



KARAKTERISTIK DAN SIFAT KINETIKA ENZIM KITINASE ASAL JAMUR ENTOMOPATOGEN *Beauveria bassiana*

Characteristics and Kinetics of Chitinase Enzyme from Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*

Nunung Eni Elawati*, Sri Pujiyanto, Endang Kusdiyantini

Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedharto, SH, Tembalang, Semarang 50275, Indonesia

*E-mail: nununganie@gmail.com

ABSTRACT

Beauveria bassiana is one of the entomopathogenic fungi that produces chitinase when infecting the host. Chitinase is widely used as biocontrol agents because it can degrade chitin into an environmentally friendly product. This study aims to characterize and test the kinetics of chitinase from *B. bassiana*. This characterization includes determination of pH and optimum temperature, enzyme stability and enzyme kinetics test by determining K_m and V_{max} value with Lineweaver-Burk equations. The result of experiment showed that the chitinase *B. bassiana* had pH and optimum temperature of 5 and 40°C respectively. This enzyme was stable until 90 minutes incubation at 40°C. The K_m and V_{max} values were 0.181 mg/L and 0.022 mg/L.sec respectively. The K_m value is higher than V_{max} , which means the affinity of the enzyme to the lower substrate requiring high substrate concentration to increase the reaction rate. It can be concluded that the chitinase activity of *B. bassiana* is still low.

Keywords: *Beauveria bassiana*, characteristics and kinetics, chitinase enzyme, entomopathogenic, Lineweaver-Burk

ABSTRAK

Beauveria bassiana merupakan salah satu jamur entomopatogen yang memproduksi kitinase saat menginfeksi inangnya. Enzim kitinase saat ini banyak digunakan sebagai agen biokontrol karena dapat mendegradasi kitin menjadi produk yang ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi dan menguji kinetika enzim kitinase asal jamur *B. bassiana*. Metode yang digunakan dalam karakterisasi ini mencakup penentuan pH dan suhu optimum, kestabilan enzim pada suhu optimumnya, dan uji kinetika enzim yang mencakup penentuan nilai K_m dan V_{maks} dengan persamaan *Lineweaver-Burk*. Hasil penelitian karakterisasi menunjukkan bahwa enzim kitinase *B. bassiana* mempunyai pH dan suhu optimum masing-masing 5 dan 40°C. Enzim ini stabil sampai pada 90 menit inkubasi pada suhu 40°C. Nilai K_m diperoleh 0,181 mg/L dan V_{maks} sebesar 0,022 mg/L.detik. Nilai K_m lebih tinggi daripada V_{maks} , yang artinya afinitas enzim terhadap substrat rendah sehingga membutuhkan konsentrasi substrat yang tinggi untuk meningkatkan kecepatan reaksi, maka dapat disimpulkan bahwa aktivitas kitinase dari *B. bassiana* masih tergolong rendah.

Kata kunci: *Beauveria bassiana*, entomopatogen, enzim kitinase, karakteristik dan kinetik, *Lineweaver-Burk*

PENDAHULUAN

Kitinase merupakan salah satu enzim yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Kitinase mampu menghidrolisis ikatan β -1,4-asetamido-2-deoksi-D-glikosida pada kitin dan oligomer kitin (Jung dan Park 2014). Enzim kitinase saat ini banyak digunakan sebagai agen biokontrol karena dapat mendegradasi kitin menjadi produk yang ramah lingkungan dan dapat digunakan dalam bidang kesehatan, pangan, industri dan lain-lain (Pratiwi et al. 2015). Peranan enzim kitinase yang sangat prospektif terhadap kehidupan masyarakat banyak mendorong ilmuwan dan peneliti melakukan eksplorasi mikroorganisme kitinolitik, yaitu mikroorganisme yang dapat mendegradasi kitin dengan menggunakan enzim kitinase.

Enzim kitinase dihasilkan oleh bakteri, fungi, tanaman, dan hewan (Nguyen et al. 2015). Salah satu mikroorganisme penghasil kitinase berasal dari jamur yaitu *Beauveria bassiana* (de Carolina Sanchez-Perez et al. 2014). Jamur ini sejak lama diketahui memiliki potensi sebagai agen pengendali hayati yang dapat mengendalikan populasi serangga hama, sehingga banyak dikembangkan sebagai agensia hayati dalam bidang pertanian (Suryadi et al. 2013). *B. bassiana* dalam menginfeksi serangga dengan menembus kutikula inangnya dengan cara mensekresikan kitinase untuk mendegradasi komponen utama dari kutikula dan dilanjutkan dengan penetrasi hifa (de Carolina Sanchez-Perez et al. 2014).

Berbagai organisme kitinolitik dapat menghasilkan beragam jenis kitinase dengan karakteristik dan spesifitas terhadap substrat yang bervariasi, oleh karena itu perlu pengujian tentang karakteristik kitinase asal *B. bassiana* serta kinetika enzimnya agar saat aplikasi di lapangan dapat optimal. Tujuan dari penelitian ini adalah mengkarakterisasi dan menguji kinetika enzim kitinase asal *B. bassiana*.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Jamur *B. bassiana*, Kitin, Potato Dextrose Agar (PDA), bacto agar, HCl pekat, NaOH, NaCl, NH_4Cl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 , CaCl_2 ,

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, buffer sitrat pH 4 & 5, DNS, buffer fosfat pH 6-8, buffer glisin-NaOH pH 9, yeast extract.

Penyiapan jamur *B. bassiana*

Jamur *B. bassiana* yang digunakan adalah hasil isolasi dari serangga *Helopeltis antonii*, yang telah terinfeksi *B. bassiana* pasca aplikasi di Perkebunan Kakao Temanggung, kemudian ditumbuhkan pada medium PDA. Peremajaan dilakukan dengan mengambil sebagian kecil area agar yang telah ditumbuhi oleh *B. bassiana* selanjutnya diinokulasikan pada stok agar miring. Tabung reaksi diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari.

Produksi enzim kitinase

Dua ose kultur jamur *B. bassiana* diinokulasikan di dalam medium kitin cair yang mengandung 125 mL koloidal kitin 0,3%, 0,65 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1,5 g KH_2PO_4 , 0,25 g NaCl, 0,5 g NH_4Cl , 0,12 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 0,005 g CaCl_2 . Kultur diinkubasi selama 5 hari di dalam inkubator bergoyang (120 rpm) pada suhu ruang. Sebanyak 10 mL kultur jamur *B. bassiana* (+5.000 spora/mL) dipipet dan diinokulasikan ke dalam 1.000 mL medium kitin cair dengan teknik aseptik. Kultur diinkubasi di dalam inkubator bergoyang pada suhu ruang selama 5 hari. Kultur disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang dihasilkan adalah ekstrak enzim kitinase (Suryadi et al. 2013).

Pengujian aktivitas kitinase

Penentuan aktivitas enzim dilakukan dengan metode Ueda dan Arai (1992), dengan membuat sampel 1 mL 0,3 % larutan koloid kitin (substrat) ditambah 2 mL 0,2 M buffer fosfat pH 7 dan 1 mL supernatan kitinase (enzim) dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Kontrol dibuat dengan komponen sama seperti sampel namun sebelum inkubasi diinaktivasi terlebih dahulu pada suhu 100°C selama 10 menit. Sampel dan kontrol kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada λ 420 nm. Aktivitas kitinase ditentukan secara turbidimetri. Satu unit aktivitas kitinase didefinisikan sebagai jumlah kitinase yang menyebabkan pengurangan absorbansi sebesar 0,001 campuran reaksi per menit.

Unit aktivitas kitinase dinyatakan dengan rumus:

$$(U/mL) = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{0,001} \times \frac{1}{60}$$

Keterangan

Abs kontrol: absorbansi kontrol (substrat + enzim yang diinaktivasi)

Abs sampel: absorbansi sampel (substrat + enzim yang tidak diinaktivasi)

Karakterisasi enzim kitinase

Karakterisasi enzim dilakukan terhadap: suhu dan pH optimum, stabilitas enzim pada suhu optimalnya dan kinetika enzim.

Penetapan pH optimum

Penetapan pH optimum dilakukan dengan cara mereaksikan enzim dengan substrat koloid kitin 0,5% pada suhu 37°C selama 30 menit pada berbagai kondisi pH larutan buffer 4 sampai 9. Buffer pH 4 dan 5 dibuat dari buffer sitrat fosfat, pH 6-8 dari buffer fosfat, dan buffer pH 9 dibuat dari buffer glisin-NaOH. Konsentrasi buffer yang digunakan adalah 50 mM.

Penetapan suhu optimum

Penetapan suhu optimum dilakukan dengan cara menginkubasi sistem reaksi enzimatik pada rentang suhu uji (25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60°C) selama 30 menit. Sedangkan pH yang digunakan adalah hasil pengujian pH optimum.

Penetapan waktu inkubasi optimum

Penetapan waktu inkubasi optimum dilakukan dengan mereaksikan enzim pada rentang waktu inkubasi 15, 30, 60, 120, 150 menit. Inkubasi dilakukan pada buffer pH optimal dan suhu optimal.

Studi kinetika enzim

Studi kinetika enzim dilakukan dengan mereaksikan enzim, buffer fosfat pH 7 dan substrat kitin dari konsentrasi 0,1 – 1,0% dengan interval 0,2% dalam volume reaksi 600 µL. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Aktivitas enzim kitinase dilakukan dengan menghubungkan konsentrasi substrat dengan konsentrasi N-asetil-D-glukosamin yang diperoleh dari kurva standar N-asetil-D-glukosamin sehingga didapatkan nilai

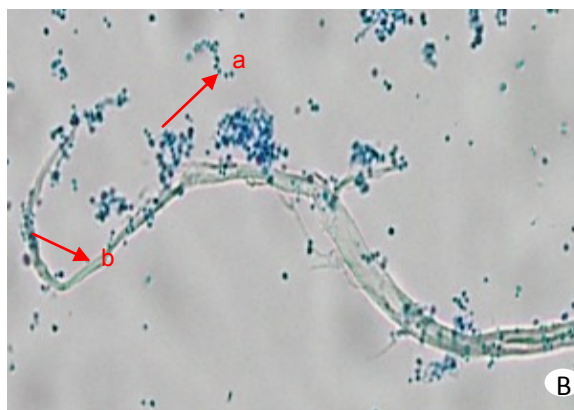
kecepatan. Nilai K_m dan V_{maks} ditentukan berdasarkan persamaan *Lineweaver-Burk* yang merupakan grafik hubungan antara $1/[S]$ dan $1/V$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil kultivasi dan pertumbuhan jamur

Isolasi *B. bassiana* dilakukan pada medium PDA yang diinkubasi selama 7 hari. Hasil pengamatan morfologi *B. bassiana* disajikan pada Gambar 1.

Biakan *B. bassiana* pada medium PDA mempunyai miselia dan konidia berwarna putih. Konidium dihasilkan oleh biakan yang telah bersporulasi yang berbentuk bulat, yang membentuk kumpulan seperti tepung. Konidia diproduksi di atas konidiofor yang berbentuk seperti botol. Menurut Kulu et al.



Gambar 1. Morfologi *B. bassiana*. (A) pertumbuhan *B. bassiana* pada medium PDA inkubasi 5 hari. (B) struktur mikroskopis *B. bassiana* perbesaran 40x10. a: konidia, b: hifa.

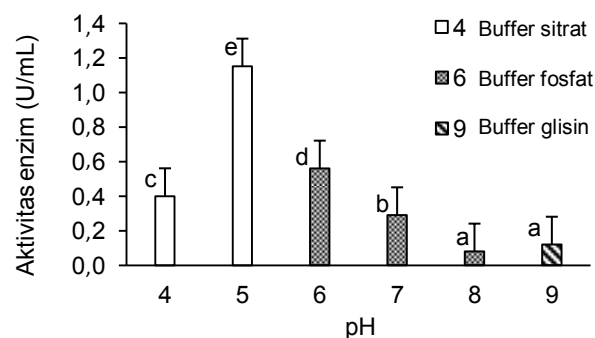
(2015), ciri-ciri *B. bassiana* secara morfologi koloni berwarna putih, tekstur lembut seperti serbuk. Karakter mikroskopis *B. bassiana* memiliki miselium yang bersekat dan berwarna putih, konidiofor bercabang dan berpola zig-zag. Spora berbentuk bulat, bening (hialin), bersel satu tanpa sekat. Spora muncul dari setiap percabangan konidiofor.

Pengaruh pH

Derajat keasaman (pH) menjadi faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim (Purkan et al. 2016). Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim dapat dilihat pada Gambar 2.

Aktivitas maksimum enzim kitinase dicapai pada buffer sitrat fosfat pH 5 karena menunjukkan absorbansi yang terbesar dibanding yang lain dengan aktivitas enzim 1,15 (U/mL). Hasil ini sejalan dengan yang dikemukakan oleh Karthik et al. (2014), secara umum jamur bekerja pada pH asam untuk memproduksi kitinase yaitu dibawah pH 6. Lebih lanjut penelitian oleh Wang et al. (2015) melaporkan bahwa enzim kitinase stabil pada pH 5 dengan aktivitas enzim residu sebesar 70%. Aktivitas kitinase yang tinggi pada pH optimum disebabkan oleh terjadinya ionisasi asam-asam amino pada sisi aktif enzim, sehingga terjadi interaksi yang optimum antara enzim dengan substrat (Rahmawati 2016).

Aktivitas kitinase setelah pH optimum mengalami penurunan, hal ini disebabkan adanya perubahan muatan ion pada rantai samping yang terionisasi sehingga mengakibatkan terjadinya denaturasi enzim yang disertai hilangnya aktivitas katalitik enzim. Adanya perubahan struktur tersier menyebabkan kelompok hidrofobik kontak dengan air sehingga solubilitas enzim



Gambar 2. Grafik pengaruh berbagai pH terhadap aktivitas kitinase

menjadi berkurang yang mengakibatkan turunnya aktivitas enzim secara bertahap (Suryadi et al. 2013).

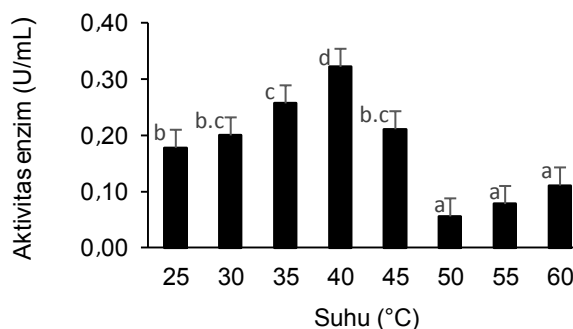
Hasil analisis statistik ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan pH berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap aktivitas enzim kitinase dari *B. bassiana*. Setelah dilakukan uji Duncan dengan taraf nyata α 0,05 terhadap pH menunjukkan bahwa pada pH 5 aktivitas kitinase berbeda nyata terhadap perlakuan pH lain yang diujikan. Hal ini dibuktikan dengan nilai *p-value* $> 0,05$.

Pengaruh suhu

Setiap enzim memiliki kisaran suhu tertentu untuk mencapai aktivitas yang optimum. Rentang suhu yang diujikan dimulai dari 25°C sampai 60°C selama 30 menit. Hasil pengaruh suhu terhadap aktivitas kitinase disajikan pada Gambar 3.

Aktivitas kitinase mengalami penurunan setelah mendapatkan kondisi suhu optimum yaitu suhu 40°C. Hal ini terjadi karena enzim merupakan jenis protein yang dapat mengalami denaturasi pada suhu tinggi. Denaturasi ini menyebabkan perubahan pada konformasi enzim akibat adanya perenggangan ikatan hidrogen yang bersifat reversibel sehingga dapat mempengaruhi sisi aktif enzim untuk berikatan dengan substrat (Haedar et al. 2017). Penelitian Wang et al. (2015) melaporkan bahwa kisaran suhu optimal untuk aktivitas kitinase kisaran 40 – 85°C.

Aktivitas enzim kitinase menurun setelah suhu 40°C, sampai dengan suhu 50°C kemudian pada suhu 55°C kembali meningkat sedikit, hal ini diduga adanya peningkatan suhu inaktivasi yang meningkat, sehingga aktivitasnya masih terlihat



Gambar 3. Grafik pengaruh suhu terhadap aktivitas kitinase

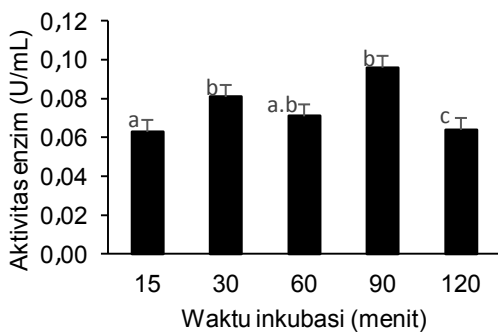
meningkat. Meskipun demikian, berdasarkan pengujian statistik dengan Duncan, pada suhu 50°C, 55°C, dan 60°C tidak memiliki perbedaan yang nyata, sehingga dapat diartikan perlakuan ketiga suhu tersebut sama dan tidak berpengaruh terhadap naik turunnya aktivitas enzim.

Analisis statistik ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan suhu berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap aktivitas enzim kitinase dari *B. bassiana*. Setelah dilakukan uji Duncan dengan taraf nyata $\alpha 0,05$ terhadap suhu, menunjukkan bahwa pada suhu 40°C aktivitas kitinase berbeda nyata terhadap perlakuan suhu lain yang diujikan. Hal ini dibuktikan dengan nilai $p\text{-value} > 0,05$.

Pengaruh waktu inkubasi

Semua enzim memiliki kemampuan untuk mempertahankan stabilitas sisi aktifnya dalam waktu tertentu. Kemampuan ini bersifat spesifik dan berbeda antara enzim satu dengan enzim yang lain (Noviendri et al. 2008). Pengujian stabilitas waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim kitinase dilakukan dari rentang waktu inkubasi 15 hingga 120 menit dengan pH 5 dan suhu 40°C yang merupakan pH dan suhu optimum. Hasil uji stabilitas enzim kitinase terhadap waktu inkubasi disajikan pada Gambar 4.

Aktivitas enzim kitinase tertinggi dicapai pada waktu inkubasi 90 menit dengan aktivitas enzim kitinase sebesar 0,096 U/mL. Aktivitas enzim meningkat sejak 15 menit inkubasi hingga mencapai aktivitas optimum pada 90 menit inkubasi. Aktivitas kitinase menurun setelah waktu inkubasi optimum yaitu pada waktu inkubasi 120 menit dengan aktivitas enzim sebesar 0,064 U/mL. Waktu inkubasi berpengaruh terhadap jumlah produk hidrolisis enzim



Gambar 4. Grafik pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas kitinase

yang dihasilkan.

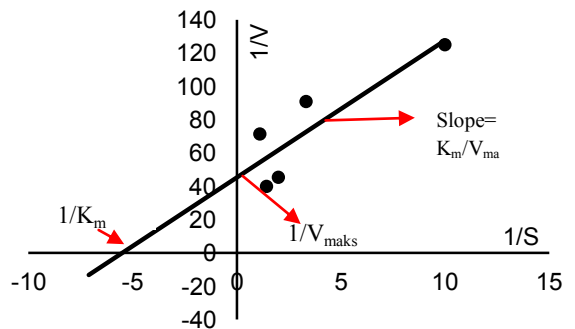
Berdasarkan analisis statistik ANOVA tampak bahwa perlakuan waktu inkubasi berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap aktivitas kitinase dari *B. bassiana*. Uji Duncan dengan taraf nyata $\alpha 0,05$ menunjukkan bahwa pada waktu inkubasi 90 menit aktivitas kitinase berbeda nyata terhadap perlakuan waktu inkubasi lain yang diujikan. Hal ini dibuktikan dengan nilai $p\text{-value} > 0,05$.

Kinetika enzim

Aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi substrat yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi substrat yang digunakan, maka semakin tinggi aktivitas enzim atau semakin tinggi kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim tersebut. Namun pada suatu titik tertentu, yaitu kecepatan maksimum (V_{maks}), penambahan konsentrasi substrat dalam jumlah tertentu tidak akan dapat meningkatkan kecepatan reaksi enzim, melainkan dapat menurunkan aktivitas enzim atau kecepatan reaksi. Dalam hal ini, substrat yang ditambahkan tersebut akan menjadi inhibitor dalam reaksi enzimatik (Noviendri et al. 2008).

Kinetika enzim dapat diketahui dengan menentukan nilai K_m dan V_{maks} . Penelitian ini menggunakan persamaan *Lineweaver-Burk* untuk menentukan nilai K_m dan V_{maks} . Penggunaan persamaan *Lineweaver-Burk* memiliki keuntungan karena lebih mudah secara matematis. Hasil penentuan kinetika enzim kitinase disajikan dalam bentuk kurva *double reciprocal* Lineweaver-Burk pada Gambar 5.

Penentuan nilai K_m dan V_{maks} diperoleh dari persamaan linier $y = 8,216x + 45,194$. Persamaan ini dihitung berdasarkan pengukuran konsentrasi N-asetilglukosamin



Gambar 5. Kurva *double reciprocal* Lineweaver-Burk

(GlcNAc) sebagai produk hidrolisis substrat koloid kitin pada berbagai konsentrasi selama waktu inkubasi 30 menit. Berdasarkan perhitungan persamaan tersebut diperoleh nilai $V_{maks}=0,022$ mg/L.detik dan nilai $K_m=0,181$ mg/L. Nilai V_{maks} 0,022 mg/L didefinisikan sebagai suatu kondisi optimum enzim kitinase *B. bassiana* dapat mengubah substrat koloid kitin menjadi monomer N-asetil-D-glukosamin sebesar 0,022 mg/L setiap detiknya. Nilai K_m yang dihasilkan lebih tinggi daripada V_{maks} , hal ini berarti afinitas enzim terhadap substrat rendah sehingga membutuhkan konsentrasi substrat yang tinggi untuk meningkatkan kecepatan reaksi. Hasil penelitian di Cina (Zhang et al. 2004) melaporkan produksi kitinase dari *B. bassiana* isolat BB 174 pada kondisi formulasi padat mempunyai nilai K_m 0,52 mg/mL dan V_{maks} sebesar 0,70 mg/L.detik. Penelitian lain oleh Nguyen et al. (2015) melaporkan nilai K_m dan V_{maks} kitinase dari *Lecanicillium lecanii* 43H masing-masing sebesar 0,82 mg/mL dan 4,51 U/mg, kemudian Ma et al. (2012) melaporkan kitinase dari *Gliocladium catenulatum* HL11 mempunyai nilai K_m 0,82 mg/mL dan V_{maks} 2,832 mg/mL. Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya, kinetika enzim yang dihasilkan oleh *B. bassiana* pada penelitian ini lebih rendah. Hasil aktivitas kitinase yang didapatkan tidak sesuai dengan harapan. Hal ini dimungkinkan karena beberapa faktor antara lain pH, suhu, konsentrasi substrat, dan komponen medium yang kurang sesuai dengan jenis enzim kitinase yang dihasilkan oleh *B. bassiana* pada penelitian ini, mengingat jenis enzim kitinase yang diproduksi oleh jamur terdapat 3 subgrup yaitu grup A, B, C masing-masing memiliki spesifitas yang berbeda (Karthik et al. 2014).

KESIMPULAN

Enzim kitinase yang dihasilkan oleh *B. bassiana* mempunyai suhu optimum 40°C dan pH optimum 5 dalam buffer sitrat fosfat. Enzim ini stabil pada waktu inkubasi 90 menit. Enzim kitinase memiliki nilai K_m sebesar 0,181 mg/L dan V_{maks} sebesar 0,022 mg/L.detik. Nilai K_m lebih tinggi daripada V_{maks} , hal ini berarti afinitas enzim terhadap substrat rendah sehingga membutuhkan

konsentrasi substrat yang tinggi untuk meningkatkan kecepatan reaksi.

DAFTAR PUSTAKA

- de Carolina Sanchez-Perez L, Barranco-Florido JE, Rodriguez-Navarro S, Cervantes-Mayagoitia JF, Ramos-Lopez MA (2014) Enzymes of entomopathogenic fungi, advances and insights. *Adv Enzyme Res* 2: 65-76. Doi: 10.4236/aer.2014.22007
- Haedar N, Natsir H, Fahrudin, Aryanti W (2017) Produksi dan karakterisasi enzim kitinase dari bakteri kitinolitik asal kerang *Anadara granosa*. *J Ilmu Alam Ling* 8: 14-21.
- Jung WJ, Park RD (2014) Bioproduction of chitooligosaccharides: Present and perspectives. *Mar Drugs* 12:5328-5356. Doi: 10.3390/md12115328
- Karthik N, Akanksha K, Binod P, Pandey A (2014) Production, purification and properties of fungal chitinase – A Review. *Indian J Exp Biol* 52: 1025-1035.
- Kulu IP, Abadi AL, Afandhi A, Nooraidawati (2015) Morphological and molecular identification of *Beauveria bassiana* as entomopathogen agent from Central Kalimantan peatland, Indonesia. *Int J ChemTech Res* 8:2079-2084.
- Ma GZ, Gao HL, Zhang YH, Li SD, Xie BY, Wu SJ (2012) Purification and characterization of chitinase from *Gliocladium catenulatum* strain HL-1-1. *Afr J Microbiol Res* 6: 4377–4383. Doi: 10.5897/AJMR12.605
- Nguyen HQ, Quyen DT, Nguyen SLT, Vu VH (2015) An extracellular antifungal chitinase from *Lecanicillium lecanii*: purification, properties, and application in biocontrol against plant pathogenic fungi. *Turk J Biol* 39:6-14. Doi: 10.3906/biy-1402-28
- Noviendri D, Fawzya YN, Chasanah E (2008) Karakteristik dan sifat kinetika enzim kitinase dari isolat bakteri T5a1 asal terasi. *J Pascapanen Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* 3:123-129.
- Pratiwi RS, Susanto TE, Wardani YAK, Sutrisno A (2015) Enzim kitinase dan aplikasi di bidang industri: Kajian Pustaka. *J Pangan Agroindustri* 3: 878-887.

- Purkan P, Baktir A, Sayyidah AR (2016) Produksi Enzim kitinase dari *Aspergillus niger* menggunakan limbah cangkang rajungan sebagai induser. J Kimia Riset 1: 34 – 41. Doi: 10.20473/jkr.v1i1.2440
- Rahmawati H, Purnomo AJ, Umniyatie S, Pramiadi D, Sari N (2016) Identification and characterization of chitinase enzyme producing bacteria from bat guano and its potential to inhibit the growth of fungus *Colletotrichum sp.* cause anthracnose on the chili by *in vitro*. Int J Adv Agricultural & Environmental Engg 3: 249-254. Doi: 10.15242/IJAAEE.U0516208
- Suryadi Y, Priyatno TP, Susilowati DN, Samudra IM, Yudhistira N, Purwakusumah ED (2013) Isolasi dan karakterisasi kitinase asal *Bacillus cereus* 11 UJ. J Biol Indon 9: 51-62. Doi: 10.14203/jbi.v9i1.146
- Ueda M, Arai M (1992) Purification and some properties of chitinase from *Aeromonas sp.* No. 10S-24. Biosci Biotech Biochem 56: 460-464. Doi: 10.1271/bbb.56.460
- Wang J, Zhang J, Song F, Gui T, Xiang J (2015) Purification and characterization of chitinases from ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda*. Molecules 20:1955-1967. Doi: 10.3390/molecules20021955
- Zhang J, Cai J, Wu K, Jin S, Pan R, Fan M (2004) Production and properties of chitinase from *Beauveria bassiana* Bb174 in solid state fermentation. Chin J Appl Ecol 5: 863-866.