

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kitin, suatu polimer tak larut yang tersusun dari residu β -1,4-N-asetil-D-glukosamin (GlcNAc), merupakan polisakarida paling melimpah dan terbarukan di bumi setelah selulosa (Stevens, 2005). Kitin hanya dapat larut dalam beberapa pelarut organik. Rendahnya kelarutan kitin ini merupakan faktor yang membatasi aplikasi dan investigasi sifat dan strukturnya (Dutta *et al.*, 2009). Bagaimanapun, beberapa strategi telah dikembangkan untuk mengubah kitin menjadi oligomer kecil yang larut (kitoooligomer), yang lebih berguna untuk diaplikasikan dalam obat-obatan, pertanian, dan industri (Stevens, 2005).

Enzim kitinase dapat berfungsi dalam degradasi kitin menjadi oligomer hingga dimernya (Patil *et al.*, 2000). Kitinase menurut Shakhbazau *and* Kartel (2008) dibagi menjadi tiga tipe antara lain endokitinase, eksokitinase, dan β -1,4-N-asetil glukosamidase. Endokitinase merupakan jalur yang memotong secara acak ikatan β -1,4 bagian internal kitin dengan produk akhir oligomer pendek N-asetil glukosamin. Eksokitinase merupakan enzim yang mengkatalisis secara aktif pembebasan unit-unit diasetilkitobiosa tanpa terbentuk monosakarida dan oligosakarida. Pemotongan hanya terjadi pada bagian non reduksi dan lebih

teratur (tidak secara acak). Enzim ini sering juga disebut kitobiosidase. Sedangkan β -1,4-N-asetil glukosaminidase merupakan enzim yang memotong kitin menjadi monomernya, yaitu N-asetilglukosamin.

Salah satu mikroorganisme penghasil enzim kitinase adalah *Actinomycetes*. *Actinomycetes* memiliki aktivitas biologis dan sporanya sangat esensial untuk biokonversi. Mikroorganisme ini sangat efisien dalam menggunakan substrat bagi kelangsungan hidupnya. Substrat kitin mudah dihidrolisis oleh *Actinomycetes* menjadi karbohidrat yang lebih sederhana (N-asetilglukosamin) dengan bantuan fermentasi (Samsuri *et al.*, 2003).

Produksi enzim melalui proses fermentasi memiliki beberapa keunggulan, diantaranya adalah substrat yang digunakan dapat disesuaikan dengan mikroorganisme, sehingga biaya produksi lebih murah. Jumlah produksi juga dapat ditingkatkan dengan optimasi kondisi fermentasi dan perbaikan strain (Ton *et al.*, 2010).

Produksi enzim kitinase juga berkaitan dengan kemampuan bakteri dalam mendegradasi kitin. Degradasi kitin oleh bakteri bergantung pada faktor lingkungan seperti pH, suhu, konsentrasi kitin, dan waktu inkubasi. Selain itu kitin termasuk senyawa yang sulit untuk didegradasi, sehingga bakteri membutuhkan waktu lebih lama untuk mendegradasinya (Donderski and Trzebiatowska, 2000).

Pada penelitian sebelumnya, Yuliandari (2013) melakukan uji pengaruh penambahan media inokulum dan media kitin dalam proses fermentasi kitin menggunakan *Actinomyces* ANL-4. Proses fermentasi ini berlangsung selama 45 hari dan glukosamin yang dihasilkan adalah 99% dari 10 gram berat kitin awal. Hal ini menunjukkan bahwa proses produksi glukosamin melalui fermentasi kitin memerlukan waktu yang cukup lama dan belum diketahui secara pasti kapan glukosamin terbentuk dengan jumlah maksimum dalam rentang waktu fermentasi 45 hari tersebut.

Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk menetapkan waktu inkubasi optimum degradasi kitin oleh kitinase yang dihasilkan dari bakteri *Actinomyces* ANL-4, berdasarkan pada jumlah glukosamin yang diproduksi pada tiap selang waktu 5 hari proses fermentasi. Glukosamin direaksikan dengan fenil isotiosianat (PITC) untuk membentuk derivat fenil tiourea (PTH) yang kemudian dapat diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi glukosamin dalam rendemen hasil fermentasi diperoleh dengan mengkalibrasi hasil pengukuran absorbansi ke dalam kurva standar. Metode ini dipilih karena lebih mudah, sensitif, akurat, dan tepat (Gadgoli, 2006).

B. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan persentase jumlah glukosamin yang terbentuk tiap selang waktu 5 hari fermentasi menggunakan metode Spektrometri UV-Visible.

2. Menetapkan waktu inkubasi optimum bagi enzim kitinase yang dihasilkan oleh isolat *Actinomyces* ANL-4 dalam mendegradasi kitin selama 45 hari waktu fermentasi.
3. Menentukan kemurnian glukosamin yang diperoleh menggunakan HPLC-ELSD.

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang:

1. Mengetahui kadar glukosamin dalam rendemen hasil fermentasi dan substrat kitin setiap selang waktu 5 hari.
2. Memperoleh waktu inkubasi optimum enzim kitinase dari ANL-4 untuk menghasilkan glukosamin dalam jumlah optimum dengan waktu yang relatif lebih singkat.
3. Mengetahui pola aktivitas enzim kitinase dari *Actinomyces* ANL-4 dalam mendegradasi kitin menjadi glukosamin dan oligomernya.