

Intisari

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas spesifik kitinase kasar hasil purifikasi parsial dari *Pseudomonas stutzeri* PT5, mengetahui pH dan suhu reaksi optimal kitinase kasar dari *Pseudomonas stutzeri* PT5, mengetahui waktu reaksi optimum untuk memproduksi N-asetilglukosamin (NAG) menggunakan kitinase kasar dari *Pseudomonas stutzeri* PT5, dan mengetahui kandungan produk hidrolisat kitin secara kualitatif maupun kuantitatif. Produksi kitinase dilakukan melalui fermentasi cair menggunakan medium kitin cair pada pH 6, suhu 37 °C dan kecepatan agitasi 100 rpm. Proses fermentasi dilakukan selama 5 hari dengan jumlah inokulum awal sebanyak 1% dan dilakukan pengamatan setiap 24 jam. Purifikasi parsial dilakukan dengan presipitasi ammonium sulfat pada berbagai tingkat kejenuhan dan dialisis untuk memisahkan kitinase dengan komponen lain. Kitinase kasar hasil purifikasi parsial kemudian direaksikan pada berbagai pH dan suhu reaksi serta dilakukan optimasi waktu reaksi untuk memproduksi NAG tertinggi. Produk hidrolisat kitin yang terbentuk dari hasil hidrolisis enzim dianalisis kandungannya menggunakan *Thin Layer Chromatography* (TLC) dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu optimal produksi kitinase dicapai selama 3 hari inkubasi. Purifikasi parsial dengan presipitasi ammonium sulfat tertinggi berada pada tingkat kejenuhan 20% dan dialisis. Aktivitas spesifik kitinase sebesar $0,6581 \pm 0,3127$ U/mg. Kitinase kasar *Pseudomonas stutzeri* PT5 optimum pada pH 7,4 dan suhu 50 °C. Produksi NAG tertinggi dapat dihasilkan selama waktu reaksi 120 menit. Analisis TLC dan HPLC menunjukkan bahwa produk hidrolisis yang diperoleh berupa NAG dengan campuran produk hidrolisis kitin lain.

Kata kunci: kitinase, N-asetilglukosamin, *Pseudomonas stutzeri*

Abstract

This research aimed to know the specific activity of crude chitinase with partial purification using ammonium sulphate precipitation and dialysis produced by *Pseudomonas stutzeri* PT5, to determine optimal pH and temperature of reaction of crude chitinase from *Pseudomonas stutzeri* PT5 in the various, to determine the optimum reaction time to produce N-acetylglucosamine (GlcNAc) using crude chitinase from *Pseudomonas stutzeri* PT5, and to analysis the content of chitin hydrolysate product using qualitative and quantitative method. Chitinase was produced by *Pseudomonas stutzeri* PT5 fermentation in chitin. The condition of pH 6, temperature 37 °C and agitation speed 100 rpm were maintained for 5 days incubation during fermentation. Partial purification of chitinase was carried out by precipitation with ammonium sulphate and dialysis to obtain crude chitinase. Crude chitinase was reacted at the various pH and temperature. The optimal reaction time to produce highest concentration of GlcNAc was also observed. Chitin hydrolysate product from enzyme hydrolysis was analyzed using Thin Layer Chromatography (TLC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The result showed that the optimal chitinase production was obtained in 3 days of incubation. The crude chitinase obtained from partial purification by ammonium sulphate precipitation (20%) and dialysis showed a specific activity of $0,6581 \pm 0,3127$ U/mg. The crude chitinase from *Pseudomonas stutzeri* PT5 was optimum at pH 7,4 and temperature 50 °C. The highest concentration of GlcNAc was produced at 120 minutes. TLC and HPLC analysis showed that the hydrolysis product was GlcNAc with other chitin hydrolysate product.

Keyword: chitinase, N-acetylglucosamine, *Pseudomonas stutzeri*