



PRODUKSI, PURIFIKASI DAN KARAKTERISASI KITINASE DARI *Micromonospora* sp. AR17

Intisari

Kitin merupakan senyawa polisakarida yang tersusun dari N-asetilglukosamin (NAG) yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4-glikosida. Dalam memproduksi NAG dari kitin, metode enzimatik menggunakan kitinase memiliki keunggulan dibandingkan dengan degradasi kimia. NAG telah banyak digunakan sebagai senyawa bioaktif seperti anti tumor, anti mikroba, dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas, tingkat kemurnian dan berat molekul kitinase *Micromonospora* sp. AR17 hasil purifikasi dan untuk mengetahui konsentrasi NAG yang dihasilkan dengan menggunakan kitinase hasil purifikasi yang telah dikarakterisasi. Penelitian waktu inkubasi optimal dilakukan dengan fermentasi pada suhu 40 °C, pH 7, dan kecepatan agitasi 100 rpm selama 7 hari dengan pengamatan setiap 24 jam sekali. Purifikasi kitinase dari supernatan hasil fermentasi dengan waktu optimal dilakukan dengan metode ultrafiltrasi, presipitasi protein menggunakan amonium sulfat pada berbagai tingkat kejenuhan yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%, dan fraksi ammonium sulfat dengan aktivitas spesifik tertinggi dilanjutkan pada tahap purifikasi dengan dialisis, kromatografi penukar ion dan kromatografi filtrasi gel. Enzim kasar hingga fraksi enzim terbaik hasil purifikasi diukur aktivitas spesifik dan berat molekul proteinnya dengan analisis SDS-PAGE. Enzim hasil purifikasi juga dikarakterisasi pH dan suhu optimum untuk menghasilkan NAG. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas hidrolisis kitin menjadi NAG menggunakan kitinase hasil purifikasi. Hasil penelitian menunjukkan hari ke-4 merupakan waktu optimal produksi kitinase dengan aktivitas kitinase sebesar 0,0040 U/mL dan konsentrasi NAG 7,62 μ g/mL. Hasil SDS-PAGE menunjukkan kitinase dari *Micromonospora* sp. AR17 memiliki berat molekul 12.60 kDa dan 17.32 kDa. Enzim kitinase hasil purifikasi memiliki nilai aktivitas spesifik kitinase sebesar 1,4648 U/mg dan tingkat kemurnian 6,82 kali. Produksi NAG dengan kitinase murni dari *Micromonospora* sp. AR17 menghasilkan konsentrasi NAG 32,472 μ g/mL dengan waktu inkubasi 30 menit, pH 7 dan suhu 40 °C.

Kata kunci: kitinase, *Micromonospora* sp. AR17, N-asetilglukosamin, purifikasi



PRODUKSI, PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF *Micromonospora* sp. AR17 CHITINASE

Abstract

Chitin is a polysaccharide compound composed of N-acetylglucosamine (NAG), which is linked by β -1,4-glycoside bonds. In producing NAG from chitin, enzymatic method using chitinase offer advantages compared to chemical degradation. NAG has been widely used as bioactive compounds such as anti-tumor, anti-microbial, and antioxidant. This study aims to determine the activity, level of purity and molecular weight of the purified chitinase from *Micromonospora* sp. AR17 and to determine the concentration of NAG produced by purified chitinase that has been characterized. Chitinase was produced by fermentation in colloidal chitin broth at a temperature of 40 °C, pH 7, and agitation speed of 100 rpm for 7 days. Chitinase activity were checked every 24 hours to obtain optimum fermentation time. The supernatant with optimal fermentation time was continued to purification stage included ultrafiltration, protein precipitation using ammonium sulfate at various levels of saturation, namely 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%, dialysis, ion-exchange chromatography, and gel filtration chromatography. Chitinase activity, purity level and protein fraction by SDS-PAGE were checked in every stage. The purified enzymes further characterized for optimum pH and temperature to produce NAG. Subsequently, the hydrolysis activity of chitin into NAG was tested using purified chitinase. The results showed that day 4 was the optimal time for chitinase production with chitinase activity of 0.0040 U/mL and the NAG concentration of 7.62 μ g/mL. The purification step successfully increased the purify by 6.82 times with chitinase specific activity value of 1.4648 U/mg. The SDS-PAGE on purified fraction results showed suggested that chitinase from *Micromonospora* sp. AR17 has a molecular weight of 12.60 kDa and 17.32 kDa. Production of NAG with purified chitinase from *Micromonospora* sp. AR17 produced a NAG concentration of 32.472 μ g/mL with an incubation time of 30 minutes, pH 7, and temperature of 40 °C.

Keywords: chitinase, *Micromonospora* sp. AR17, N-acetylglucosamine, purification