B.L., 2010, *Introduction to Biotechnology*, Laxmi publication, New Delhi.
- Sari, R.F., 2010, *Optimasi Aktivitas Selulase Ekstraseluler dari Isolat Bakteri RF-10*, Skripsi Tidak Diterbitkan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sarni, Natsir, H., dan Dali, S., 2015, Produksi dan Karakterisasi Enzim Kitosanase dari Isolat Bakteri *Klebsiella sp*, *Jurnal Techno*, **4**,(2); 8-15.
- Sarwono, R., 2010, Pemanfaatan Kitin/Kitosan Sebagai Bahan Anti Mikroba, *JKTI*, **12**, (1) 32-44.
- Setyahadi, S., Bunasor, T.K., dan Hendarsyah, D., 2006, Karakterisasi Kitin Deasitolase Termostabil Isolat Bakteri Asal Pancuran Tujuh Batu raden Jawa Tengah, *Jurnal teknol dan Industri Pangan*, **17**, (1); 44-49.
- Singh dan Shailendra, 2007, *A Text Book of Enzyme*, Kampus Book Internasional, New Delhi.
- Sofihidayati, T., 2015, *Pengaruh pH dan Kation terhadap Aktivitas Enzim β -glukosidase yang dihasilkan dari A.foetidus (Naka.)*, Skripsi tidak diterbitkan, Universitas Pakuan Bogor, Bogor.
- Stackebrandt, E., dan Gobel, B., 1994, A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S Ribosomal RNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology, *Int Journal System Bacteriol*, **44**; 846-849.
- Sudarsono, A., 2008, *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Gindara (Lepidocibium flavobronneum)*, Skripsi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Suhardi, 1992, *Kitin Dan Kitosan*, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, UGM Yogyakarta.
- Suhartono, M.T., 2000, *Eksplorasi Protease Bakteri Asal Indonesia untuk Aplikasi Industri dan Riset Bioteknologi*, Prosiding Seminar Nasional Industri Enzim dan Biotehnologi, 125-133.

- Suhartono, M.T., 1988, *Pengantar Biokimia*, Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Susanti, R., dan Fibriana F., 2017, *Teknologi Enzim*, Andi Offset, Yogyakarta.
- Sutiamiharja, N., 2008, *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Kasar Termofilik dari Sumber Air Panas Gurukinayan Karo Sumatera Utara*, USU Repository, Sumatera Utara.
- Toharisman, A., dan Suhartono, M.T., 2008, Partial Purification and Characterizatin of Chitin Deacetylase Produced by *Beacillus thermoleovorans* LW-4-11, *Scientific Repository*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tuntun, M., dan Huda, M., 2014, Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Way Panas Bumi Natar Lampung Selatan, *Jurnal Analis Kesehatan*, **3**, (1); 297-304.
- Wahyuna, D., Agus]tien, A., dan Periadnadi, 2012, Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Termoproteolitik Sumber Air Panas Sungai Medang Jambi, *Jurnal Biologi*, **1**, (2); 93-98.
- Wardaniati, RA., Setyaningsih dan Sugiyani., 2009, *Pembuatan Chitosan dari Kulit Udang dan Aplikasinya untuk Pengawetan Bakso*, Artikel, Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, Semarang.
- Whittaker J.R., 1994, *Principles of Enzymology for The Food Sciences Second Edition*, Marcek Dekker Inc, New York.
- Widiastuti, D., dan Marbawati, D., 2016, Efek Larvasida Bakteri Kitinolitik dan Limbah Kulit Udang terhadap Larva Aedes aegypti, *Aspirator*, **8**, (1); 47-54.
- Wuryanti, 2004, Isolasi dan Penentuan Aktivasi Spesifik Enzim Bromelin dari Buah Nanas (Ananas comosus L.), *JKSA*, **7**, (3); 83-87.
- Zilda, D.S., dan Fawzya, Y.N., dan Chasanah, E., 2006, Karakterisasi Enzim Kitosanase dari Bakteri Kitinolitik T5a1 yang Diisolasi dari Terasi, *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, **1**, (1); 43-50.
- Zhou, G., Zhang, H., He, Y., dan He, L., 2010, Identification of a Chitin Deacetylase Producing Bacteria Isolated from Soil and its Fermentation Optimization, *African Journal of Microbiology Reasearch*, **4**, (23); 2597-2603.

Lampiran 1. Lokasi Pengambilan Sampel

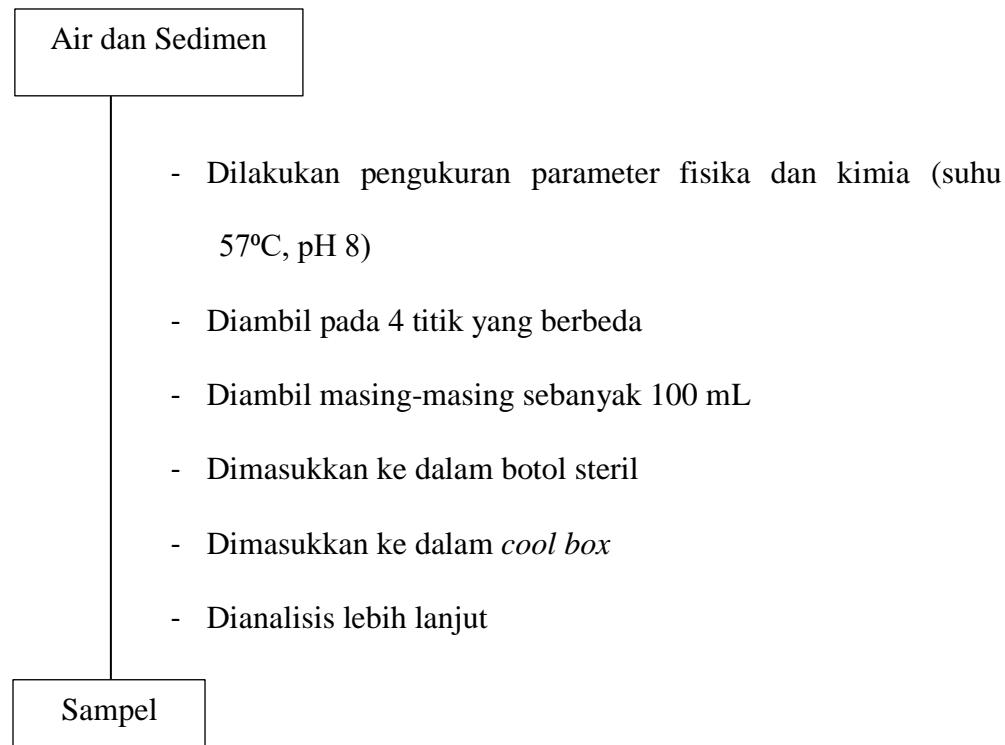


Lampiran 2. Diagram Alir

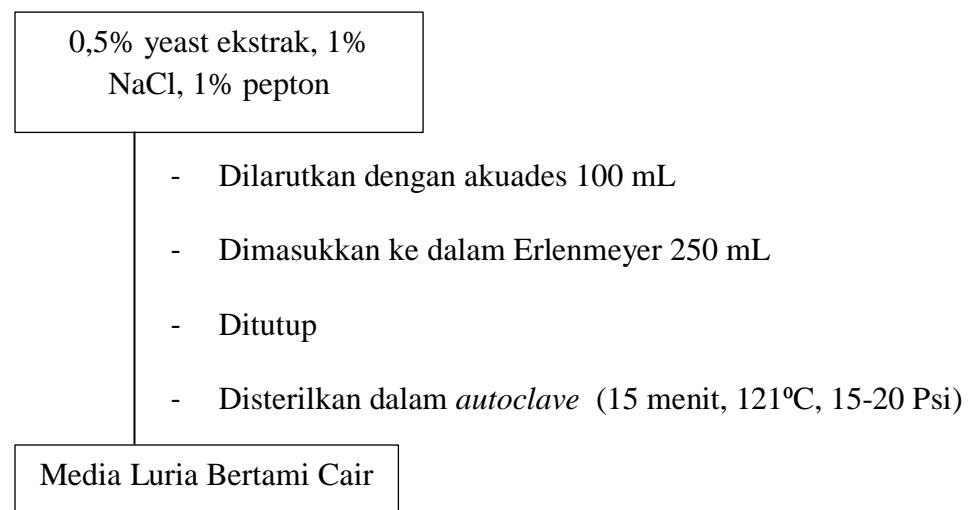


Lampiran 3. Bagan Kerja

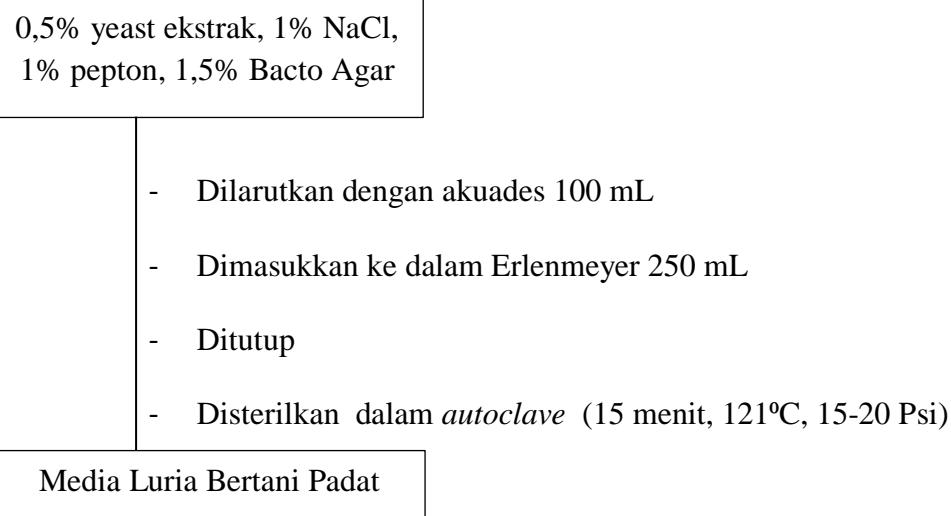
1. Pengambilan Sampel



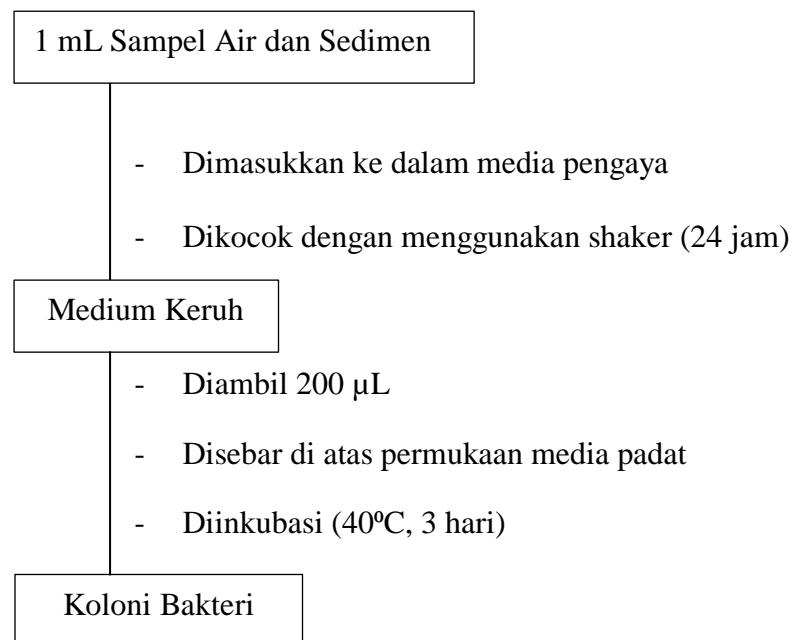
2. Pembuatan Medium Luria Broth



3. Pembuatan Media Luria Bertani Padat



4. Isolasi Mikroba dari Sumber Air Panas



5. Pembuatan Media Selektif Kitinolitik

yeast ekstrak 0,1%, pepton 0,1%, CaCl₂ 0,01%, KH₂PO₄ 0,01%, NaCl 0,1%, MgSO₄.7H₂O 0,01%, koloidal kitin 2%

- Dilarutkan dalam akuades 100 mL (pH 7)
- Dihomogenkan
- Dididihkan
- Disterilkan dalam autoclave (15 menit, 121°C, 15-20 Psi)
- Didinginkan
- Dituangkan ke dalam cawan petri steril

Media Selektif

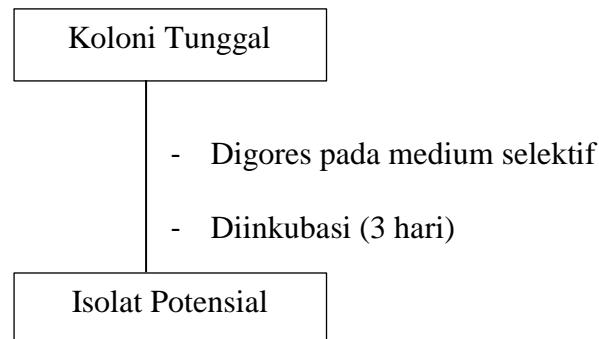
6. Pemurnian Bakteri

Koloni Bakteri

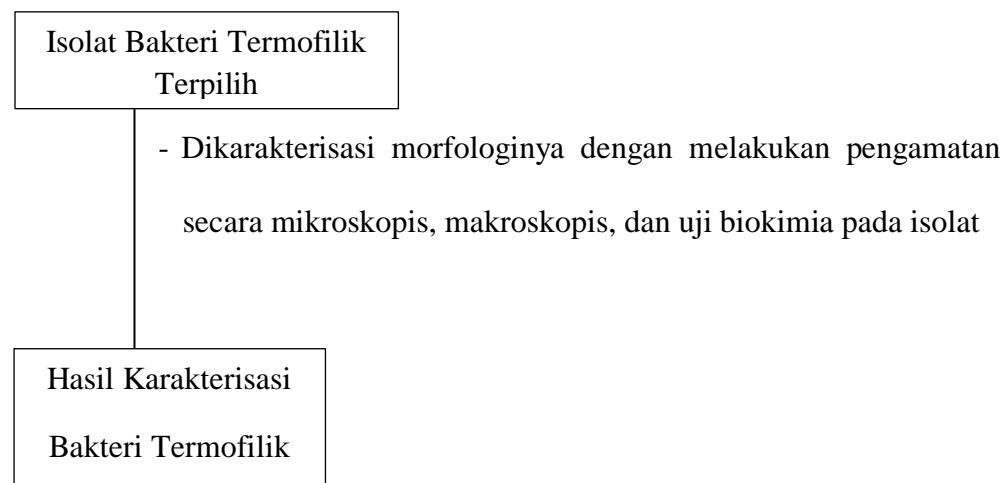
- Digores isolat beberapa kali
- Diinkubasi (40°C)
- Digores kembali isolat tunggal yang diperoleh pada medium selektif
- Diinkubasi (3 hari, 45°C)

Koloni Tunggal

7. Pemilihan Isolat Potensial



8. Uji Morfologi Bakteri Penghasil Enzim Kitin Deasetilase



9. Pembuatan dan Penyiapan Inokulum

yeast ekstrak 0,5%, pepton 0,01%,
amonium sulfat, CaCl_2 0,01%, KH_2PO_4
0,01%, NaCl 0,1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01%
dan koloidal kitin 0,5%

- Dilarutkan dalam akuades 100 mL
- Dihomogenkan, dipanaskan, dituang ke dalam Erlenmeyer steril
- Diambil 2 hingga 3 ose bakteri yang telah tumbuh dengan baik
- Diinokulasikan ke dalam medium inokulum yang telah disiapkan
- Dikocok ke dalam shaker (45°C , 180 rpm, 24 jam) untuk diinokulasikan lebih lanjut dalam medium produksi

Media Inokulum
Aktif

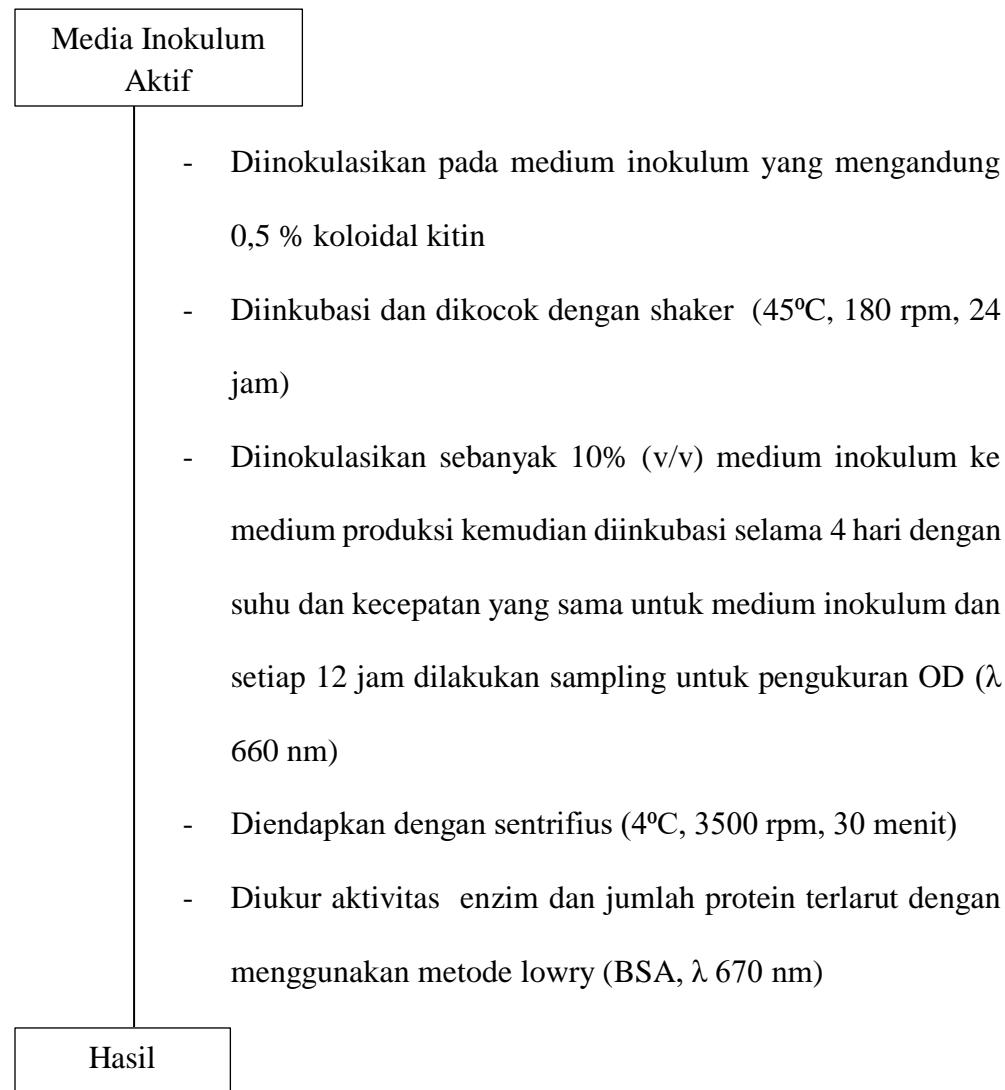
10. Pembuatan Medium Produksi

amonium sulfat 0,7%, yeast ekstrak 0,05%,
bakto pepton 0,1%, NaCl 0,1%, KH_2PO_4
0,01%, CaCl_2 0,01%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01%,
koloidal kitin 0,5%

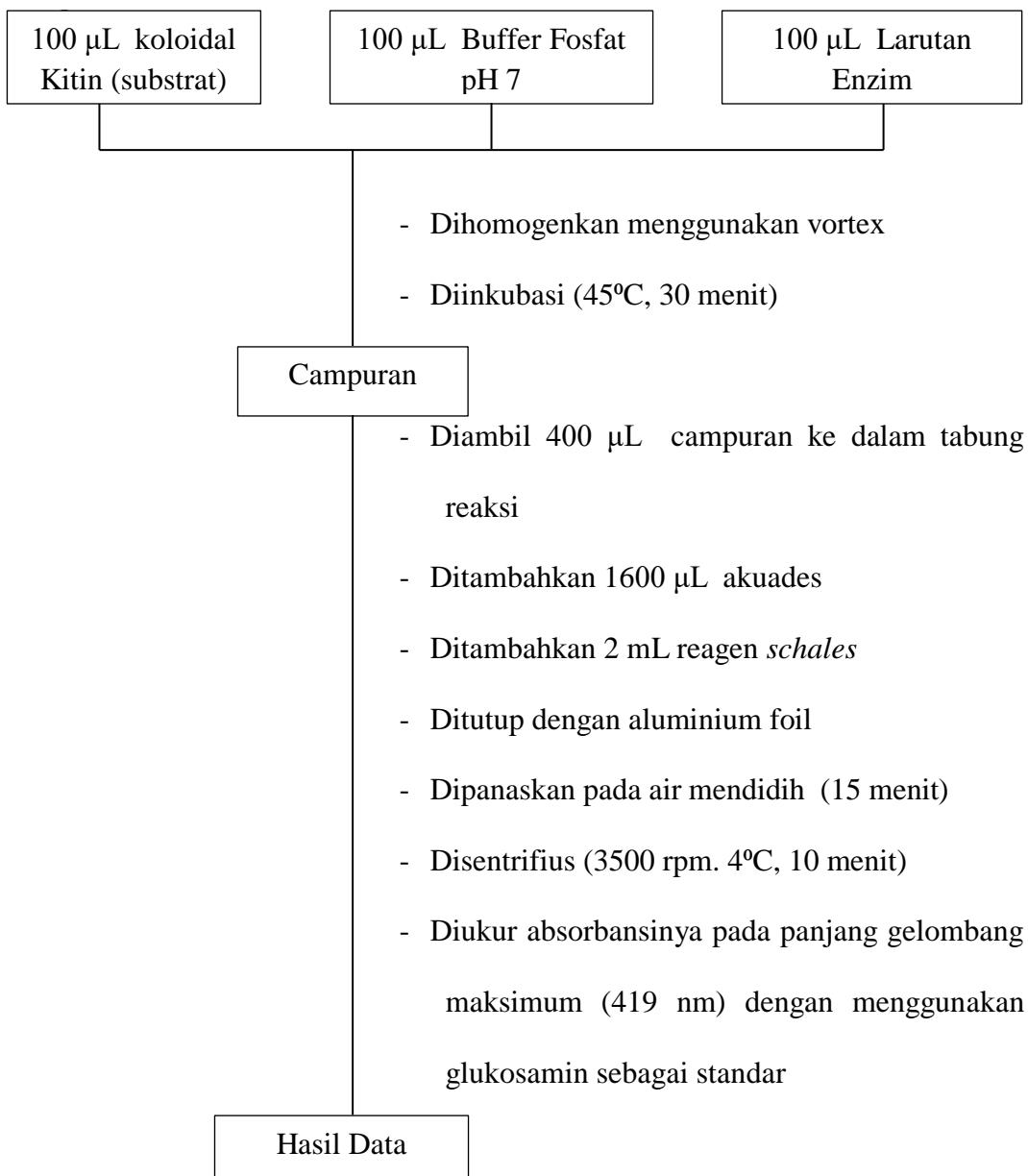
- Dilarutkan dengan akuades 500 mL
- Dihomogenkan
- Disterilkan dengan *autoclave*.

Medium
Produksi

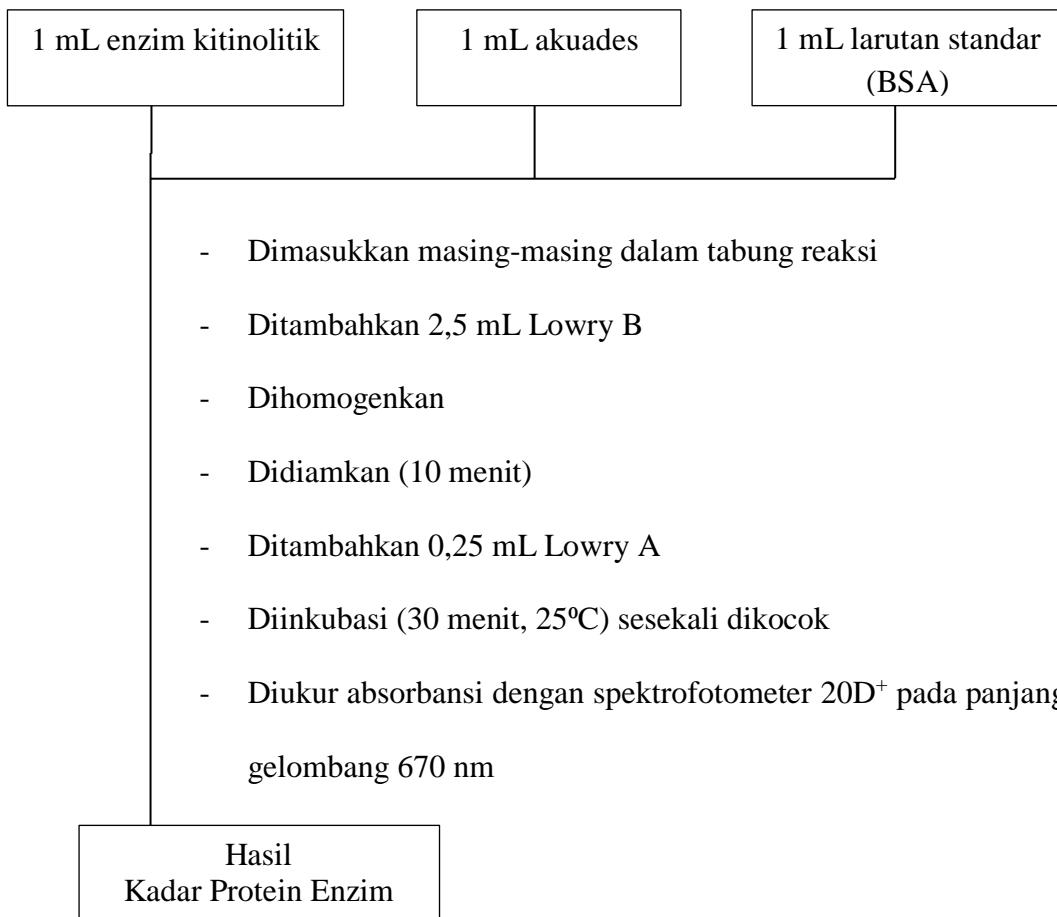
11. Produksi Ekstrak Kitin Deasetilase



12. Pengukuran Aktivitas Enzim Kitin Deasetilase (Natsir dkk., 2014)

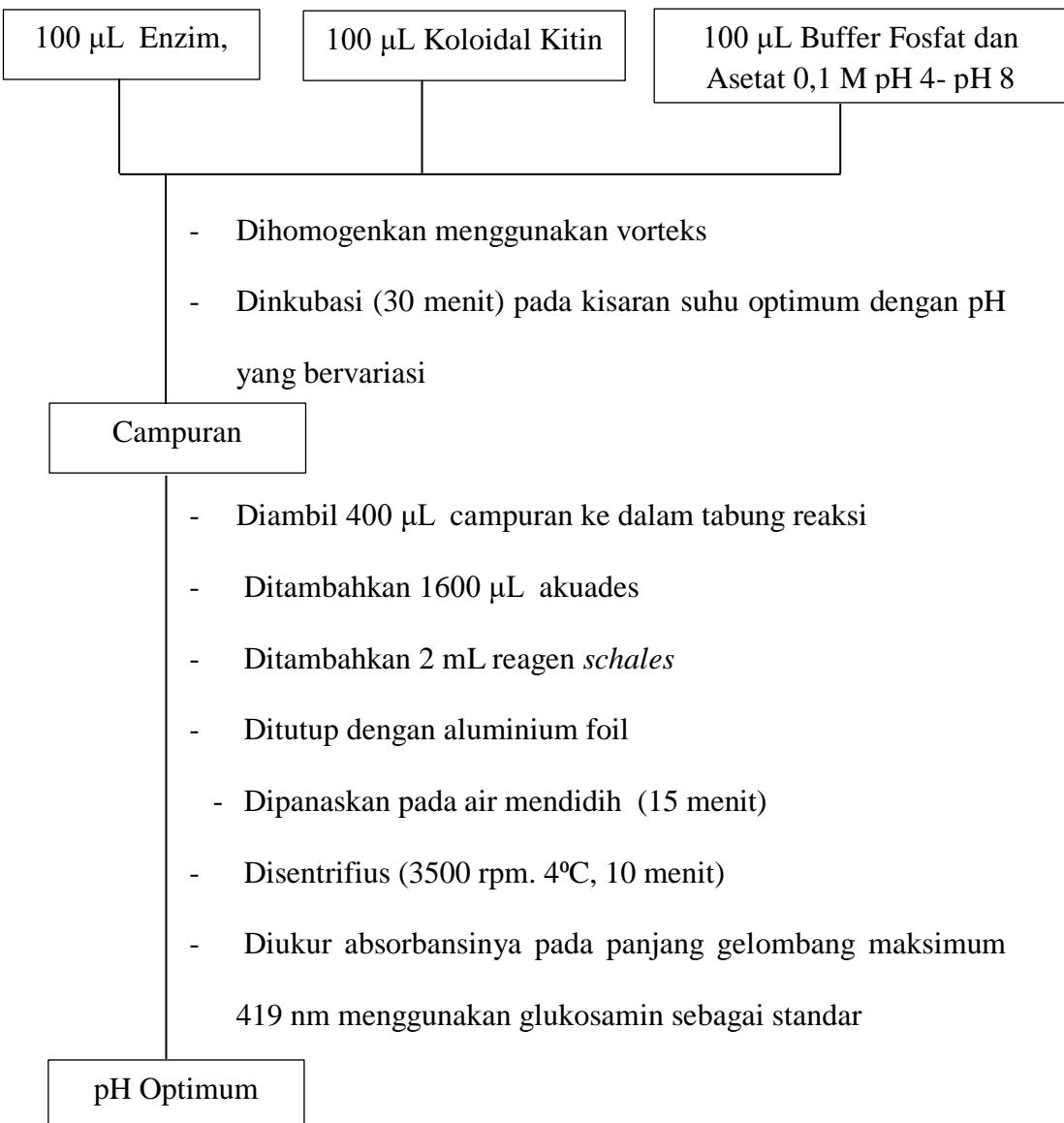


13. Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry

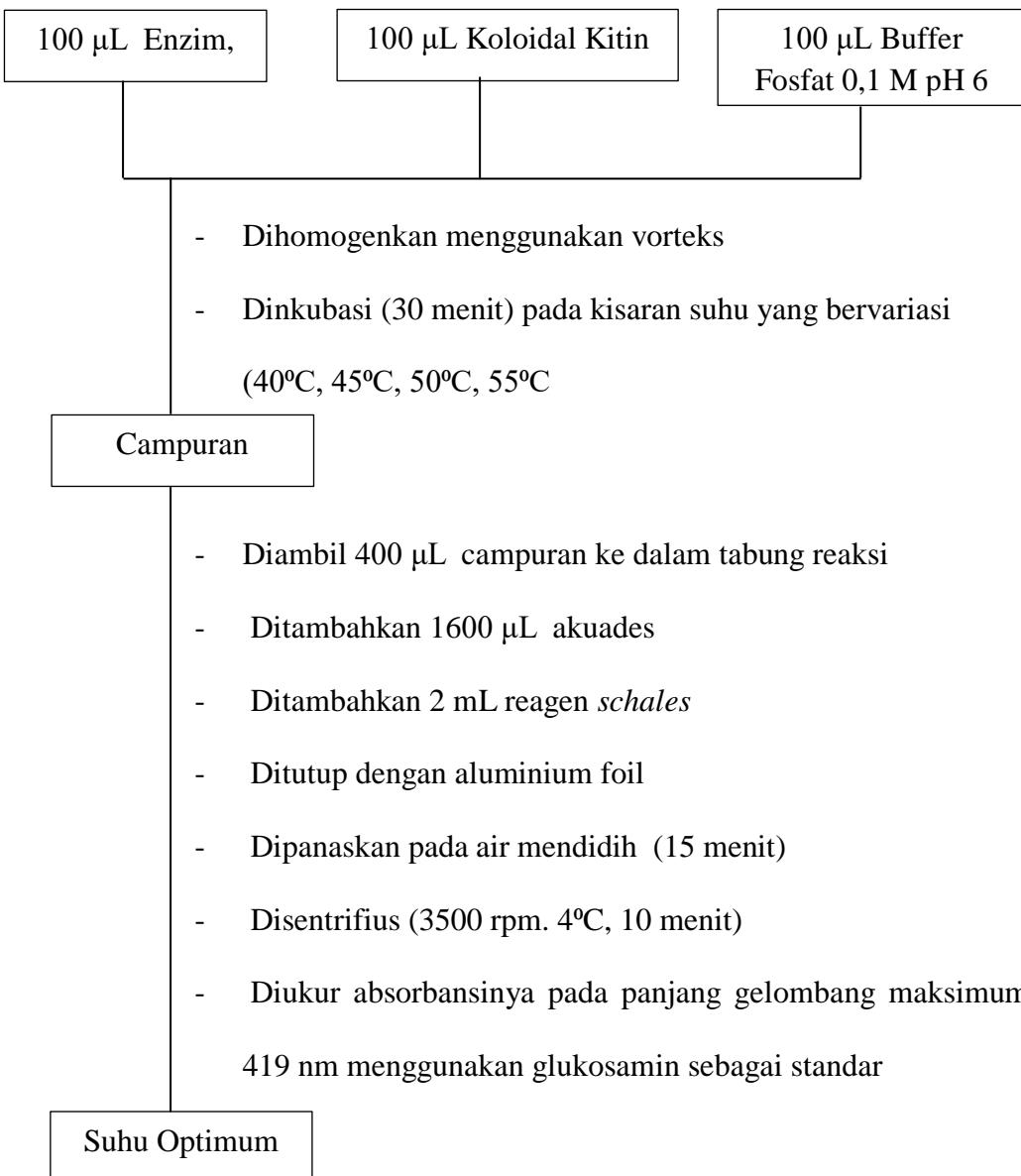


14. Karakterisasi Enzim Kitin Deasetilase dari Mikroba Termofil

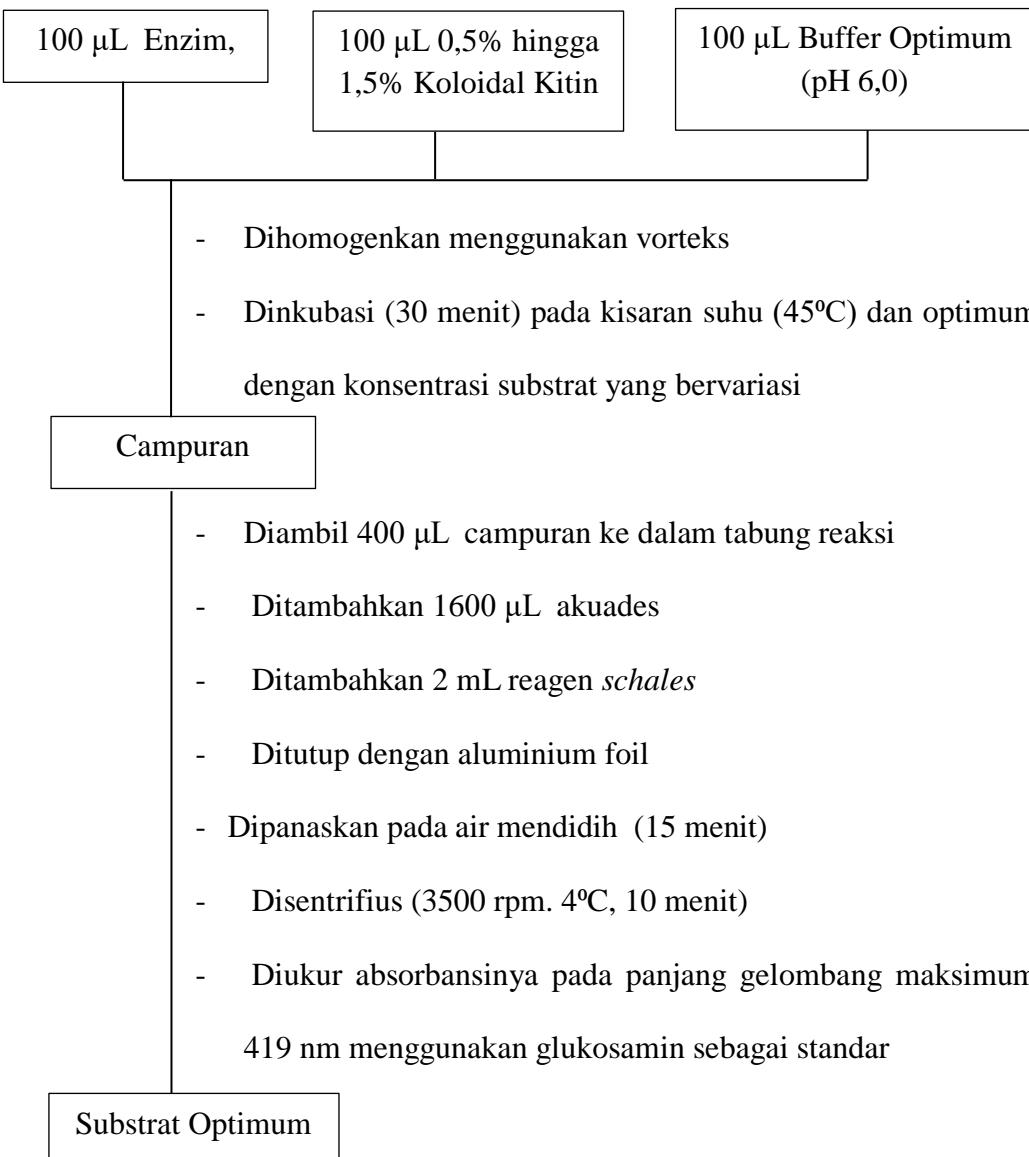
a. Penentuan pH Optimum



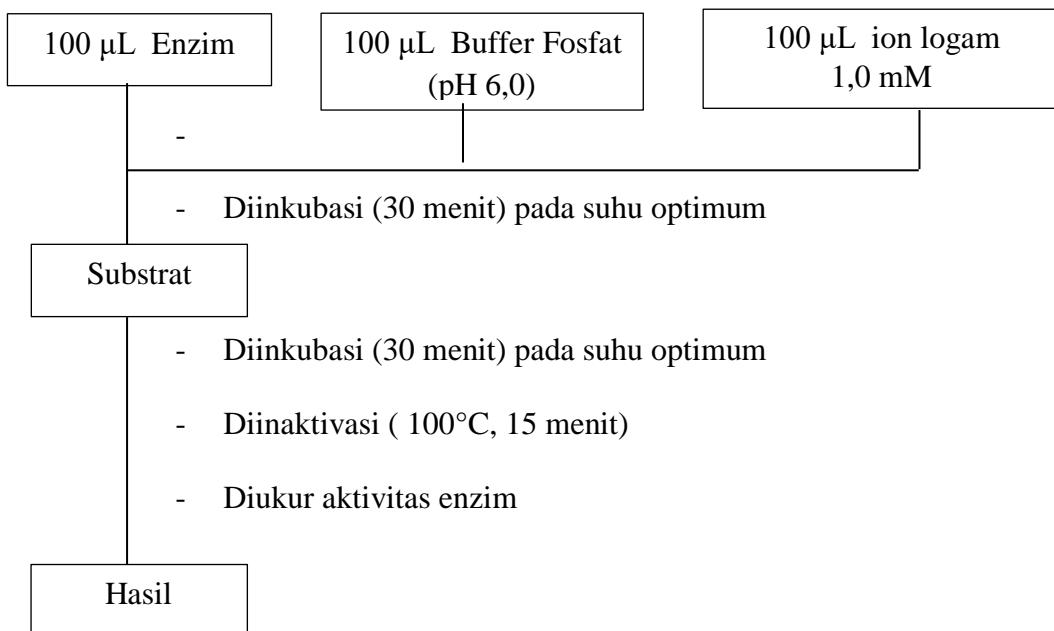
b. Penentuan Suhu Optimum



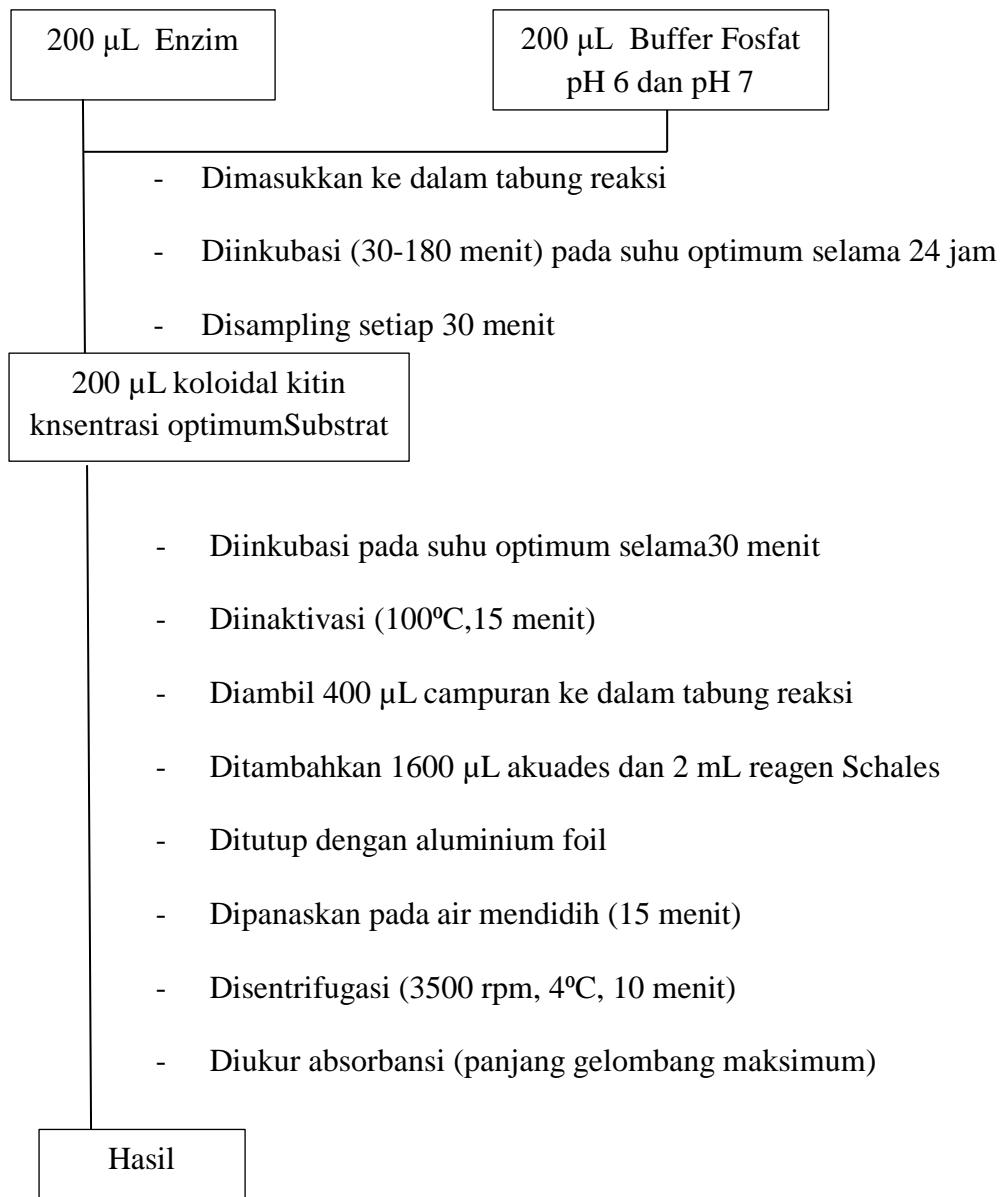
c. Penentuan Substrat Optimum



d. Pengaruh Ion Logam



e. Stabilitas pH dan Suhu



Dilakukan hal yang sama untuk stabilitas suhu menggunakan buffer pH optimum pada suhu 45°C dan 50°C.

15. Pembuatan Reagen Schales, Lowry A dan Lowry B dan Standar Glukosamin

a. Pembuatan Reagen Schales

- Reagen *schales* sebagai stock dibuat dengan cara melarutkan 52.995 gram Na₂CO₃ dan 0.5 gram *Pottasium ferri cianida* ke dalam 1 L akuades.

b. Pembuatan Lowry A dan Lowry

- Komposisi Reagen Lowry A; larutan asam *phospho-tungstic-phospho moliybdic (foolin)* : akuades (1 : 1).
- Komposisi reagen Lowry B; Na₂CO₃ 2% dalam NaOH 0,1 N : CuSO₄ 1% : Natrium-Kalium-Tartrat (100 : 1 : 1).

c. Pembuatan Standar Glukosamin (Puspita, 2007)

$$[\text{Stok Glukosamin}] = \frac{0,009 \text{ gram glukosamin}}{9 \text{ mL air bebas ion}} \times 10^6 = 1000 \mu\text{g/mL}$$

[Glukosamin] $\mu\text{g}/\text{mL}$	Volume Glukosamin (μL)	Volume Akuades (μL)
0	0	4000
10	40	3960
20	80	3920
40	160	3840
80	320	3680
160	640	3360

- Pipet 400 μl dari stock glukosamin dan masukan kedalam tabung reaksi, ditambah 1600 μl akuades dan 2000 μl pereaksi schales
- Didiikan selama 15 menit
- Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 420 nm
- Buat kurva standar dengan absorbansi sebagai ordinat (Y) dan konsentrasi Glukosamin sebagai absis (X).

Lampiran 5. Tabel dan Perhitungan

a. Indeks Kitinolitik

$$IK = \frac{\text{Diameter zona bening}}{\text{Diameter koloni}}$$

Tabel 3. Hasil pengukuran seleksi bakteri penghasil enzim kitin deasetilase

Kode Isolat	Hari ke 1	Hari ke 2	Hari ke 3	Hari ke 4
T1.2	0,5	0,7	0,7	0,9
T41.	1	1,4	1,6	1,6

b. Penentuan *Optical Density (OD)*

Tabel 4. *Optical density (OD)* pada λ_{660}

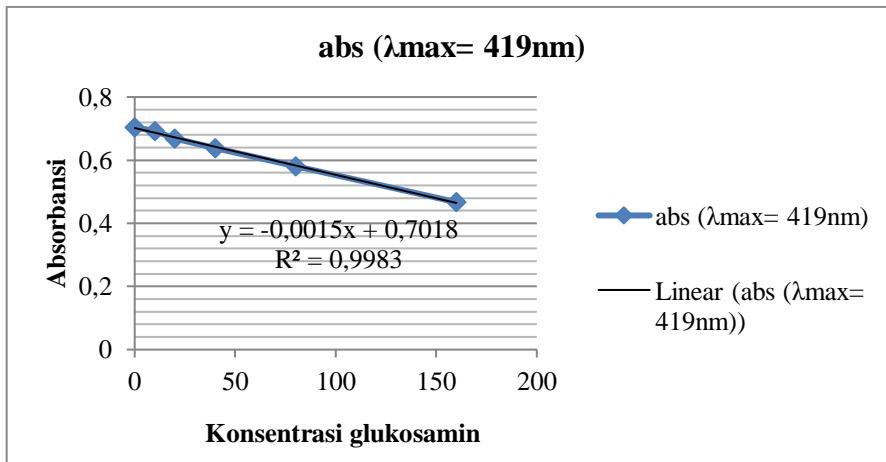
Waktu inkubasi (jam)	Absorbansi
0	0,063
12	0,211
24	0,355
36	0,401
48	0,407
60	0,373
72	0,245
84	0,233

Diperoleh waktu optimum produksi pada jam ke-48 dengan nilai OD sebesar 0,407.

c. Penentuan Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Kitin Deasetilase

Tabel 5. Absorbansi standar glukosamin pada λ_{419}

Konsentrasi standar glukosamin ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi ($\lambda_{\text{maks}419}$)
0	0,704
10	0,692
20	0,669
40	0,639
80	0,58
160	0,467



Gambar 19. Kurva hubungan konsentrasi standar glukosamin (ppm) terhadap absorbansi pada λ_{419}

Contoh perhitungan aktivitas kitin deasetilase pada inkubasi waktu 48 jam:

$$y = -0,0015x + 0,7018$$

$$[\text{Glc}]_{\text{sampel}}(\mu\text{mol}) = \frac{\text{A sampel} - \text{Intercept}}{\text{Slope}}$$

$$= \frac{0,609 - 0,7018}{-0,0015}$$

$$= 61,8667 \mu\text{g/mL}$$

$$[\text{Glc}]_{\text{kontrol}}(\mu\text{mol}) = \frac{\text{A kontrol} - \text{Intercept}}{\text{Slope}}$$

$$= \frac{0,636 - 0,7018}{-0,0015}$$

$$= 43,8667 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Aktivitas Enzim (U/mL)} = [\text{X}_s - \text{X}_k] \times \frac{1000}{200} \times \frac{600}{400} \times \frac{1}{30} \times \frac{1}{\text{BM}}$$

$$= [61,8667 - 43,8667] \times \frac{1000}{200} \times \frac{600}{400} \times \frac{1}{30} \times \frac{1}{215,6}$$

$$= 0,0208 \text{ U/mL}$$

Tabel 6. Aktivitas ekstrak kasar enzim Kitin Deasetilase Isolat T4.1 per waktu inkubasi

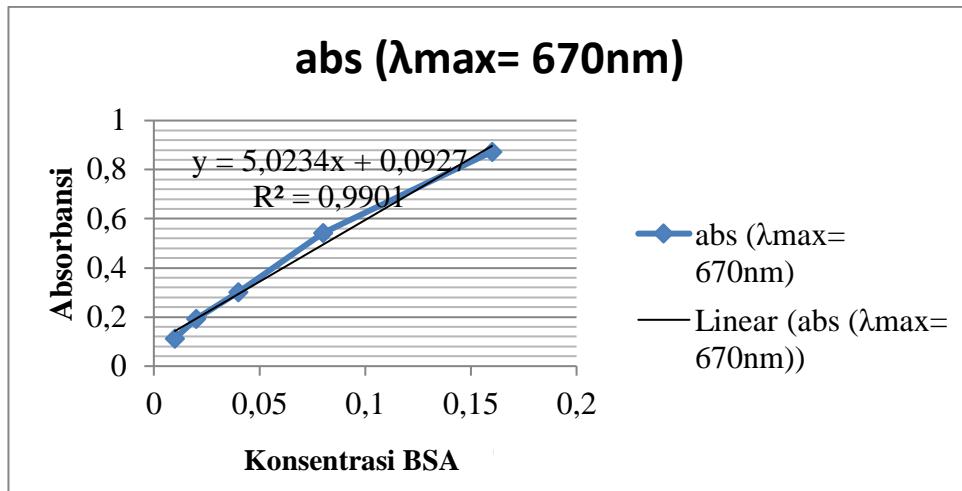
T4.1	Abs	U/mL
0	0,612	0,0185
12	0,627	0,0069
24	0,616	0,0154
36	0,610	0,0200
48	0,609	0,0208
60	0,618	0,0139
72	0,625	0,0085
84	0,626	0,0077

Diperoleh aktivitas tertinggi pada isolat T4.1 dengan waktu inkubasi selama 48 jam yaitu sebesar 0,0208 U/mL.

d. Penentuan Kadar Protein dan Aktivitas Spesifik Ekstrak Kasar Enzim Kitin Deasetilase

Tabel 7. Serapan standar BSA pada λ_{670}

Konsentrasi standar (mg/mL)	Absorban
0,01	0,113
0,02	0,192
0,04	0,301
0,08	0,542
0,16	0,873



Gambar 20 .Kurva hubungan konsentrasi BSA terhadap absorbansi pada λ_{670}

Contoh perhitungan kadar protein dan aktivitas spesifik pada waktu inkubasi 48 jam:

$$y = 5,023x + 0,092$$

$$x = \frac{y - 0,092}{5,023}$$

$$x = \frac{0,540 - 0,092}{5,023}$$

$$= 0,089 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Kadar protein} = x \times \text{FP} = 0,089 \times 100 = 8,9 \text{ mg/mL}$$

$$\text{Aktivitas Spesifik} = \frac{\text{Aktivitas enzim (U/mL)}}{\text{Kadar protein (mg/mL)}}$$

$$\text{Aktivitas Spesifik} = \frac{0,0208 \text{ U/mL}}{8,9 \text{ mg/mL}} = 0,0023 \text{ U/mg}$$

Tabel 8. Hubungan antara kadar protein dan aktivitas spesifik enzim Kitin Deasetilase isolat T4.1

Waktu inkubasi	Absorbansi (y)	X	FP	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas (U/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
0	0,697	0,1204	100	12,0445	0,0185	0,0015
12	0,254	0,0322	100	3,2251	0,0069	0,0021
24	0,664	0,1138	100	11,3876	0,0154	0,0013
36	0,630	0,1071	100	10,7107	0,0200	0,0018
48	0,540	0,0892	100	8,9190	0,0208	0,0023
60	0,502	0,0816	100	8,1624	0,0139	0,0017
72	0,215	0,0244	100	2,4487	0,0085	0,0034
84	0,510	0,0832	100	8,3217	0,0077	0,0009

Diperoleh aktifitas spesifik tertinggi pada waktu inkubasi 48 jam yaitu sebesar 0,0023 U/mg.

e. Karakteriasi Ekstrak Kasar Enzim Kitin Deasetilase

1) Penentuan pH Optimum

Tabel 9. Aktivitas ekstrak kasar enzim kitin deasetilase pada variasi pH

Variasi pH	Absorbansi sampel	[Glukosamin] (ppm)	Aktivitas (U/mL)
4	0,660	27,87	0,0263
5	0,630	47,87	0,0294
6	0,626	50,53	0,0557
7	0,616	57,2	0,0441
8	0,652	33,2	0,0077

Diperoleh aktivitas tertinggi pada pH 6 yaitu sebesar **0,0557** U/mL.

2) Penentuan Suhu Optimum

Tabel 10. Aktivitas ekstrak kasar enzim kitin Deasetilase pada variasi suhu

Variasi suhu (°C)	Absorbansi sampel	[Glukosamin] (ppm)	Aktivitas (U/mL)
40	0,572	86,5	0,0015
45	0,536	110,5	0,0433
50	0,648	35,8	0,0046
55	0,598	69,2	0,0031

Diperoleh aktivitas tertinggi pada suhu 45°C yaitu sebesar **0,0433** U/mL.

3) Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum

Tabel 11. Aktivitas ekstrak kasar enzim kitin deasetilase pada variasi konsentrasi substrat

Variasi konsentrasi (%)	Absorbansi sampel	[Glukosamin] (ppm)	Aktivitas (U/mL)
0,5	0,658	29,2	0,0030
0,75	0,661	27,2	0,0069
1	0,645	37,8	0,0085
1,25	0,648	35,8	0,0085
1,5	0,652	33,2	0,0086

Diperoleh aktivitas tertinggi pada konsentrasi substrat koloidal kitin 1% yaitu sebesar **0,0085** U/mL.

4) Penentuan Pengaruh Penambahan Ion Logam

Tabel 12. Aktivitas ekstrak kasar enzim kitin deasetilase pada variasi ion logam

Variasi ion logam klorida	Konsentrasi (mM)	Absorbansi	Aktivitas (U/mL)	Aktivitas relatif (U/mL)
Kontrol	-	0,474	0,2632	100%
K^+	1	0,562	0,11	100%
	10	0,602	0,08	72,72%
	50	0,610	0,07	72,72%
Na^+	1	0,548	0,12	109,09%
	10	0,594	0,08	72,72%
	50	0,601	0,08	72,72%
Mg^{2+}	1	0,553	0,12	109,09%
	10	0,560	0,11	100%
	50	0,630	0,06	54,54%
Ca^{2+}	1	0,574	0,10	90,90%
	10	0,642	0,05	45,45%
	50	0,664	0,03	27,27%
Ba^{2+}	1	0,607	0,07	63,63%
	10	0,623	0,06	54,54%
	50	0,630	0,06	54,54%
Co^{2+}	1	0,432	0,21	190,90%
	10	0,520	0,14	127,27%
	50	0,592	0,08	72,72%
Zn^{2+}	1	0,560	0,11	100%
	10	0,564	0,11	100%
	50	0,654	0,04	36,36%

Contoh perhitungan aktivitas relatif (%) KCl (K^+) pada konsentrasi 1 mM:

$$\begin{aligned}\text{Aktivitas relatif (\%)} &= \frac{\text{Aktivitas dengan KCl}}{\text{Aktivitas kontrol (tanpa logam)}} \times 100\% \\ &= \frac{0,11}{0,11} \times 100\% \\ &= 100\%\end{aligned}$$

5) Penentuan Stabilitas pH

Tabel 13. Aktivitas ekstrak kasar enzim kitin deasetilase pada variasi pH dan waktu inkubasi

Waktu inkubasi	pH 6		pH 7	
	Absorban	Aktivitas (U/mL)	Absorban	Aktivitas (U/mL)
0 Menit	0,558	0,0495	0,645	0,0363
30 Menit	0,596	0,0510	0,648	0,0325
60 Menit	0,588	0,0541	0,622	0,0294
90 Menit	0,558	0,0510	0,652	0,0294
120 Menit	0,584	0,0464	0,65	0,0309
150 Menit	0,566	0,0417	0,656	0,0309
180 Jam	0,605	0,0386	0,643	0,0193

6) Penentuan Stabilitas Suhu

Tabel 14. Aktivitas ekstrak kasar enzim kitin deasetilase pada variasi suhu dan waktu inkubasi

Waktu inkubasi	Suhu 45°C		Suhu 50°C	
	Absorban	Aktivitas (U/mL)	Absorban	Aktivitas (U/mL)
0 Menit	0,558	0,0495	0,624	0,0201
30 Menit	0,596	0,0510	0,648	0,0124
60 Menit	0,588	0,0541	0,648	0,0124
90 Menit	0,558	0,0510	0,652	0,0108
120 Menit	0,584	0,0464	0,643	0,0116
150 Menit	0,566	0,0417	0,654	0,0108
180 Jam	0,605	0,0384	0,66	0,0062

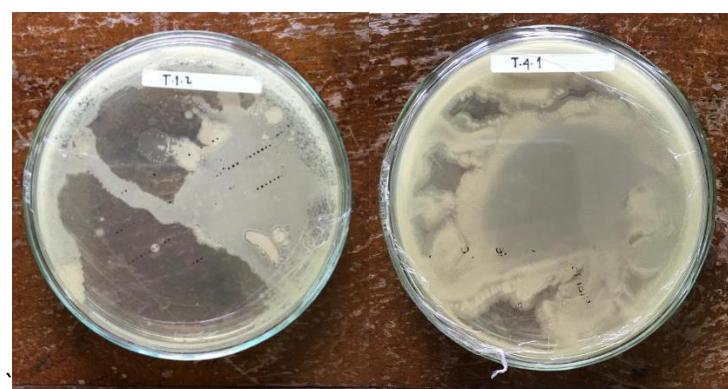
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



Proses pengambilan sampel



Proses pembuatan media luria agar



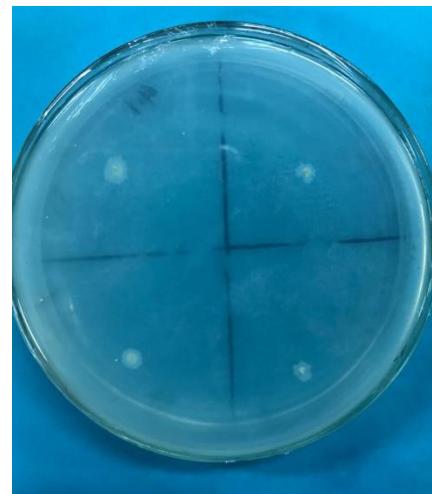
Isolat bakteri pada media luria agar



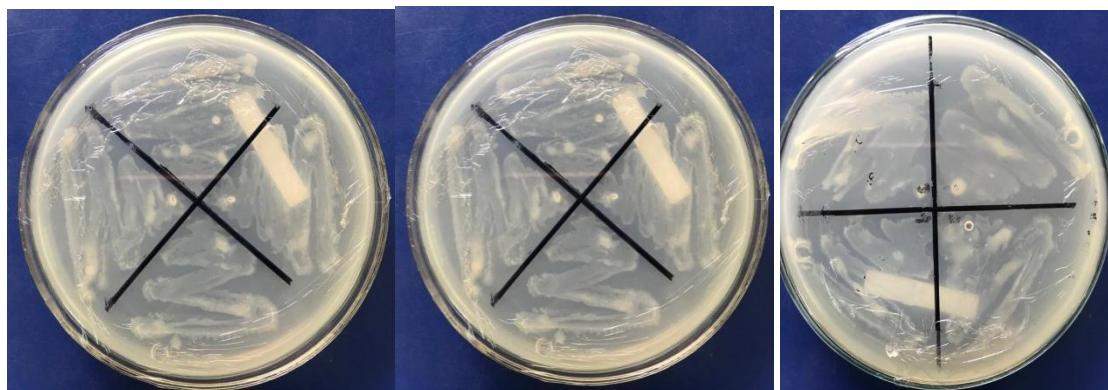
Pertumbuhan bakteri pada media padat



Proses pembuatan media selektif



Pemilihan isolat potensial



Isolat bakteri pada media selektif



Hasil uji biokimia sederhana



Hasil uji mikroskopis



Proses penyiapan media inokulum

Media inokulum aktif



Pengukuran *optical density*



Pembuatan larutan standar glukosamin



Pengukuran aktivitas enzim kitin deasetilase



Pengukuran kadar protein enzim kitin deasetilase dengan standar BSA λ_{670}



Karakterisasi dan stabilitas ekstrak kasar enzim kitin deasetilase