

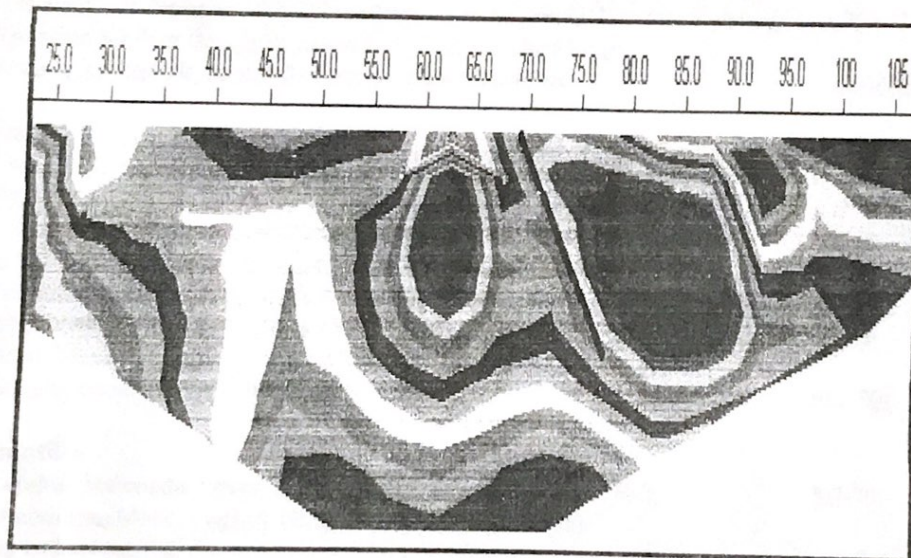


ISSN 0216-2393

GRADIEN

Vol. 7 No. 2 Juli 2011

JURNAL MIPA



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BENGKULU

Gradien	Vol. 7	No. 2	Hal. 669-715	Bengkulu, Juli 2011	ISSN 0216-2393
---------	--------	-------	--------------	------------------------	-------------------



ISSN 0216-2393

GRADIEN

Vol. 7 No. 2 Juli 2011

JURNAL MIPA

DAFTAR ISI

Fisika

1. Simulasi Kontrol Temperatur Tabung Sampel Minyak Bumi (*Irkhos*) 669-674
2. Pembuatan Peta Elektronik (E-Map) Berbasis Algoritma Dijkstra Di Kawasan Kota Bengkulu Menggunakan Bahasa Pemrograman Delphi 7.0 (Rida Samdara) 675-677
3. Penentuan Struktur Bawah Permukaan Di Zona Patahan (*Fault*) Berdasarkan Metode Geolistrik Tahanan Jenis (*Suhendra*) 678-682

Kimia

4. Pemanfaatan Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) untuk Pemurnian Kitinase dari *Streptomyces aureofaciens* (*Lusiana*) 683-686
5. Inhibisi Korosi Baja dengan Campuran Ekstrak Daun Gambir dan Kalsium Glukonat dalam Medium Asam Klorida (HCl) (*Ghufira*) 687-691
6. Preliminary Test of Determination of Alkaloid and Steroid Compounds and Bioassay on Some Vegetable Plant Extract (*Devi R*) 692-696
7. Pemanfaatan Ekstrak Bunga Mawar Merah (*Rosa hibrida bifera*) Sebagai Indikator Pada Titrasi Asam Basa (*Evi M*) 697-701

Matematika

8. Morfologi Matematik Dalam Pengolahan Citra *Grayscale* (*Yulian F*) 702-705
9. Perbandingan Model Logistik Ordinal Dengan Model Regresi Klasik (*Nurul A Y B*) 706-712

Biologi

10. Toksisitas Ekstrak *Clathria basilana* terhadap Sel Lestari A-549 (*Amor T K*) 713-715



Pemanfaatan Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) untuk Pemurnian Kitinase dari *Streptomyces aureofaciens*

Lusiana¹ dan Mardiyanto²

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Indonesia

²Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indonesia

Diterima 12 Mei 2011; Disetujui 12 Juni 2011

Abstrak - Telah dilakukan isolasi kitin dari cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) melalui proses demineralisasi dan deproteinasi. Dari hasil karakterisasi cangkang kepiting bakau dan kitin diperoleh kadar abu cangkang dan kitin sebesar 62,675 % (b/b) dan 20,184 (b/b), kadar air sebesar 5,043 % (b/b) dan 4,000 % (b/b) serta kadar nitrogen cangkang dan kitin sebesar 5,043 % (b/b) dan 6,542 % (b/b). Kitin hasil isolasi ini dimanfaatkan untuk pemurnian kitinase yang dihasilkan oleh *Streptomyces aureofaciens*. Kitinase yang dihasilkan dideteksi keberadaannya dengan menggunakan metode *Dot blot* dan menunjukkan adanya kitinase.

Kata Kunci : *Scylla serrata*, *Streptomyces aureofaciens*

1. Pendahuluan

Kepiting merupakan salah satu komoditi penting perikanan Indonesia yang saat ini sedang mengalami produksi, baik diperoleh dari usaha penangkapan di alam maupun dari hasil budidaya. Permintaan yang terus meningkat ini bukan hanya disebabkan oleh rasa dagingnya yang sangat gurih, tetapi juga disebabkan oleh kandungan gizinya yang cukup tinggi. Karena, permintaan yang semakin meningkat itulah komoditi kepiting ini berarti akan meningkatkan jumlah limbah yang dihasilkan. Limbah tersebut berupa kulit dan cangkang kepiting. Kebanyakan manusia di dunia mengkonsumsi kepiting hanya dagingnya saja yang rata-rata 20 % dari beratnya, sehingga 80 %-nya berupa limbahnya. Hal ini dapat membuat jumlah limbah dari kulit dan cangkang sangat besar seiring dengan hasil produksi kepiting di Indonesia yang terus meningkat. Limbah cangkang kepiting merupakan limbah yang sering dikesampingkan fungsinya, padahal dari limbah tersebut dapat terbentuk suatu senyawa yaitu kitin. Kadungan kitin dari kepiting ini adalah sebesar 72,1% (b/b) [1]. Kitin ini digunakan untuk memanen kitinase dari *Streptomyces aureofaciens*. Kitinase ini dapat dimanfaatkan sebagai pengendali fungi patogen sehingga potensial sebagai fungisida. Selain itu kitinase dapat digunakan untuk mengkatalisis hidrolisis ikatan β -1,4 homopolimer N-asetilglukosamin menjadi monomer N-asetilglukosamin yang merupakan salah satu contoh molekul gula sederhana

[6]. Pencarian molekul gula sederhana merupakan topik yang serius dikerjakan mengingat sangat terbatasnya sumber penghasil gula sederhana di alam ini.

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan kitin yang berasal dari cangkang kepiting bakau sebagai material penyerap untuk menghasilkan kitinase.

2. Metode Penelitian

2.1 Persiapan Sampel

Cangkang Kepiting yang digunakan dalam penelitian ini merupakan cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*). Kepiting ini berasal dari Kecamatan Sungsang Kabupaten Musi Banyu Asin, Sumatera Selatan. Cangkang kepiting ini dibersihkan dan dikeringkan kemudian dihaluskan

2.2 Isolasi Kitin dari Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla serrata*)

Isolasi kitin ini menggunakan metode Hong (1989). Cangkang kepiting halus ditambahkan HCl 1M dengan perbandingan 1 : 15 dan diaduk dengan pengaduk magnet selama 30 menit. Setelah dingin disaring dan residunya dicuci dengan air bebas mineral sampai pH netral. Kemudian dikeringkan dalam oven pada temperatur 60°C selama 4 jam.

Cangkang kemudian ditambahkan NaOH 3,5 % (b/v) dengan perbandingan 1 : 10, direfluks selama 2 jam pada temperatur 65°C. Setelah dingin disaring dan residu dicuci dengan akuadest sampai netral. Kemudian dikeringkan dalam oven pada temperatur 60°C.

2.2 Karakterisasi Kitin dari Cangkang Kepiting Bakau

a. Penentuan Kadar Abu

Krus porselin dipijarkan pada temperatur 525°C selama 1 jam. Kemudian dimasukkan ke oven pada temperatur 110°C, didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sebanyak 0,2 g kitin ditimbang dalam krus porselin, dipanaskan pada temperatur 200°C agar menjadi arang. Kemudian pemanasan dilanjutkan pada temperatur 300°C dan dinaikkan lagi menjadi 525°C selama 4 jam atau sampai menjadi abu. Abu kemudian dimasukkan ke dalam oven pada temperatur 110°C, lalu didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Pemanasan diulangi pada temperatur 525°C selama 15 menit, didinginkan dalam eksikator dan ditimbang kembali.

b. Penentuan Kadar Air

Kitin sebanyak 0.2 g ditimbang kemudian dikeringkan dalam oven pada temperatur 100-105°C selama 3-5 jam. Lalu didinginkan dalam eksikator dan ditimbang.

c. Penentuan Kadar Nitrogen Kitin dengan Cara Makro-Kjedahl yang dimodifikasi (AOAC, 1970)

Sebanyak 1 g kitin dimasukkan ke dalam labu Kjedahl kemudian ditambahkan 7,5 g Na₂SO₄ dan 0,35 g CuSO₄ dan akhirnya ditambahkan 15 ml H₂SO₄ pekat. Semua campuran bahan dipanaskan sampai mendidih dan cairan menjadi jernih. Pemanasan diteruskan kurang lebih 1 jam dan bahan dibiarkan menjadi dingin. Ke dalam labu Kjedahl kemudian ditambahkan 100 ml akuades, beberapa lempeng Zn dan juga ditambahkan 15 mL larutan K₂S 4% (b/v), dan akhirnya ditambahkan perlahan-lahan 50 mL larutan NaOH 50% (b/v). Kemudian labu Kjedahl dipasangkan pada alat destilasi dan dipanaskan sampai larutan bercampur.

2.3 Pemurnian Kitinase [3]

Streptomyces aureofaciens ditumbuhkan pada media pertumbuhan dan diinkubasi pada temperatur 37°C selama 2 hari kemudian dipanen dan diisolasi proteinnya.

Kitin yang telah dimurnikan dimasukkan ke dalam kolom sebanyak 1 g. Protein hasil isolasi dilarutkan dengan buffer protein yang sudah didinginkan kemudian dialirkan ke dalam kolom. Kolom kitin yang telah diinteraksikan dengan protein kemudian dielusi dengan buffer pencuci untuk menghilangkan pengotornya. Kitinase yang terikat pada kitin dibiarkan berinteraksi selama 1 hari. Kitinase yang terikat pada kitin dipisahkan dengan mengelusikan larutan buffer elusi kemudian diukur absorbansinya dengan spektrometer UV-Vis (panjang gelombang 200-400 nm).

Kitinase hasil elusi dari kolom kitin diinjeksikan pada ayam setiap 2 hari sekali selama 15 hari. Setelah 15 hari dilakukan analisa darah pada ayam tersebut untuk diambil serumnya. Serum ini kemudian dideteksi kitinase dengan metode *Dot blot*.

3. Hasil dan Pembahasan

Kadar abu menunjukkan kandungan oksida logam dan mineral yang terdapat dalam suatu bahan dan semakin tinggi kadar abu maka kandungan mineral dan oksida logamnya juga semakin tinggi. Abu yang terbentuk merupakan oksida-oksida logam atau logam yang terbakar. Kadar abu yang tinggi dapat mengganggu proses adsorpsi karena mengurangi keefektifan kitin sebagai adsorben untuk mengikat kitinase. Hasil penentuan kadar abu dari cangkang kepiting adalah sebesar 64,675 % dan kitin sebesar 20,184 %.

Kadar abu cangkang kepiting lebih besar dari kitin karena pada cangkang kepiting masih banyak terdapat mineral seperti CaCO₃ dan mineral lainnya. Seperti yang telah diketahui, kepiting bakau ini hidup di rawa-rawa bagian hilir sungai. Hal inilah yang menyebabkan cangkang kepiting bakau banyak mengandung mineral-mineral dan oksida logam karena bagian hulu sungai terdapat aliran limbah-limbah yang mengalir ke hilir sungai sehingga terikat pada cangkang kepiting.

Pada kitin kadar abunya telah berkurang karena telah mengalami proses demineralisasi. Kadar abu kitin yang dihasilkan ini tidak sesuai dengan mutu kadar abu menurut Bastaman (1989) yaitu maksimal 2 % (b/b), hal ini dikarenakan tingginya mineral yang terdapat pada cangkang yaitu 64,675 % (b/b) sehingga proses demineralisasi menggunakan HCl 1M yang diaduk selama 30 menit tidak dapat menurunkan kadar mineral tersebut sampai dengan 2 %.

Pada penelitian ini cangkang kepiting dan kitin mempunyai kadar air yang lebih kecil dari 10 % (b/b). Kadar air yang lebih besar dari 10 % (b/b) akan mengurangi daya tahan bahan terhadap serangan mikroba sehingga daya simpannya semakin berkurang. Dari penelitian ini diperoleh kadar air cangkang kepiting adalah sebesar 5,551 % dan kitin sebesar 4 %.

Hasil penelitian kadar air pada penelitian ini memperlihatkan kadar air kitin kurang dari cangkang kepiting. Hal ini dikarenakan pada proses isolasi kitin, tahap deproteinasinya menggunakan NaOH. NaOH bersifat higroskopis (menyerap air) akibatnya kadar air kitin lebih sedikit daripada cangkang. Selain itu kitin juga telah banyak mengalami pengeringan sehingga kadar airnya berkurang. Penentuan kadar nitrogen cangkang kepiting bakau menunjukkan bahwa cangkang kepiting bakau mempunyai kadar nitrogen lebih kecil dari kitin. Kadar nitrogen cangkang kepiting sebesar 5,043 % dan kitin sebesar 6,542 %. Pada cangkang banyak terikat mineral-mineral dan protein, sehingga kadar nitrogen yang terikat cukup besar. Namun pada penentuan kadar nitrogen kitin yang diukur bukanlah nitrogen yang terikat melainkan nitrogen yang bebas. Sehingga dari hasil pengukuran terlihat bahwa kadar nitrogen bebas cangkang kepiting lebih kecil. Lain halnya dengan kitin, kadar nitrogen bebasnya lebih besar karena kitin diisolasi dari cangkang kepiting dengan proses demineralisasi dan deproteinasi sehingga menghasilkan kitin yang mengandung gugus asetil sebagai amida dan kadar nitrogennya terdapat dalam bentuk gugus asetil sebagai amida.

Kitin akan menghasilkan suatu katalis yang disebut enzim kitinase dapat melaksanakan reaksi kimia dalam kehidupannya. Semua enzim adalah protein [5]. Berdasarkan lokasinya enzim kitinase termasuk enzim

ekstraseluler karena dihasilkan di dalam sel *Streptomyces aureofaciens* dan dikeluarkan ke medium tumbuhnya.

Protein hasil isolasi yang merupakan protein target diikat pada kitin hasil isolasi dari cangkang kepiting bakau. Kitin ini harus telah mengalami proses deproteinasi, ini dimaksudkan agar kitin benar-benar hanya mengikat protein target. Protein target yang telah terikat kemudian dielusikan dengan buffer penecuci untuk menghilangkan pengotor-pengotor dan protein-protein yang tidak diinginkan, namun kitinase yang diharapkan akan tetap terikat pada kitin. Kitinase mengikat kitin karena kitin dikenali oleh *domain chitin binding protein* pada kitinase.

Kitinase yang diinjeksikan ke dalam peredaran darah ayam akan menyebabkan sistem imun binatang ini akan mensintesis antibodi yang mengikat dan membantu pengrusakan molekul asing. Hal ini merupakan pertahanan alamiah yang digunakan binatang ini untuk menghadapi invasi bakteri, virus, dan agen infeksius lain. Keberadaan kitinase pada antibodi murni ini diidentifikasi dengan metode *Dot blot*. Dari hasil *Dot blot* ini terlihat keberadaan kitinase karena noda yang ditimbulkan sama dengan antibodi dari hasil analisis sel *Salmonella thypii* dalam pTYB yang digunakan sebagai antibodi pelacak.



Gambar 1 : Interaksi kitinase dengan antibodi pelacak (a) Kitinase dengan antibody pelacak, (b) protein standar (*Salmonella thypii*)

4. Kesimpulan

Kitin yang berasal dari cangkang kepiting bakau dapat dimanfaatkan untuk pemurnian kitinase dari *Streptomyces aureofaciens*.

Daftar Pustaka

- [1] Bastaman, S. 1989. *Studies on Degradation and Extraction of Chitin and Chitosan from Prawn Shell (Nephrops norvegicus)*, Thesis, The Department of

Mechanical Manufacturing, The Queen's University of Belfast

- [2] Hong, N.K., Meyer, S.P., Lee, K.S. 1989. Isolation and Characterization of Chitin from Crawfish Shell Waste, *J. Agric. Food. Chem.*, 37; 575-579
- [3] Hopwood, D.A. and M.J. Bibb. 1995. *Genetic Manipulation of Streptomyces A laboratory Manual*, The John Innes Foundation, USA
- [4] Knorr, D. 1984. *Use of Chitinous Polymers in Food*, Food Technology, 85
- [5] Lay, B.W., Hastowo, S. 1992. *Mikrobiologi*, Institut pertanian Bogor, Bogor
- [6] Wijaya S, S.K. 2002. Isolasi Kitinase dari *Scheloderma columnare* dan *Trichoderma harzianum*, *Jurnal Ilmu Dasar*, 3; 30-35.