

INTISARI

Kitin merupakan senyawa polisakarida yang tersusun dari N-asetilglukosamin (NAG), yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4-glikosida. Produksi NAG dari kitin dapat dilakukan menggunakan metode enzimatis menggunakan kitinase yang memiliki keunggulan dibandingkan dengan metode kimiawi. *Streptomyces* sp. PB2 merupakan kandidat penghasil kitinase yang sebelumnya diisolasi dari sedimen tambak udang. Optimasi produksi kitinase oleh *Streptomyces* sp. PB2 diperlukan untuk produksi enzim ini dalam skala besar. Penelitian ini bertujuan untuk mencari komposisi media yang optimal untuk meningkatkan aktivitas enzim kitinase *Streptomyces* sp. PB2 menggunakan Metode Permukaan Respon. Penapisan awal dilakukan untuk menentukan sumber karbon dan nitrogen tambahan dalam medium kitin koloidal yang cocok untuk meningkatkan aktivitas kitinase. Optimasi komposisi medium dilakukan dengan menggunakan desain Plackett-Burman untuk menentukan komponen kritis dalam medium kitin koloidal dan dilanjutkan dengan model Box-Behnken untuk mengoptimalkan konsentrasi komponen media. Aktivitas kitinase diamati berdasarkan pengukuran warna menggunakan spektrofotometer. Komponen medium yang memberikan kontribusi tinggi dalam meningkatkan aktivitas kitinase adalah K_2HPO_4 , kitin koloidal dan pepton dengan nilai tingkat kepercayaan masing-masing sebesar 0,66; 0,48; dan 0,38. Analisis model Box-Behnken menunjukkan bahwa kombinasi K_2HPO_4 0,007 g/ml, kitin koloidal 1,5 g/ml dan pepton 1,5 g/ml dalam medium kitin koloidal merupakan media yang optimal untuk *Streptomyces* sp. PB2, menghasilkan aktivitas kitinase sebesar 0,0125 U/ml. Peningkatan 6 kali lipat dalam aktivitas kitinase dicapai dalam penelitian ini. Enzim kitinase kemudian dilakukan dengan pemurnian Ammonium Sulfat 20, 40, 60, dan 80%, didapatkan konsentrasi Ammonium sulfat 40% dengan aktivitas spesifik kitinase 1,062 U/mg. Kitinase hasil pemurnian dilakukan dialisis protein, hasil aktivitas spesifiknya meningkat 2,6 kali 1,621 U/mg. pH optimum kitinase dari *Streptomyces* sp berada di pH 6 dan suhu 30°C. Berat molekul protein enzim dengan metode SDS-Page berkisar 37-40 kDa.

Kata kunci: kitinase, N-asetilglukosamin, *Response Surface Method*, *Streptomyces* sp. PB2

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 offers advantages compared to chemical degradation. *Streptomyces* sp. PB2 is a good candidate of chitinase producer which previously isolated from shrimp pond sediment. However, optimization of chitinase production by *Streptomyces* sp. PB2 is required for large-scale production of this enzyme. This study aimed to find the optimal medium composition to increase the chitinase enzyme activity of *Streptomyces* sp. PB2 using the Response Surface Method. Initial screening was done to determine additional carbon and nitrogen sources in colloidal chitin broth suitable for increasing chitinase activity. Optimization of the medium composition was conducted using the Plackett-Burman design to determine the critical components in the colloidal chitin broth medium and continued by Box-Behnken model to optimize the concentration of the medium components. Chitinase activity was observed Based on color measurement using spectrophotometer. The medium components showing high contribution in increasing chitinase activity were K_2HPO_4 , colloidal chitin and peptone, with the confidence level value of 0.66, 0.48, and 0.38, respectively. The Box-Behnken model analysis shows that the combination of K_2HPO_4 0.007 g/ml, colloidal chitin 1.5 g/ml and peptone 1.5 g/ml in colloidal chitin broth are the optimal medium for *Streptomyces* sp. PB2, resulted in chitinase activity of 0.0125 U/ml. The increase of 6-fold in chitinase activity was achieved in this study. The chitinase was then purified by purification of Ammonium Sulfate 20, 40, 60, and 80%, obtained a concentration of Ammonium sulfate 40% with a specific activity of chitinase 1.062 U/mg. The purified chitinase was subjected to protein dialysis, the specific activity increased by 2.6 times 1.621 U/mg. The optimum pH of chitinase from *Streptomyces* sp was at pH 6 and a temperature of 30°C. The molecular weight of the enzyme protein using the SDS-Page method ranges from 37-40 kDa.

Keywords: Chitinase, N-acetylglucosamine, Response Surface Method, *Streptomyces* sp. PB2