

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI GOLONGAN BAKTERI
KITINOLITIK PADA LIMBAH UDANG VANAME**
(Litopenaeus vannamei)

Maria T. L. Ruma, Refli, Ernestus Suwardi,

Program Studi Biologi FST Undana

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan bakteri kitinolitik yang diisolasi dari limbah udang dan mengetahui karakteristik isolat golongan bakteri kitinolitik tersebut serta memperoleh isolat yang mempunyai aktivitas kitinase tertinggi. Metode yang digunakan adalah deskriptif. Bakteri kitinolitik yang tumbuh dalam media agar kitin dikarakterisasi dan dianalisis menggunakan statistik deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diperoleh 5 isolat golongan bakteri kitinolitik yang diisolasi dari limbah udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Karakteristik kelima isolat golongan bakteri kitinolitik tersebut memiliki kesamaan bentuk koloni yaitu bulat dan sifat gram bakterinya negatif. Sedangkan warna koloni, elevasi, tepi koloni dan bentuk sel bakteri berbeda. Isolat yang mempunyai aktivitas kitinase tertinggi yaitu isolat BK3 sebesar 2,95 mm.

Kata kunci: bakteri kitinolitik, Isolat, koloni

Hasil Penelitian

Indonesia merupakan negara kepulauan yang kaya akan sumber daya alam perairan dan kelautan. Salah satu hasil laut yang melimpah yaitu udang dan menjadi komoditas unggulan ekspor Indonesia (Dompeipen, *dkk* 2016). Sebagai komoditas unggulan, budidaya udang menjadi penting untuk dilakukan, salah satunya yaitu kegiatan budidaya udang di Kabupaten Kupang. Jenis udang yang paling banyak dibudidayakan di Kabupaten Kupang yaitu udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) karena udang ini memiliki tingkat ketahanan hidup yang tinggi dan produktivitasnya tinggi (Supono, 2015). Data Badan Pusat Statistik Kabupaten Kupang (2018) mengemukakan bahwa produksi udang vaname tahun 2017 mencapai 16,5 ton. Tingginya produksi udang vaname ini, memungkinkan terpenuhinya kebutuhan udang masyarakat.

Pengolahan udang baik untuk ekspor, konsumsi maupun keperluan industri biasanya hanya berupa daging yang telah dipisahkan dari bagian kepala, kulit dan ekor udang, sehingga dari hasil produksi tersebut akan menghasilkan limbah udang. Darmawan *dkk*, (2007) mengemukakan bahwa limbah udang yang dihasilkan dari proses industri berkisar antara 30–75% dari berat total udang. Limbah udang mudah sekali busuk sehingga dapat menimbulkan pencemaran lingkungan. Salah satu komponen penyusun limbah udang yaitu kitin yaitu sebesar 50% (Dompeipen, *dkk* 2016).

Kitin adalah suatu polisakarida struktural yang tidak beracun dan mudah terdegradasi melalui pemanfaatan enzim

pendegradasi kitin yaitu kitinase (Inbar dan Chet, 1991). Kitinase sangat potensial digunakan sebagai agen pengendali hayati terhadap jamur patogen maupun serangan hama. Kitinase berpotensi sebagai agen bioinsektisida dalam mengendalikan larva nyamuk *Aedes aegypti* L dengan hasil uji menyebabkan kematian pada larva nyamuk sebesar 97% dalam waktu 108 jam (Pujiyanto *dkk*, 2008). Aplikasi lain enzim kitinase dalam uji sifat antagonis terhadap pertumbuhan jamur *Phytophthora palmivora* menunjukkan nilai signifikansi $<0,05$ (Agustin *dkk*, 2017).

Kitinase diproduksi oleh berbagai organisme, diantaranya yaitu bakteri kitinolitik. Bakteri kitinolitik dapat menghidrolisis kitin menjadi turunannya secara enzimatik dengan memanfaatkan kitin sebagai sumber karbon. Limbah udang yang kaya akan kitin, menjadi habitat bagi bakteri kitinolitik untuk memproduksi makanan bagi koloninya. Bakteri kitinolitik dapat diperoleh dengan cara menumbuhkan pada media yang mengandung kitin. Keberadaan bakteri kitinolitik ditentukan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Karakteristik bakteri kitinolitik dapat diketahui melalui pengamatan morfologis sehingga mempermudah proses identifikasi bakteri (Lay, 1994).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi serta menguji aktivitas kitinase dari golongan bakteri kitinolitik yang diisolasi pada limbah udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*).

MATERI DAN METODE

Pembuatan koloidal kitin

Dua puluh gram serbuk kitin komersial dimasukan dalam erlenmeyer yang telah berisi 400 mL HCl 1 M, kemudian *distirer* selama 2 jam pada suhu 60°C lalu didiamkan pada suhu 4°C selama 24 jam. Larutan disaring dan filtrat yang diperoleh ditambahkan 200 mL aquades dingin dan pH diatur menjadi 5 dengan penambahan NaOH 10 M, kemudian disentrifugasi pada 8000 rpm selama 15 menit. Endapan dibersihkan dengan aquades lalu disentrifugasi lagi hingga pelet membentuk warna putih kecoklatan yang merupakan koloidal kitin. Koloidal kitin disimpan pada suhu dingin (Nasran *dkk*, 2003).

Isolasi dan Pemurnian bakteri kitinolitik

Satu gram sampel limbah udang dimasukan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan NaCl fisiologis steril. Kemudian dilakukan pengenceran 10⁻³. Sebanyak 0,1 ml larutan hasil pengenceran dimasukan ke dalam cawan petri berisi medium agar kitin (2 gr koloidal kitin, 0,05 gr *yeast extract*, 3 gr NaCl, 0,7 gr (NH₄)₂SO₄, 0,01 gr MgSO₄ · 7H₂O, 0,1 gr K₂HPO₄, 2 gr agar dan 100 ml aquades) dan diratakan menggunakan *L Glass*. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Bakteri yang tumbuh dilakukan pemurnian untuk memperoleh isolat tunggal dengan ditumbuhkan dalam media agar kitin menggunakan metode gores lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Karakterisasi isolat bakteri

a. Pengamatan Morfologis

Pengamatan morfologis koloni meliputi warna, bentuk, elevasi dan tepian koloni pada media kitin.

b. Pewarnaan Gram

Isolat bakteri diambil menggunakan ose dan dioleskan dalam kaca objek steril yang telah berisi 1 tetes NaCl fisiologis 0,9 % kemudian diratakan dan dikeringkan di atas bunsen. Selanjutnya ditetesi dengan pewarna kristal violet, diratakan dan didiamkan selama 30 detik pada suhu kamar lalu dibilas menggunakan aquades dan dikeringkan. Kemudian ditetesi lugol secara meata dan didiamkan selama 30 detik lalu dibilas menggunakan aquades dan dikeringkan. Kaca objek dibilas dengan alkohol 95% dan dikeringkan lalu dibilas kembali dengan aquades dan dikeringkan. Kaca objek ditetesi safranin, diratakan dan didiamkan selama 30 detik, dibilas dengan aquades dan dikeringkan lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali (Cowan, 2004).

Uji Aktivitas Kitinase

Uji aktivitas kitinase bertujuan untuk mengukur kemampuan bakteri kitinolitik dalam mendegradasi koloidal kitin. Isolat bakteri kitinolitik ditumbuhkan pada media agar kitin yang telah ditambahkan indikator BCP (Bromcresol Purple) 0,1% lalu diinkubasi pada suhu 37°C. indikator BCP bertujuan untuk memperjelas pembentukan zona bening di sekitar koloni disertai dengan perubahan pH media yang ditandai dengan perubahan warna indikator BCP

yaitu dari warna kuning (pH asam) menjadi ungu (pH basa) yang menunjukkan adanya aktivitas kitinase. Diukur zona bening (warna ungu) di sekitar koloni bakteri dan dihitung indeks kitinolitiknya (Halim Dan Fabrico, 2018). Penentuan nilai indeks kitinolitik (Cody, 1989) diukur dengan rumus:

$$\text{Indeks Kitinolitik} = \frac{\text{diameter zona bening (mm)}}{\text{diameter koloni(mm)}}$$

Analisis Data

Data hasil pengamatan bakteri kitinolitik dianalisis menggunakan statistik deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

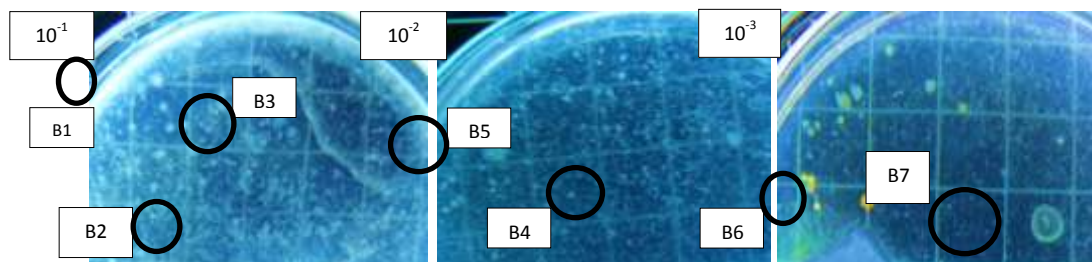
Isolasi dan Pemurnian Bakteri Kitinolitik

Isolasi bakteri kitinolitik dalam penelitian ini diperoleh dari limbah udang. Hasil isolasi bakteri kitinolitik dari limbah udang dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan bahwa terdapat 7 isolat bakteri yang diduga berbeda yang berhasil diisolasi dari limbah udang. Ketujuh isolat ini diberi kode B1-B7 berdasarkan perbedaan warna koloni dan ukuran koloni. Berdasarkan warna koloni, isolat B1, B2, B4 dan B5 memiliki warna koloni yang sama yaitu putih keruh. Adapun isolat B3 dan isolat B7 memiliki

warna koloni putih bening, sedangkan isolat B6 memiliki koloni berwarna kuning. Berdasarkan ukuran koloni, isolat B1, B3 dan B6 memiliki ukuran koloni sedang, isolat B2 memiliki ukuran koloni kecil, isolat B4 memiliki ukuran koloni titik, sedangkan isolat B5 dan B7 memiliki ukuran koloni besar. Tito (2014) mengemukakan bahwa bakteri kitinolitik yang diisolasi dari cangkang lobster memiliki warna putih susu, krem, coklat, putih keruh dan kuning. Menurut Heryastuti *dkk*, (2009) bakteri kitinolitik diisolasi dengan cara ditumbuhkan dalam medium buatan yang mengandung kitin dan diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu.

Isolat bakteri yang berhasil diisolasi dilakukan pemurnian dalam media agar kitin yang bertujuan untuk memperoleh isolat tunggal dari setiap jenis bakteri yang merupakan biakan murni (Lay, 1994). Pemurnian isolat bakteri dalam penelitian ini dilakukan 2 kali. Hasil pemurnian menunjukkan bahwa terdapat koloni bakteri yang memiliki kesamaan berdasarkan warna koloni, bentuk koloni, tepian koloni dan elevasi koloni. Isolat bakteri yang memiliki kesamaan antara lain isolat B3 dengan B7 dan isolat B2 dengan B4, sehingga dari hasil pengelompokan tersebut diperoleh 5 isolat bakteri dengan kode isolat antara BK1-BK5. Isolat B1=BK1, isolat B2 dan B4= BK2, isolat B3 dan B7= BK3, , isolat B5= BK4 dan isolat B6= BK5.



Gambar 1. Isolasi bakteri kitinolitik dari limbah udang.
(Keterangan: 10⁻¹, 10⁻² dan 10⁻³ adalah kode pengenceran. B1, B2, B3, B4, B5, B6 dan B7 adalah kode isolat bakteri).

Karakterisasi Isolat Bakteri

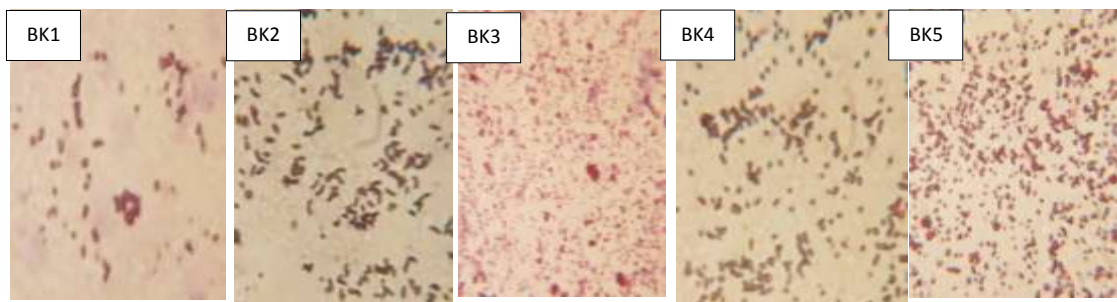
Lima isolat bakteri hasil pemurnian selanjutnya diidentifikasi berdasarkan karakteristik makroskopis dan mikroskopis. Hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis kelima isolat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Isolat Bakteri Kitinolitik yang Diisolasi dari Limbah Udang.

Isolat bakteri	Morfologi koloni				Morfologi sel	
	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	Gram	Bentuk
BK1	Bulat	Putih Keruh	Cembung	Berlekuk	Negatif	<i>Coccus</i>
BK2	Bulat	Putih keruh	Datar	Rata	Negatif	<i>Basil</i>
BK3	Bulat	Putih bening	Cembung	Bergelombang	Negatif	<i>Coccus</i>
BK4	Bulat	Putih keruh	Datar	Seperti benang	Negatif	<i>Coccus</i>
BK5	Bulat	Kuning	Datar	Rata	Negatif	<i>Coccus</i>

Kelima isolat bakteri memiliki koloni berbentuk bulat dan warna antara putih keruh, putih bening dan kuning. Koloni BK1 dan BK3 memiliki permukaan yang cembung sedangkan BK2, BK4 dan BK5 memiliki permukaan yang datar. Pada pengamatan tepi koloni, koloni BK2 dan BK5 memiliki tepian yang sama yaitu berbentuk rata, sedangkan koloni BK1 memiliki tepi yang berlekuk,

koloni BK3 memiliki tepi bergelombang dan koloni BK4 memiliki tepi seperti benang-benang. Hasil diperoleh berbeda dengan penelitian terdahulu oleh Setia dan bahwa bakteri kitinolitik dari limbah udang memiliki karakteristik koloni berbentuk bulat, elevasi cembung dan berwarna krem. Perbedaan ini diduga karena perbedaan kondisi lingkungan memungkinkan ditemukannya isolat berbeda.



Gambar 2. Pewarnaan gram kelima isolat bakteri yang diisolasi dari limbah udang.

Perbedaan penampakan morfologi koloni mengindikasikan bahwa setiap isolat berasal dari spesies yang berbeda. Namun, perbedaan pada kenampakan morfologi belum cukup untuk digunakan sebagai parameter identifikasi sehingga perlu melakukan pengamatan berbagai sifat biokimia dari setiap isolat tersebut. Sifat biokimia yang diamati merupakan ciri yang penting untuk proses identifikasi (Lay, 1994)

Selain pengamatan morfologi koloni, dilakukan juga pewarnaan gram untuk mengetahui sifat gram dan bentuk sel dari isolat bakteri. Berdasarkan data pada Tabel 1, kelima isolat memiliki sifat gram yang sama yaitu bersifat gram negatif yang ditunjukkan dengan kenampakan warna merah pada hasil pewarnaan gram. Pada pengamatan bentuk sel bakteri, isolat BK2 memiliki bentuk sel *basil* sedangkan empat isolat lainnya memiliki bentuk sel *coccus*. Fitri dan Yasmin (2011) mengemukakan bahwa sebagian besar isolat bakteri kitinolitik bersifat gram negatif dengan bentuk sel antara *basil* dan *coccus*. Agustin, dkk (2017) juga mengemukakan bahwa golongan bakteri kitinolitik dari limbah udang memiliki bentuk sel antara *coccus* dan *basil* dengan sifat gram antara negatif dan positif.

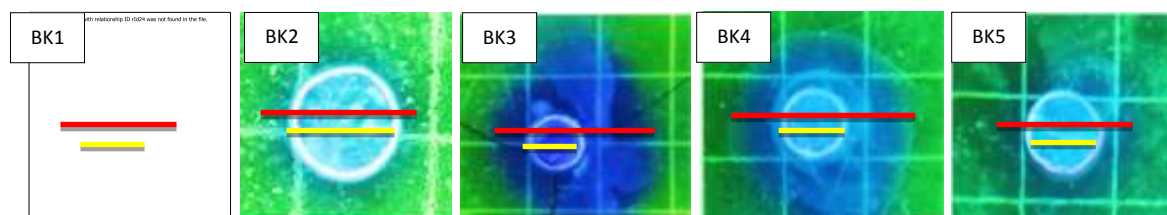
Hasil pewarnaan gram yang diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali dapat dilihat pada Gambar 2. Pewarnaan gram memungkinkan bakteri dikelompokkan berdasarkan kenampakan warna ungu dan warna merah yang menunjukkan sifat gram bakteri. Perbedaan warna pada bakteri gram positif dan gram negatif disebabkan karena perbedaan struktur dinding sel bakteri. Kelima isolat bakteri kitinolitik tergolong bakteri gram negatif karena bakteri ini memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipida yang tinggi sehingga tidak dapat mengikat zat warna kristal violet. Penambahan larutan aseton alkohol menyebabkan zat warna kristal violet dan lipida pada dinding sel bakteri menjadi terlarut. Lay (1994) menyatakan bahwa warna merah pada bakteri gram negatif saat pewarnaan gram disebabkan karena larutan aseton alkohol mampu melarutkan zat warna kristal violet dan mengikat zat warna safranin (warna merah), sedangkan warna ungu pada bakteri gram positif saat pewarnaan gram disebabkan karena dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan sehingga zat warna kristal violet tetap dipertahankan meskipun diberi larutan aseton alkohol.

Uji Aktivitas Kitinase

Uji aktivitas kitinase bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi kitin yang ditunjukkan dengan luas zona bening disekitar koloni. Zona bening dari masing-masing isolat dapat dilihat pada Gambar 3.

Keberadaan bakteri kitinolitik secara kualitatif ditentukan dengan adanya zona bening yang terbentuk disekitar koloni pada media agar kitin (Gohel *dkk* 2006). Zona bening pada media agar kitin dapat terbentuk apabila senyawa kitin yang terkandung dalam medium selektif tersebut terurai oleh bakteri kitinolitik. Keberadaan kitin dalam media akan menstimulir bakteri kitinolitik untuk mensekresikan enzim kitinase keluar sel sehingga dapat memecah polimer kitin menjadi monomernya.

Enzim kitinase yang disekresikan oleh bakteri kitinolitik ke dalam media agar kitin diikat oleh senyawa kitin, selanjutnya terjadi pemutusan ikatan glikosidik (ikatan β -14 homopolimer N-asetilglukosamin) pada kitin sehingga kitin terdegradasi menjadi monomer N-asetilglukosamin. Monomer ini dimanfaatkan sebagai sumber karbon dan nitrogen oleh bakteri kitinolitik. Degradasi kitin oleh enzim kitinase dan pemanfaatan N-asetilglukosamin oleh bakteri kitinolitik menyebabkan media agar kitin tampak jernih (Chen dan Lee, 1994). Hasil uji aktivitas kitinase masing-masing isolat bakteri kitinolitik dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 3. Zona bening yang terbentuk dari kelima isolat bakteri kitinolitik.

(Keterangan: — adalah diameter koloni dan — adalah diameter zona bening).

Tabel 2. Uji aktivitas kitinase dari kelima isolat bakteri kitinolitik.

Isolat bakteri	Diameter		Indeks kitinolitik
	Koloni (mm)	Zona bening (mm)	
BK1	10,3	15,6	1,60
BK2	8	12,12	1,51
BK3	8,3	24,5	2,95
BK4	9,1	22,6	2,48
BK5	9,8	15,25	1,55

Hasil Penelitian

Berdasarkan data diameter koloni menunjukkan adanya perbedaan ukuran koloni dari kelima isolat. Ukuran koloni ini berkaitan dengan pertumbuhan sel setiap isolat dalam media agar kitin. Rodriques, *dkk* (2006) mengemukakan bahwa pertumbuhan bakteri ditentukan oleh kemampuan sel bakteri dalam memanfaatkan nutrisi pada media. Isolat BK1 memiliki diameter koloni paling besar (10,3 mm) setelah diinkubasi selama 48 jam, diduga karena isolat ini lebih mampu memanfaatkan nutrisi pada media bila dibandingkan isolat BK2 yang memiliki diameter koloni paling kecil, yaitu 8 mm. Perbedaan kemampuan memanfaatkan nutrisi ini berhubungan dengan masa inkubasi yang dibutuhkan untuk merombak senyawa kitin setiap isolat berbeda-beda. Triana dan Soeka (2016) mengemukakan bahwa pertumbuhan tertinggi dari bakteri *Streptomyces macrosporeus* terjadi pada hari ketiga (72 jam). Herdyastuti, *dkk* (2009) mengemukakan bahwa pertumbuhan bakteri kitinolitik mencapai fase logaritma setelah diinkubasi selama 96 jam. Hoang *dkk* (2011) mengemukakan bahwa dekomposisi kitin pada kulit udang oleh *Streptomyces macrosporeus* membutuhkan waktu hingga 16 hari. Hal ini dikarenakan kitin merupakan polimer yang mempunyai jumlah molekul sangat besar dan tidak larut dalam air sehingga mikroba membutuhkan waktu yang cukup lama untuk mendegradasinya. (Herdyastuti, *dkk* 2009).

Zona bening yang terbentuk dari kelima isolat bakteri memiliki diameter yang berbeda-beda. Berdasarkan data pada tabel 2, Isolat BK3 memiliki diameter zona bening tertinggi yaitu sebesar 22,5

dan isolat dengan diameter zona bening terendah adalah isolat BK2 yaitu sebesar 12. Perbedaan ini disebabkan oleh perbedaan kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi kitin yang ditunjukkan dengan kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim kitinase. Lehninger (1994) menyatakan bahwa aktivitas suatu enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, konsentrasi substrat dan enzim, pH dan adanya aktivator atau inhibitor.

Kemampuan kitinolitik dari isolat bakteri dalam mendegradasi kitin dapat dilihat dari nilai indeks kitinolitik sebagai perbandingan antara diameter zona bening dengan diameter koloni. Berdasarkan data pada tabel 4, isolat bakteri yang memiliki nilai indeks kitinolitik tertinggi adalah isolat BK3 yaitu sebesar 2,95. Sedangkan isolat dengan nilai indeks kitinolitik terendah adalah isolat BK2 yaitu sebesar 1,51. Perbedaan nilai indeks kitinolitik dari setiap isolat diduga karena perbedaan gen yang mengkode enzim kitinase setiap isolat. Tronsmo dan Harman (1993) menyatakan bahwa produksi enzim kitinase ditentukan oleh gen yang mengkodennya pada setiap jenis bakteri.

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian ini, disimpulkan diperoleh 5 isolat bakteri kitinolitik yang diisolasi dari limbah udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Karakteristik kelima isolat golongan bakteri kitinolitik memiliki kesamaan bentuk koloni bulat, sifat gram negatif. Sedangkan warna koloni, elevasi, tepi koloni dan bentuk sel bakteri berbeda. Isolat yang mempunyai aktivitas kitinase tertinggi yaitu isolat B3 sebesar 2,95 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, D., Khikmah, Ulfia N., Isoni, Muhson dan Maulidiya, Anisa. 2017. Aktivitas Bakteri Kitinolitik dari Cangkang Perna viridis sebagai Antifungi Phytophthora palmivora Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*). *Jurnal Bionature*, Vol. 18, No. 2.
- Anonim. 2018. *Kabupaten Kupang Dalam Angka 2018*. Badan Pusat Statistik (BPS) Kabupaten Kupng. Kupang
- Chen, J. P. and M. S. Lee. 1994. Simultaneous Production and Partition of Chitinase during Growth of *Serratia Marcescens* in an Aqueous Two-phase System. *Biotechnology Techniques*. 8(11): 783-788.
- Cody, R.M. 1989. Distribution of Chitinase and Chitobiase in *Bacillus*. *Curr. Microbiol.* 19: 201-205.
- Cowan, S.T. 2004. *Manual For The Identification Of Medical Bacteria*. Cambridge University Press. London
- Darmawan, E., Mulyaningsih, dan Firdaus. 2007. Karakteristik Kitosan Yang Dihasilkan Dari Limbah Kulit Udang Dan Daya Hambatnya Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal LOGIKA*, Vol. 4, No.2
- Dompeipen, Edward J., Kaimudin, Marni and Dewa, Riardi P. 2016. Isolasi Kitin Dan Kitosan dari Limbah Kulit Udang. *Jurnal Majalah Biam*, vol. 12, (01), 32-38
- Fitri, Lenni dan Yasmin, Yekki. 2011. Isolasi Dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal ilmiah pendidikan biologi, biologi edukasi* Vol. 3 No. 2. 20-25
- Gohel, V., Singh, Vimal M., Ashwani, P., and Chattpar H. S. 2006. Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganism. *African Journal of Biotechnology* vol. 5 (2), pp: 54-72.
- Halim, Y. dan Febrico. 2018. *Penentuan Kondisi Optimum Untuk Produksi Glukosamin Kasar Dari Kulit Udang Windu (Penaeus Monodon F.) Oleh Aeromonas Hydrophila*. Jurusan Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan. Banten
- Herdyastuti, N., Raharjo, T. J., Mudasir dan Matsjeh, S. 2009. Chitinase and Chitinolytic Microorganism: Isolation, Characterization and Potential. *Journal Chem Jurusan Kimia UNESA*. Vol.9 No.1.
- Hoang, K.C., T.H. Lai, C.S. Lin, Y.T. Chen, and C.Y. Liao. 2011. The chitinolytic activities of *Streptomyces* sp. TH-11. *International Journal of Molecular Sciences*. vol. 12 (1), pp. 56–65.
- Lay, B. W. 1994. *Analisa Mikroba Di Laboratorium*. Edisi 1. Cetakan 1. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lehninger, A. L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid 1. Erlangga. Jakarta
- Nasran, S., Ariyani, F. dan Indriati, N. 2003. Produksi Kitinase Dan Kitin Deasetilase Dari *Vibrio Harveyi*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Vol.9: 167-174
- Pujiyanto, S., Kusdiyantini, Endang dan Mochammad, Hadi. 2008. Isolasi Dan Seleksi Bakteri Kitinolitik Isolat Lokal Yang Berpotensi Untuk Mengendalikan Larva Nyamuk *Aedes Aegypti L.* *Jurnal Biodiversitas*, Vol.9 No.1, 5-8

- Rodrigues, L., J. Teixeira, R. Oliveira and H. J. Van Der. 2006. Response Surface Optimization Of The Medium Components For The Productions Of Biosurfactans By Probiotic Bakteria. *J. Process Biochemistry*. 41: 1-10
- Soeka, Yati S. dan Triana, Evi. 2016. Pemanfaatan Limbah Kulit Udang Untuk Menghasilkan Enzim Kitinase Dari *Streptomyces Macrosporeus* InaCC A454. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, Vol. 18(1), Hal.91-101
- Supono. 2015. Studi keragaan udang windu (*Litopenaeus penaeusmonodon*) dan udang putih (*Litopenaeus vannamei*) yang dipelihara pada tambak semi plastik. Prosiding seminar nasional swasembada pangan polinela, hal 562-567
- Tito, Istikhara M. 2014. Isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik yang terdapat pada cangkang lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*). *Skripsi*. Fakultas perikanan dan kelautan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Tronsmo, A. and Harman G. E. 1993. Detection And Quantification Of N-Acetyl-Beta-D-Glucosaminidase And Endochitinase In Solutions And On Gels. *Anal Biochem* 208: 74-79