
JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences
ISSN: 2302-5697
<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *Streptomyces* spp. PENGHASIL ENZIM KITINASE
DARI LUMPUR SELOKAN**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *Streptomyces* spp. PRODUCING CHITINASE
ENZYME FROM SEWAGE MUD**

Putu Ayu Parwati*, Retno Kawuri, Ni Luh Watiniasih

Program Studi Magister Ilmu Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana
**Email: parwatiputuayu@gmail.com*

INTISARI

Streptomyces merupakan bakteri dari kelompok Actinomycetes. Genus ini diketahui dapat memproduksi berbagai senyawa aktif diantaranya antibiotik, antiviral, dan enzim. Enzim yang dapat ditemukan pada bakteri dan jamur yaitu salah satunya enzim kitinase. Enzim kitinase yang diproduksi oleh bakteri lebih baik dibandingkan kitinase dari sumber lain karena dengan waktu yang relatif singkat dapat melakukan proses perkembangbiakan. Bakteri kitinolitik merupakan agen pengendalian hayati terhadap jamur patogen maupun serangga hama yang sangat potensial karena aktivitas kitinase yang dimiliki. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengetahui karakteristik *Streptomyces* spp. dari lumpur selokan dan uji aktivitas enzim kitinase. Aktivitas enzim kitinase diketahui melalui zona bening yang terbentuk pada media uji. Hasil penelitian diperoleh lima spesies *Streptomyces* spp. dari sampel lumpur selokan yang diisolasi dengan karakteristik yang berbeda-beda. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa dari lima spesies *Streptomyces* spp., dua spesies yaitu *Streptomyces* sp.3 dan *Streptomyces* sp.5 mampu memproduksi enzim kitinase, sementara tiga spesies *Streptomyces* lainnya tidak memproduksi enzim kitinase. *Streptomyces* sp.3 memproduksi enzim kitinase dengan terbentuknya zona bening sebesar $1,85 \pm 0,07$ cm dan pada *Streptomyces* sp.5 terbentuk zona bening sebesar $0,65 \pm 0,14$ cm. Berdasarkan data tersebut *Streptomyces* sp.3 dan *Streptomyces* sp.5 memiliki potensi sebagai bakteri kitinolitik yang memiliki manfaat sebagai agen pengendalian hayati.

Kata kunci : Streptomyces sp., Enzim kitinase

ABSTRACT

Streptomyces is a bacterium of the Actinomycetes group. This genus is known to produce various active compounds including antibiotics, antivirals, and enzymes. Enzymes that can be found in bacteria and fungi is one of them chitinase enzyme. The production of chitinase enzyme from bacteria is better than chitinase from other sources because of its proliferation occurs in a relatively short time. Chitinase activity of chitinolytic bacteria is potentially to be used as a biological control agent against pathogenic fungi and insect pests. This study aims to isolate, characterized and identify the chitin enzyme activity of *Streptomyces* spp. collected from sewage slurry. The activity of chitinase enzymes is known through the clear zone formed on the medium. Five *Streptomyces* species were isolated from the sewage slurry collected 3 different places. Out of 5 species, two species, *Streptomyces* sp.3 and *Streptomyces* sp.5, were able to produce chitinase enzyme, while three others were not. The species of *Streptomyces* sp.3 producing chitinase enzyme was performed a clear zone in chitin media with average of 1.85 ± 0.07 cm

and *Streptomyces* sp.5 was 0.65 ± 0.14 cm. Therefore, *Streptomyces* sp.3 and *Streptomyces* sp.5 are a potential source of bacteria producing chitinase enzyme for a biological control agent.

Keywords: Streptomyces sp., chitinase enzyme

PENDAHULUAN

Indonesia sangat kaya dengan plasma nutfah termasuk mikroorganisme yang hidup didalamnya sehingga mampu menyediakan isolat-isolat mikroba yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Penelitian isolat-isolat mikroba secara umum bertujuan mencari mikroba penghasil isolat yang dapat bermanfaat bagi manusia misalnya antibiotik, enzim, dan senyawa antitumor atau substansi bioaktif lainnya (Natsir dkk, 1999). Dibandingkan dengan tanaman dan hewan, mikroba merupakan sumber enzim yang paling banyak. Hal tersebut dikarenakan keuntungan dari mikroba yang memiliki pertumbuhan cepat, tumbuh pada substrat yang murah dan hasilnya lebih mudah ditingkatkan melalui pengaturan kondisi pertumbuhan (Suryadi dkk, 2013).

Kitinase adalah enzim yang mampu menghidrolisi polimer kitin menjadi oligomer kitin. Kitin merupakan polimer linier karbohidrat yang tersusun dari monomer N-asetil-glukosami dengan ikatan 1,4- β -glikosidik. Bakteri yang mengandung kitin sebagai sumber karbon dan nitrogen umumnya mengandung enzim kitinase ekstraseluler (Itoi *et al.*, 2007). Enzim kitinase saat ini banyak dieksplorasi karena kebutuhan enzim kitinase dalam bidang kesehatan dan pertanian sangat dibutuhkan.

Sowmya *et al.* (2012) menyatakan genus Actinomycetes yang menghasilkan enzim kitinase adalah *Streptomyces*. Genus *Streptomyces* ditetapkan sebagai salah satu mikroorganisme terbaik untuk mempelajari produksi serta aspek biokimia kitinase melalui berbagai kondisi dan lingkungan karena hampir semua anggota Genus *Streptomyces* menghasilkan kitinase (Soeka, 2015). Kemampuan yang dimiliki bakteri kitinolitik yaitu memproduksi enzim kitinase dan sebagai sumber karbon serta nitrogen dimanfaatkan enzim kitinase untuk asimilasi kitin (Wu *et al.*, 2001). Secara intra maupun ekstraseluler

dengan acak dari dalam (endokitinase) atau dari ujung nonreduksi (eksokitinase) molekul kitin, kitinase yang termasuk kelompok enzim hidrolase dapat mendegradasi kitin secara langsung menjadi produk bermolekul kecil (Wang and Chang, 1997). Kitin didegradasi menjadi oligosakarida kitin (diasetilkitobiosa dan N-asetilglukosamin) oleh enzim kitinase,

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengetahui karakteristik bakteri *Streptomyces* spp. yang ditemukan pada lumpur selokan serta kemampuannya memproduksi enzim kitinase.

BAHAN DAN METODE

Isolasi bakteri *Streptomyces* spp. dilakukan menggunakan sampel dari lumpur selokan yang terdapat di kawasan Tabanan, Denpasar dan Badung. Isolasi *Streptomyces* sp. dilakukan dengan metode pengenceran (*serial dilution method*) yaitu dengan menimbang 10 gram lumpur selokan kemudian dihomogenkan pada 90 mL air steril. Sampel yang telah homogen dilakukan pengenceran berseri hingga 10^{-3} dan ditanam secara *pour plate* pada media *Yeast Extract Malt Agar* (ISP4/*International Standar Project* 4). Pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis dilakukan pada koloni yang tumbuh pada media. Pengamatan makroskopis berupa warna koloni, bentuk koloni dan ada tidaknya pertumbuhan hifa aerial. Pengamatan mikroskopis berupa pengamatan terhadap struktur hifa dan konidia, uji pewarnaan tahan asam dan uji pewarnaan Gram. Buku kunci determinasi *Guide to the Classification and Identification of the Actinomyces and Their Antibiotics* dari Lechevalier and Waksman (1973) dan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dari Holt *et al.* (1994) digunakan untuk identifikasi penentuan genus *Streptomyces*.

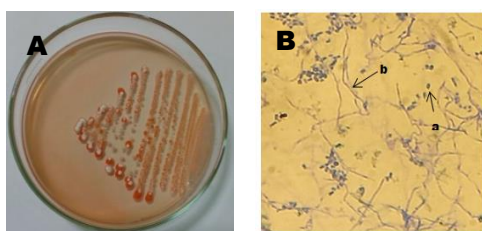
Uji aktivitas enzim kitinase dilakukan dengan menggunakan media kitin agar. Masing-

masing isolat *Streptomyces* sp. yang berusia 5 hari diambil koloninya dengan menggunakan *cork borer* (diameter koloni yang diambil 5 mm) sebanyak 2 buah lalu diletakkan pada permukaan media kitin sebagai media uji. Kemudian media uji tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Zona bening yang terbentuk pada sekitar koloni menunjukkan adanya aktivitas enzim kitinase. Zona bening yang semakin besar menunjukkan aktivitas enzim kitinase yang dimiliki *Streptomyces* sp. tersebut semakin besar (Rostinawati, 2008). Pengukuran zona hambat terbentuk pada cawan Petri diukur sebanyak 2 kali yaitu pengukuran berdasarkan garis tengah diagonal dan hasilnya dirata-ratakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi Bakteri *Streptomyces*

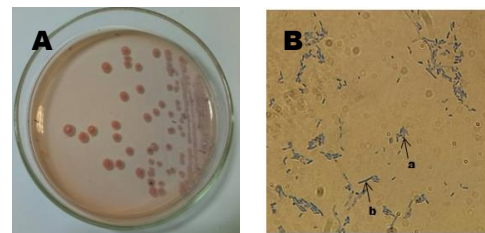
Hasil isolasi diperoleh 5 isolat yang memiliki perbedaan karakteristik makroskopis dan termasuk Gram positif, katalase positif serta bakteri tidak tahan asam. *Streptomyces* sp.1 memiliki koloni berbentuk bulat dengan pinggiran tidak merata. Koloni melekat erat pada media dengan permukaan seperti kapas. Hifa aerial berwarna abu keemasan dan secara mikroskopis hifa tidak berseptat dengan diameter 0,12-0,24 µm. Konidia berbentuk bulat, tersusun berantai dengan diameter 0,08-0,10 µm (Gambar 1).



Gambar 1. Bakteri *Streptomyces* sp.1. (A) Koloni pada media YEMA, (B) gambar mikroskopis, (a) konidia dan (b) hifa

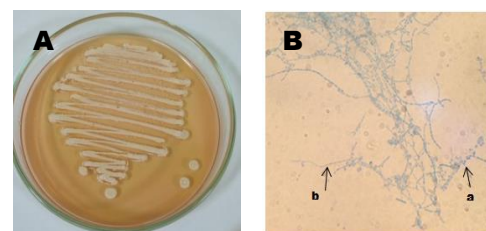
Streptomyces sp.2 memiliki koloni berbentuk bulat melekat erat pada media dengan miselia vegetatif berwarna merah pada media YEMA. Pertumbuhan hifa aerial berwarna putih dan secara mikroskopis memiliki diameter 0,18-

0,21 µm. Konidia berbentuk bulat, tersusun berantai dengan diameter 0,07-0,21 µm. (Gambar 2).

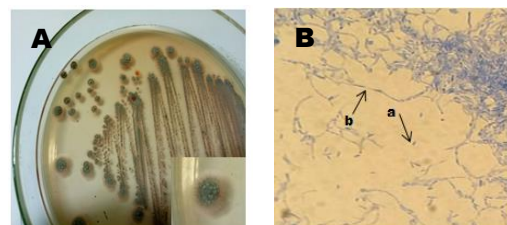


Gambar 2. Bakteri *Streptomyces* sp.2. (A) Koloni pada media YEMA, (B) gambar mikroskopis, (a) konidia dan (b) hifa

Streptomyces sp.3 memiliki koloni berbentuk bulat dengan pinggiran merata. Koloni melekat erat pada media dengan struktur permukaan seperti kapas dengan hifa aerial berwarna putih. Secara mikroskopis hifa tidak berseptat dengan ukuran 0,08-0,09 µm. Konidia tersusun lurus berantai, berbentuk oval dengan diameter 0,07-0,08 µm (Gambar 3).



Gambar 3. Bakteri *Streptomyces* sp.3. (A) Koloni pada media YEMA, (B) gambar mikroskopis, (a) konidia dan (b) hifa

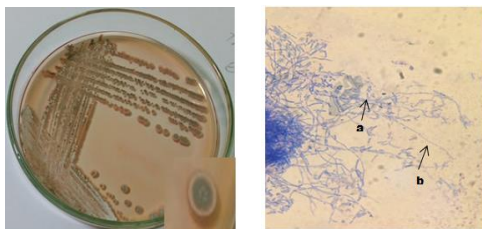


Gambar 4. Bakteri *Streptomyces* sp.4. (A) Koloni pada media YEMA, (B) gambar mikroskopis, (a) konidia dan (b) hifa

Streptomyces sp.4 memiliki koloni bulat dengan permukaan koloni seperti beludru. Koloni melekat erat di media dengan hifa aerial

berwarna abu keemasan. Secara mikroskopis hifa tidak berseptat berdiameter 0,07-0,08 μm . Konidia bulat, tersusun berantai berdiameter 0,08-0,10 μm (Gambar 4).

Streptomyces sp.5 memiliki koloni bulat dengan permukaan seperti bertepung. Koloni melekat erat pada media dengan hifa aerial berwarna abu keemasan. Secara mikroskopis hifa tidak berseptat dengan diameter 0,20-0,24 μm . Konidia berbentuk bulat, tersusun berantai dengan diameter 0,09-0,11 μm (Gambar 5).



Gambar 5. Bakteri *Streptomyces* sp.5. (A) Koloni pada media YEMA, (B) gambar mikroskopis, (a) konidia dan (b) hifa

Karakteristik dari kelima isolat tersebut diantaranya koloni merekat erat pada media, membentuk hifa aerial, Gram positif, tidak tahan asam, katalase positif, konidia dengan ukuran rata-rata 0,07-0,21 μm dan memiliki hifa vegetative. Keseluruhan isolat dapat tumbuh

dengan baik pada media YEMA dengan kisaran suhu pertumbuhan $28 \pm 2^{\circ}$.

Beberapa karakteristik genus *Streptomyces* menurut Holt *et al.* (1994) dan Lechevalier and Waksman (1973) diantaranya memiliki hifa vegetatif dengan diameter 0,50-2,00 μm . Hifa vegetatif dalam pertumbuhannya akan membentuk hifa aerial, dimana hifa aerial yang matang akan membentuk susunan rantai spora.

2. Uji Enzim Kitinase

Uji aktivitas enzim kitinase dilakukan untuk mengetahui kandungan enzim kitinase dari isolat *Streptomyces* spp.

Isolat *Streptomyces* sp.3 (Gambar 6C) memiliki kandungan enzim kitinase paling besar dengan diameter zona bening sebesar $1,85 \pm 0,07$ cm.

Isolat *Streptomyces* sp.5 (Gambar 6E) memiliki kandungan enzim kitinase yang kecil dengan diameter zona bening sebesar $0,65 \pm 0,14$ cm. Isolat *Streptomyces* sp.4 (Gambar 6D) terlihat tidak adanya zona bening yang terbentuk, tetapi terbentuk koloni bakteri yang tumbuh di area pengujian enzim kitinase.

Isolat *Streptomyces* sp.1 (Gambar 6A) dan *Streptomyces* sp.2 (Gambar 6B) menunjukkan tidak ada zona bening terbentuk tersebut.

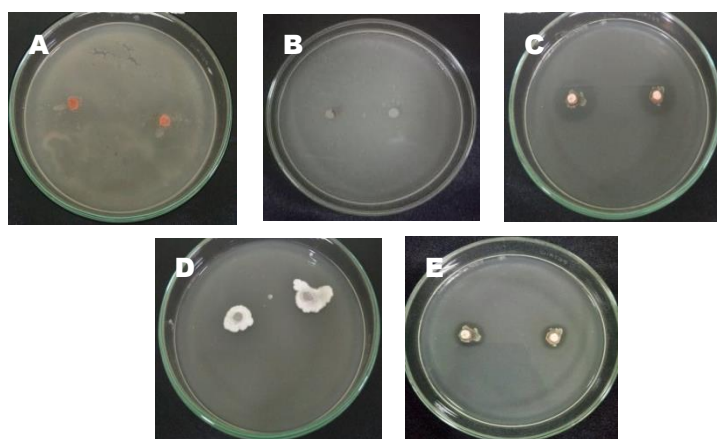
Tabel 1. Zona bening isolat *Streptomyces* spp. pada media kitin

No.	Isolat <i>Streptomyces</i>	Diameter zona bening (cm)
1.	<i>Streptomyces</i> sp.1	$0,00 \pm 0,00$
2.	<i>Streptomyces</i> sp.2	$0,00 \pm 0,00$
3.	<i>Streptomyces</i> sp.3	$1,85 \pm 0,07$
4.	<i>Streptomyces</i> sp.4	$0,00 \pm 0,00$
5.	<i>Streptomyces</i> sp.5	$0,65 \pm 0,14$

Keterangan: Nilai rata-rata zona bening \pm standar deviasi dari dua kali ulangan

Menurut Gohel *et al.* (2006) secara kualitatif aktivitas kitinase ditunjukkan bila di sekitar koloni isolat yang tumbuh pada medium agar kitin terbentuk zona bening. Aktivitas enzim kitinase yang terbentuk keluar sel memecah makromolekul kitin menjadi molekul lebih kecil mengakibatkan terbentuknya zona bening (Suryadi dkk., 2013). Jumlah monomer N-asetil

glukosamin yang dihasilkan dari proses hidrolisis kitin dengan memutus ikatan β 1,4 homopolimer N-asetilglukosamin menentukan besarnya zona bening yang dihasilkan oleh enzim kitinase. Makin besar zona bening yang terbentuk di sekitar koloni menandakan makin besar jumlah monomer N-asetilglukosamin yang dihasilkan (Wijaya, 2002).



Gambar 6. Hasil uji aktivitas enzim kitinase
Keterangan: (A) *Streptomyces* sp.1, (B) *Streptomyces* sp.2, (C) *Streptomyces* sp.3, (D) *Streptomyces* sp.4, (E) *Streptomyces* sp.5.

Berdasarkan penelitian, waktu produksi enzim kitinase dari isolat *Streptomyces* sp. adalah 6 hari (Narayana and Vijayalakshmi, 2009). Waktu yang dibutuhkan untuk memproduksi enzim kitinase adalah pada fase eksponensial, yang berbeda-beda tergantung pada tiap mikroba (Matsumoto *et al.*, 2006). Kondisi pH dan suhu produksi enzim kitinase bervariasi. Aktivitas kitinase juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti suplemen nutrisi yang ditambahkan, konsentrasi koloidal kitin, penambahan sumber karbon, penambahan sumber nitrogen, dan penggunaan detergen (Bhattacharya *et al.*, 2012)

Enzim kitinase yang berperan dalam pengendalian jamur, nematoda dan serangga mampu menguraikan kitin pada dinding sel jamur, nematoda dan eksoskeleton serangga menjadi N-asetil glukosaminida. Mikroorganisme kitinolitik mendegradasi kitin dengan cara melibatkan enzim kitinase. Sebagian besar mikroorganisme ini ialah dari kelompok bakteri, misalnya *Streptomyces*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Serratia*, dan *Enterobacter*. *Streptomyces* sp. memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim kitinase (Dewi, 2008).

Streptomyces alivaceoviridis menginduksi sintesis kitinase dengan cara mengenal struktur fisik kitin seperti susunan rantai. Bakteri ini memproduksi protein seperti lektin yang

mengikat secara khusus pada kristal α -kitin dan selama degradasi kitin sel juga dapat mengenal derajat deasetilasi dari jumlah glukosamin dan G1cNac relatif yang dibebaskan (Dewi, 2008).

Okasaki *et al.* (1995) melaporkan *Streptomyces* sp. J-13-3 menghasilkan dua jenis kitinase yaitu Chi A dan Chi B yang stabil pada pH optimum 6 dan suhu optimum yaitu 45°C.

KESIMPULAN

Isolasi yang dilakukan dari sampel lumpur selokan diperoleh lima isolat *Streptomyces* spp. dengan karakteristik yang berbeda-beda. Dari lima spesies *Streptomyces*, dua spesies yaitu *Streptomyces* sp.3 dan *Streptomyces* sp.5 mampu memproduksi enzim kitinase, sementara tiga spesies *Streptomyces* lainnya tidak memproduksi enzim kitinase. *Streptomyces* sp.3 memproduksi enzim kitinase dengan terbentuknya zona bening sebesar $1,85 \pm 0,07$ cm dan pada *Streptomyces* sp.5 terbentuk zona bening sebesar $0,65 \pm 0,14$ cm .

DAFTAR PUSTAKA

Bhattacharya S., S. Chakraborty, and A. Das. 2012. Optimization of Process Parameters for Chitinase Production by a Marine Isolate of *Serratia marcescens*. *J. Pharm. Biol. Sci*, 2(2):8-20.

- Dewi, I.M. 2008. Isolasi Bakteri dan Uji Aktifitas Kitinase Thermofilik Kasar dari Sumber Air Panas Tinggi Raja, Simalungun, Sumatera Utara (*Tesis*), Medan: Pascasarjana Universitas Sumatera Utara.
- Natsir, H., D. Tjandra, M.T. Suhartono, J.K. Hwang, dan Y.R. Pyun. 1999. Eksplorasi Mikroba Asidofilik Penghasil Enzim Kitinase Asal Kawah Kamojang Jawa Barat, Prosiding II Seminar Hasil-Hasil Penelitian Bidang Ilmu Hayati Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati Bogor
- Gohel V, A. Singh, M. Vimal, P. Ashwini, and H.S. Chhatpar. 2006. Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganisms. *African J Biotech*, 5 (2): 54-72.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Itoi, S., Y. Kanomata, Y. Koyama, K. Kadokura, S. Uchida, T. Nishio, and H. Sugito. 2007. Identification of a Novel Endochitinase from a Marine Bacterium *Vinrio proteolyticus* strain No.442. *J. Biochemica et Biophysica Acta*. 1774 : 1099-1107
- Lechevalier, H.A. and S.A. Waksman. 1973. *Guide to the Classification and Identification of the Actinomycetes and Their Antibiotics*. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Matsumoto, Y., C. Saucedo, G. Revah, and S.K. Shirai. 2006. Process Biochemistry. *J. Fac. Agr*, 39(6):665-671.
- Narayana, K., and M. Vijayalakshmi. 2009. Chitinase Production by *Streptomyces* sp. ANU 6277. *J. Microbial*, 40:725-733.
- Okazaki, K., T. Abe, K. Saruwatari, F. Kato, K. Maruyama and K. Tagawa. 1995. Purification and properties of mycodextranase from *Streptomyces* sp. J-13-3. *Biosci Biotechnol Biochem*, 56:1-5.
- Rostinawati, T. 2008. Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Kitinase dari Air Laut di Perairan Pantai Pondok Bali (*penelitian mandiri*). Jatinangor: Universitas Padjadjaran.
- Soeka, Y.S. 2015. Karakterisasi Enzim Kitinase dan Identifikasi Isolat Aktinomisetes KRC 21.D berasal dari Kebun Raya Cibodas. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 1(5): 1156-1161
- Sowmya, B., D. Gomathi, M. Kalaiselvi, G. Ravikumar, C. Arulraj, and C. Uma. 2012. Production and purification of chitinase by *Streptomyces* sp. from soil. *J Adv Sci Res*, 3(3): 25-29.
- Suryadi, Y., T.P. Priyatno, D.N. Susilowati., I.M. Samudra., N. Yudhistira., dan E.D. Purwakusumah. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Kitinase asal *Bacillus cereus* 11 UJ. *Jurnal Biologi Indonesia*. 9(1).51-62
- Wang, S.L., and W.T. Chang. 1997. Purification and Characterization of Two Bifunctional Chitinase/Lysozimes Extracellularly Produce by *Pseudomonas aeruginosa* K-187 in a Shrimp and Crab Shell Powder Medium. *J. Appl. Environ. Microbiol*. 63:380-386.
- Wijaya, S. 2002. Isolasi Kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzarium*. *Ilmu Dasar*, 3(1): 30-35.
- Wu, M.L., Y.C. Chuang, J.P. Chen, C.S. Chen, and M.C. Chang. 2001. Identification & Characterization of the Three Chitin-Binding Domains within the Multidomain Chitinase Chi92 from *Aeromonas hydrophila* jp 101. *J. Appl. Env. Microbiol*. 67: 5100-5106.