

KARAKTERISASI ENZIM KITINASE YANG DIPRODUKSI OLEH ISOLAT BAKTERI JB4 DARI TERASI

Dedi Noviendri¹⁾, Ekowati Chasanah¹⁾ dan Yusro Nuri Fawzya¹⁾

ABSTRAK

Penelitian karakterisasi enzim kitinase yang diproduksi oleh isolat bakteri JB4 dari terasi telah dilakukan. Karakterisasi enzim mencakup penentuan suhu dan pH optimum, stabilitas enzim, dan pengaruh adanya ion logam terhadap aktivitas enzim. Dari hasil penelitian ini diperoleh enzim kitinase mempunyai suhu optimum 40°C dan pH optimumnya 8,0. Enzim ini memiliki kemampuan stabilitas panas pada suhu 40°C. Kation monovalen NH_4^+ dan Na^+ dengan konsentrasi 1,0 mM diketahui dapat berfungsi sebagai aktivator bagi enzim kitinase isolat JB4. Sebaliknya kation divalen Mg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} dan kation trivalen Fe^{3+} dengan konsentrasi akhir 1,0 mM merupakan inhibitor bagi enzim kitinase dari isolat tersebut.

ABSTRACT: *Characterization of chitinase enzyme produced by JB4 bacterium isolate from terasi. By: Dedi Noviendri, Ekowati Chasanah and Yusro Nuri Fawzya*

Research on characterization of chitinase enzyme produced by JB4 bacterium isolate from terasi has been done. This characterization included assessment of optimal temperature and pH, enzyme stability and the effect of metal ion on enzyme activity. The results revealed that chitinase enzyme produced by JB4 isolate had optimal temperature and pH of 40°C and 8.0 respectively. This enzyme showed stability at 40°C. Monovalent cations such as NH_4^+ and Na^+ performed as activator for chitinase enzymes at concentration of 1.0 mM. On the other hand divalent cations such as Mg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} and trivalent cation Fe^{3+} at concentration of 1.0 mM were proven to be inhibitor for chitinase enzyme.

KEYWORDS: *chitinase enzyme, bacterium from terasi, JB4 bacterium isolate*

PENDAHULUAN

Enzim kitinase (EC.3.2.1.14) termasuk kelompok enzim hidrolase yang dapat mendegradasi kitin secara langsung menjadi produk bermolekul kecil, yang banyak dihasilkan oleh mikroorganisme (Wang & Chang, 1997), baik secara intra maupun ekstraseluler. Enzim ini dapat mendegradasi kitin polimerik menjadi oligosakarida kitin, deasetilkitobiosa dan N-asetilglukosamin (Thompson *et al.*, 2001). Mikroorganisme-mikroorganisme prokariot pendegradasi kitin yang telah diketahui adalah *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Photobacterium*, *Actinomyces*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Streptomyces* dan *Clostridium*.

Beberapa isolat bakteri kitinolitik yang telah berhasil diisolasi dari hasil perikanan dan biota laut adalah JB4 dan T5a1 dari terasi serta 34bs dari spons (Uria & Chasanah, 2005; Zilda & Chasanah, 2005). Enzim kitinase dari isolat JB4 diketahui memiliki kemampuan yang paling baik dibandingkan enzim

kitinase isolat-isolat yang telah diisolasi tersebut. Untuk itu perlu dilakukan karakterisasi terhadap enzim kitinase dari isolat JB4. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui karakter enzim kitinase dari isolat JB4 guna memudahkan aplikasi selanjutnya, di antaranya penggunaan enzim ini untuk menghasilkan oligosakarida kitin, deasetilkitobiosa dan N-asetilglukosamin yang bernilai lebih tinggi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Isolat JB4 yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya (Zilda & Chasanah, 2005). Bahan-bahan lain yang digunakan adalah serbuk kitin komersial (*Sigma Chemical*), HCl pekat (37%), NaOH 12N, *glasswool*, *yeast extract* (Oxoid), K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, NaCl dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, garam-garam klorida seperti; NH_4Cl , KCl, CaCl_2 , MnCl_2 , LiCl_2 , CoCl_2 , ZnCl_2 , BaCl_2 , MgCl_2 , FeCl_3 , *buffer* fosfat, sitrat, borat, dan *buffer* glisin.

¹⁾ Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan

Persiapan Koloidal Kitin

Koloidal kitin dibuat dari serbuk kitin komersial (*Sigma Chemical*) dengan menggunakan metode Arnold & Salomon (1986). Serbuk kitin komersial (*Sigma Chemical*) sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam 200 mL HCl pekat (37%). Campuran didiamkan dalam keadaan tertutup selama satu malam pada suhu 4°C, kemudian disaring menggunakan *glasswool*. Filtrat yang diperoleh ditambah 100 mL akuades dingin dan dinetralkan dengan NaOH 12N (\pm 200 mL). Selanjutnya disentrifugasi pada 8.000 rpm, 4°C selama 20 menit (Backman J2-21, USA). Supernatan dibuang, endapan ditambahkan akuades dingin dan diaduk untuk melarutkan sisa garam, kemudian disentrifugasi lagi pada 8.000 rpm, 4°C selama 20 menit (Backman J2-21, USA). Pelet yang diperoleh adalah koloidal kitin yang siap digunakan dalam media pertumbuhan bakteri dan pengujian aktivitas enzim.

Penyegaran Isolat

Isolat JB4 murni ditumbuhkan dalam media agar *Minimal Synthetic Medium* (MSM) steril (Katatny *et al.*, 2000), dengan komposisi: 1,5% koloidal kitin; 0,05% *yeast extract* (Oxoid); 0,1% K_2HPO_4 ; 0,01% $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$; 0,1% NaCl dan 0,07% $(NH_4)_2 SO_4$ (*Merck*). Dua ose isolat digunakan untuk membuat *starter* dengan cara dikultivasi ke dalam 25 mL medium MSM cair dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam pada *waterbath shaker* dengan kecepatan 120 rpm, dan siap dijadikan *starter*.

Produksi, Isolasi dan Pemekatan Enzim

Starter dengan konsentrasi 10% (v/v) ditumbuhkan di dalam medium cair pada suhu 37°C selama 12 jam di *waterbath shaker*. Pada akhir masa fermentasi, biomasa dipisahkan dengan cara sentrifugasi pada 9.000 rpm, 4°C selama 15 menit (Backman Coulter TM, USA) untuk diambil supernatannya. Enzim dikonsentrasikan dengan teknik *salting out*, yaitu dengan menambahkan amonium sulfat ke dalam supernatan hingga mencapai 70% tingkat kejenuhan (%TK) (Zilda & Chasanah, 2005). Endapan dikumpulkan dengan cara sentrifugasi pada 9.000 rpm, 4°C selama 15 menit (Backman Coulter TM, USA). Endapan (enzim) ini kemudian dilarutkan dalam 15 mL *buffer* fosfat 0,05 M pH 7,0; lalu didialisis di dalam *buffer* yang sama pada suhu 4°C selama semalam. Larutan hasil dialisis ini disimpan pada suhu 4°C, dan siap untuk dilakukan pengujian selanjutnya.

Pengujian Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim kitinase diuji berdasarkan metode Splinder (1997) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan

pada nilai konsentrasi dan besar volume pereaksi yang digunakan. Pengujian aktivitas enzim dilakukan dengan menggunakan substrat koloidal kitin dengan konsentrasi 1,5% (b/v). Larutan enzim (150 μ L) ditambahkan ke dalam campuran yang mengandung 300 μ L koloidal kitin 1,5% dan 150 μ L *buffer* fosfat dengan pH 7,0. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Selanjutnya disentrifugasi pada 10.000 rpm, 4°C selama 5 menit (Backman Coulter TM, USA). Pelet dibuang dan supernatan diambil sebanyak 200 μ L, lalu ditambah 500 μ L H_2O dan 1000 μ L pereaksi *Schales*, yang diikuti dengan pendidihan selama 10 menit. Setelah pendinginan, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 420 nm dengan spektrofotometer UV-VIS (UV-1201 spektrofotometer Shimadzu). Dari nilai absorbansi tersebut dapat ditentukan nilai aktivitas enzim kitinase. Satu unit aktivitas kitinase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan 1 μ mol gula reduksi yang ekuivalen dengan N-asetilglukosamin (*GlcNAc*) selama 1 menit.

Penentuan Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim diukur pada berbagai suhu untuk menentukan suhu optimalnya. Suhu yang digunakan adalah 30, 37, 40, 50, 60 dan 70°C. Sedangkan pH optimal ditentukan dengan cara mereaksikan enzim kitinase dengan substrat pada berbagai pH dengan rentang pH (4,0–10,0), kemudian aktivitasnya diukur pada suhu optimalnya. *Buffer* yang digunakan meliputi *buffer* sitrat (pH 4,0–6,0), *buffer* fosfat (pH 6,0–8,0), *buffer* borat (pH 8,0–9,0), dan *buffer* glisin (pH 9,0–10,0). Konsentrasi *buffer* yang digunakan adalah 0,2M.

Pengujian Stabilitas Enzim pada Suhu Optimalnya

Penentuan stabilitas enzim dilakukan dengan cara inkubasi larutan enzim (50 μ L) dalam *waterbath* pada suhu optimalnya selama 0 (sebagai kontrol), 15, 30, 45, 60, 80, 100, 120 dan 160 menit, lalu didinginkan dalam es selama 15 menit, kemudian diuji aktivitasnya.

Penentuan Pengaruh Kation terhadap Aktivitas Enzim

Pengaruh penambahan kation terhadap aktivitas enzim kitinase diujikan menggunakan kation monovalen (NH_4^+ , K^+ dan Na^+), divalen (Ca^{2+} , Mn^{2+} , Li^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+} dan Mg^{2+}) dan trivalen (Fe^{3+}). Kation-kation tersebut diperoleh dari senyawa-senyawa kimia (*Merck*, Damstadt, Jerman) dalam bentuk garam kloridanya. Senyawa ini ditambahkan ke dalam enzim dengan konsentrasi akhir 1,0 mM

(Wang & Chang, 1997; Rahayu *et al.*, 2004). Campuran diinkubasi selama 15 menit pada suhu 40°C, kemudian diukur aktivitasnya. Sebagai kontrol digunakan larutan enzim yang tidak mengandung logam yang diujikan.

HASIL DAN BAHASAN

Aktivitas Optimal Enzim Kitinase

Pengaruh suhu terhadap enzim kitinase dapat dilihat pada Gambar 1. Di dalam Gambar 1 terlihat bahwa aktivitas tertinggi kitinase isolat JB4 dicapai pada suhu 40°C yaitu sebesar 0,014 U/mL, kemudian mengalami penurunan pada suhu 50°C sampai 70°C. Hasil ini terlihat sejalan dengan hasil yang diperoleh Wang & Chang (1997), yang menemukan bahwa dua kitinase yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* K-187 mempunyai suhu optimal 40 dan 50°C. Suhu optimal sebesar 45°C dimiliki oleh kitinase dari *Vibrio* sp. 98CJ1102 (Park *et al.*, 2000), *Enterobacter* sp. NRG4 (Dahiya *et al.*, 2005), dan *Arthrobacter* sp. NHB-10 (Okazaki *et al.*, 1996).

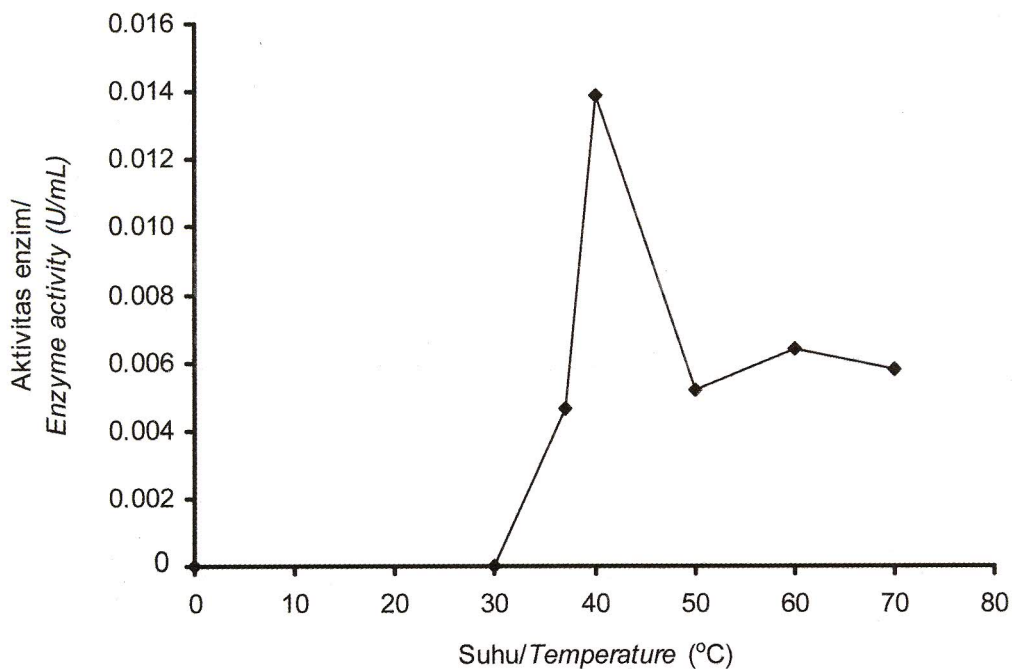
Enzim kitinase yang berasal dari isolat JB4 dapat digolongkan ke dalam enzim kitinase mesofilik, karena

suhu optimum kitinase berkisar antara 25–45°C, sedangkan kitinase yang memiliki suhu optimum berkisar 45–85°C digolongkan ke dalam kitinase termostabil (Agustine, 2005).

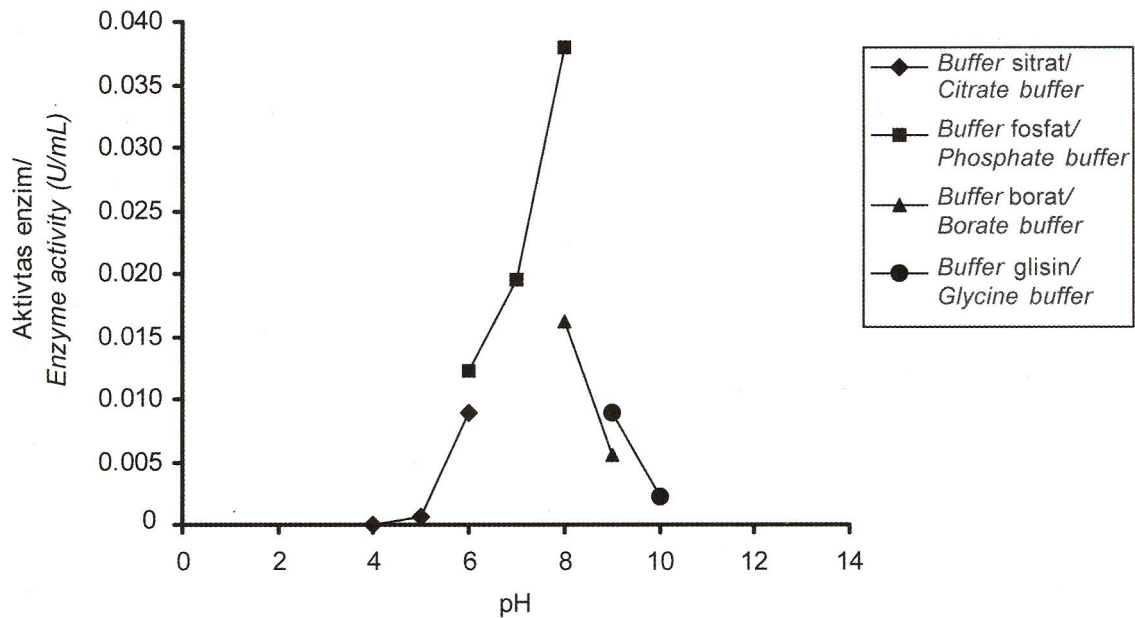
Enzim memiliki pH optimal yang khas, yaitu pH yang menyebabkan aktivitas maksimal (Lehninger, 1995). Semua reaksi enzim dipengaruhi oleh pH medium tempat reaksi terjadi (Suhartono, 1989), dan pada umumnya enzim aktif pada pH netral atau pada kisaran pH 5–9 (Suhartono, 1989; Rahayu *et al.*, 2004). Hasil pengujian pengaruh pH terhadap aktivitas enzim dapat dilihat pada Gambar 2.

Di dalam Gambar 2 terlihat bahwa pH optimum kitinase isolat JB4 dicapai pada *buffer* fosfat pH 8,0 dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0,038 U/mL. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Jayanti (2002), menggunakan isolat 12.2 dan 13.9. Kemudian hasil penelitian Purwani *et al.* (2004) menggunakan *Bacillus* sp 13.26 dan kitinase yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* K-187 hasil penelitian Wang & Chang (1997) juga mempunyai nilai pH 8,0.

Di dalam Gambar 1 dan 2 terlihat bahwa secara keseluruhan hasil uji aktivitas optimal enzim kitinase memberikan nilai aktivitas yang rendah. Aktivitas



Gambar 1. Pengaruh suhu terhadap aktivitas kitinase dari isolat JB4.
 Figure 1. The effect of temperature on chitinase activity of JB4 isolate.



Gambar 2. Pengaruh pH terhadap aktivitas kitinase dari isolat JB4.
 Figure 2. The effect of pH on chitinase activity of JB4 isolate.

rendah ini, mungkin disebabkan karena enzim yang digunakan belum murni dan masih banyak protein-protein lain yang tercampur dalam ekstrak enzim, karena tidak dilakukan pemurnian terhadap enzim yang diuji. Ada kemungkinan protein-protein (kontaminan) ini mengganggu aktivitas kerja enzim, sehingga aktivitas enzim kitinase yang terukur menjadi rendah.

Stabilitas Enzim Kitinase

Hasil pengujian stabilitas enzim kitinase dari isolat JB4 pada suhu 40°C terlihat bahwa aktivitas enzim kitinase mengalami sedikit kenaikan sampai mencapai waktu inkubasi 120 menit dengan aktivitas sebesar 0,0961 U/mL. Kemudian aktivitas enzim mengalami sedikit penurunan seiring dengan pertambahan waktu inkubasi menjadi 0,0931 U/mL setelah 160 menit inkubasi (Gambar 3).

Di dalam Gambar 3 terlihat bahwa dengan inkubasi yang dilakukan pada suhu optimalnya yaitu pada suhu 40°C, maka aktivitas enzim kitinase isolat tersebut tidak cepat mengalami penurunan. Ini menunjukkan bahwa enzim kitinase ini memiliki stabilitas yang baik untuk waktu inkubasi sampai 160 menit (2 jam 40 menit). Rahayu *et al.* (2004) mengatakan bahwa semakin rendah kekuatan penstabil enzim, maka semakin tidak stabil suatu enzim. Kemudian semakin tinggi kekuatan penstabil enzim, maka enzim tersebut

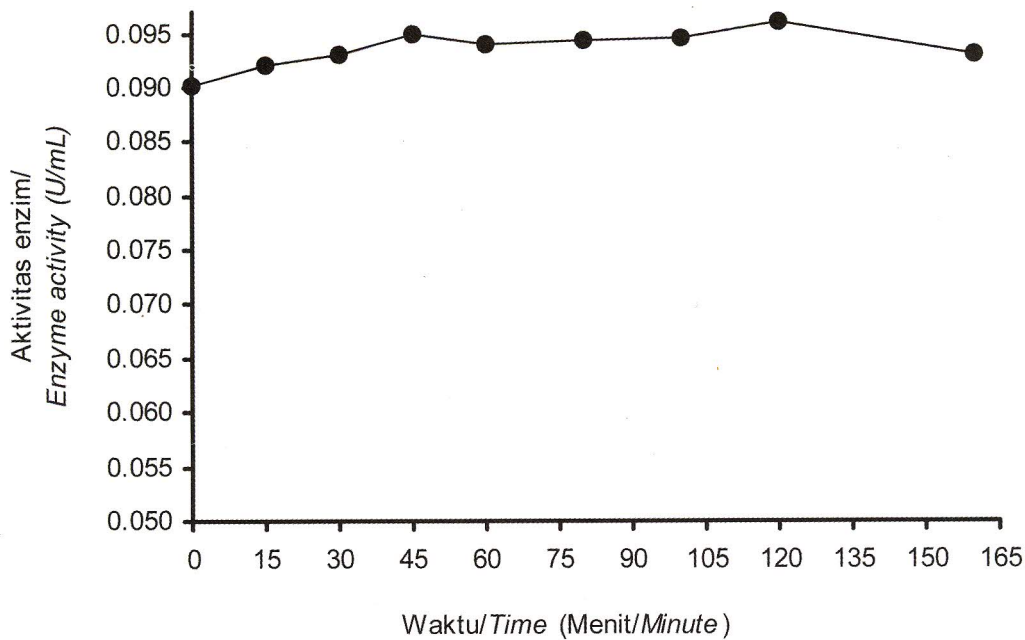
akan semakin stabil. Stabilitas enzim ini merupakan fungsi dari kekuatan-kekuatan penstabil enzim yaitu, ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, interaksi ionik, ikatan logam dan jembatan disulfida (Suhartono, 1989).

Stabilitas enzim kitinase termostabil yang berasal dari *Bacillus* sp. 13.26 adalah pada suhu 60–80°C (Purwani *et al.*, 2004), dan *Bacillus* K-29-14 pada suhu 70°C (Rahayu *et al.*, 2004); keduanya dapat stabil sampai waktu 5 jam. Ternyata enzim kitinase dari isolat JB4 hasil penelitian ini memiliki stabilitas lebih rendah bila dibandingkan dengan enzim kitinase termostabil yang telah dilaporkan Purwani *et al.* (2004) dan Rahayu *et al.* (2004).

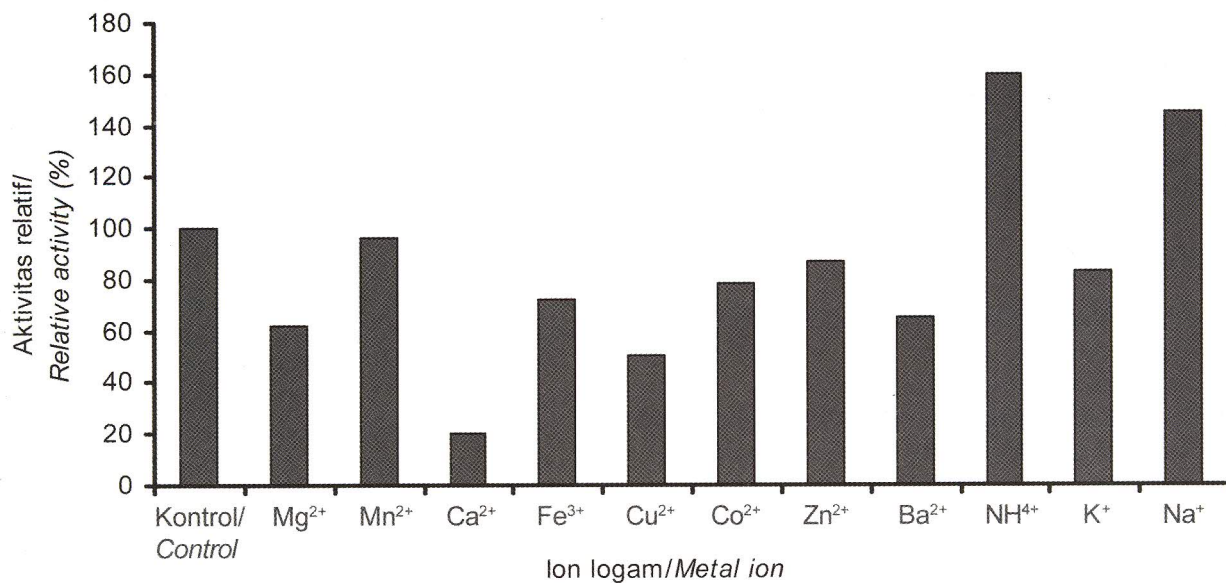
Pengaruh Logam terhadap Aktivitas Enzim Kitinase

Sejumlah ion logam telah diujikan dan hasil pengujian pengaruh ion logam terhadap aktivitas relatif kitinase dari isolat JB4 dapat dilihat pada Gambar 4. Beberapa enzim diketahui membutuhkan ion-ion tertentu untuk menjamin aktivitasnya. Ion-ion tersebut dapat berperan sebagai aktivator pada konsentrasi tertentu atau sebagai inhibitor pada kondisi yang berbeda. Ion-ion logam ini diperlukan sebagai komponen pada sisi aktifnya.

Pada Gambar 4 dapat dilihat bahwa penambahan 1,0 mM kation divalen Mg²⁺, Cu²⁺, Co²⁺, Zn²⁺, Ba²⁺,



Gambar 3. Pengaruh lama inkubasi terhadap aktivitas kitinase dari isolat JB4 pada suhu 40°C.
Figure 3. The effect of incubation time on chitinase activity of JB4 isolate at 40°C.



Gambar 4. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas kitinase dari isolat JB4 pada suhu 40°C dan pH 8,0.
Figure 4. The effect of metal ion on chitinase activity of JB4 isolate at 40°C and pH 8.0.

Ca²⁺ dan kation trivalen Fe³⁺ dapat menurunkan aktivitas kitinase. Dari hasil penelitian ini, kation divalen Ca²⁺ memiliki kemampuan tertinggi sebagai inhibitor yang dapat menurunkan aktivitas relatif enzim sampai tersisa sebesar 20,14%. Penambahan 1,0 mM kation monovalen NH₄⁺ dan Na⁺ pada enzim kitinase dapat meningkatkan aktivitas relatif enzim menjadi 160,07%. Dengan kata lain, kedua ion monovalen tersebut dapat berfungsi sebagai aktivator bagi enzim kitinase dari isolat JB4.

Penambahan kation Ca²⁺ pada kitinase dari *Enterobacter* sp. NRG4 dapat meningkatkan aktivitas enzim tersebut (Dahiya *et al.*, 2005), sedangkan kation Ca²⁺ merupakan inhibitor bagi kitinase dari isolat JB4. Adanya kation Cu²⁺ pada kitinase yang diisolasi dari *Vibrio* sp. 98CJ11027 (Park *et al.*, 2000) dan kation Co²⁺ pada kitinase yang diisolasi dari *Bacillus* K-129-14 (Rahayu *et al.*, 2004) dapat juga meningkatkan aktivitas enzim tersebut.

Wang & Chang (1997) melaporkan bahwa, kation Mn²⁺, Mg²⁺ dan Zn²⁺ dapat menghambat aktivitas kitinase dari *Pseudomonas aeruginosa* K-187, kation Cu²⁺, Co²⁺, Ag⁺ dan Hg⁺ menghambat kitinase dari *Enterobacter* sp. NRG4 (Dahiya *et al.*, 2005), Fe²⁺ dan Cu²⁺ menghambat kitinase dari *Vibrio* sp. 98CJ11027 (Park *et al.*, 2000) dan Zn²⁺ menghambat kitinase dari *Bacillus* K-129-14 (Rahayu *et al.*, 2004). Secara kimiawi, suatu inhibitor tidak dapat dibedakan dari aktivator. Setelah mereka berinteraksi dengan enzim, barulah dapat dilihat perbedaannya. Aktivator akan berikatan dengan enzim dan menyebabkan kenaikan kecepatan reaksi enzim, sedangkan inhibitor berikatan dengan enzim dan menyebabkan penurunan kecepatan reaksi enzim (Suhartono, 1989).

KESIMPULAN

Enzim kitinase yang dihasilkan oleh isolat bakteri JB4 yang diisolasi dari terasi pada penelitian ini mempunyai suhu dan pH optimum masing-masing 40°C, dan 8,0. Enzim ini memiliki stabilitas selama 2 jam 40 menit pada suhu 40°C. Kation monovalen NH₄⁺ dan Na⁺ dengan konsentrasi 1,0 mM dapat berfungsi sebagai aktivator bagi enzim kitinase dari isolat JB4. Kation divalen Mg²⁺, Cu²⁺, Co²⁺, Zn²⁺, Ba²⁺, Ca²⁺ dan kation trivalen Fe³⁺ dengan konsentrasi akhir 1,0 mM merupakan inhibitor bagi enzim kitinase dari isolat tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

Agustine, H. 2005. *Pengujian Aktivitas Immunoenhancing Oligomer Kitin yang Diproduksi*

Secara Enzimatik. Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor. 45 pp.

Arnold, L.D. and Salomon, N.A. 1986. *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*. Washington. American Society for Microbiology.

Dahiya, N., Tewari, R., Tiwari, R.P. and Hoondal, G. S. 2005. Chitinase from *Enterobacter* sp. NRG4: Its purification, characterization and reaction pattern. *Elect. J. Biotechnol.* 8(2): 134–145.

Jayanti, J.F.L. 2002. *Studi Kitinase dan Kitin Deasetilase Termotabil dari Isolat Asal Manado*. Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor. 51 pp.

Katatny, M.H.E., Somitsch, W., Robra, K.H., katatny, M.S.E. and Gubitz, G.M. 2000. Production of chitinases and 1,3-glucanase by *Trichoderma harzianum* for control of the phytopathogenic fungus *Sclerotium rolfsii*. *J. Food Technol. Biotechnol.* 38(3): 173–180.

Lehninger, A.L. 1995. *Dasar-dasar Biokimia. Jilid 1*. Erlangga, Jakarta. 408 pp.

Okazaki, K., Kawabata, T., Nakano, M. and Hayakawa, S. 1996. Purification and properties of chitinase from *Arthrobacter* sp. NHB-10. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63(9): 1644–1646.

Park, S.H., Lee, J.H. and Lee, H.K. 2000. Purification and characterization of chitinases from a marine bacterium, *Vibrio* sp. 98CJ11027. *J. Microbiol.* 38(4): 224–229.

Purwani, E.Y., Suhartono, M.T., Rukayadi, Y., Hwang, J. K. and Pyun, Y.R. 2004. Characteristics of thermostable chitinase enzymes from the Indonesian *Bacillus* sp. 13.26. *J. Enzyme. Microbiol. Technol.* 35: 147–153.

Rahayu, S., Tanuwidjaya, F., Rukayadi, Y., Suwanto, A., Suhartono, M.T., Hwang, J.K. and Pyun, Y.R. 2004. Study of thermostable chitinase enzymes from Indonesian *Bacillus* K29-14. *J. Microbiol. Biotechnol.* 14(4): 647–652.

Splinder, K.D. 1997. Chitinase and chitosanase assays. In: Muzzarelli, R.A.A. and Peter, M.G. (eds.). *Chitin Handbook*. Italy: Atec Grottammare. p. 229–235.

Suhartono, M.T. 1989. *Enzim dan Bioteknologi*. Depdikbud. Dirjen Dikti. PAU. IPB, Bogor. p. 53–102.

Thompson, S.E., Smith, M., Wilkinson, M.C. and Peek, K. 2001. Identification and characterization of a chitinase antigen from *Pseudomonas aeruginosa* strain 385. *J. Applied. Environ. Microbiol.* 67(9): 4001–4008.

Uria, A.R. and Chasanah, E. 2005. *Chitinase and Chitosanase from Microorganism Associated with Marine Sponge*. Dipresentasikan pada The 9th of ASEAN Food Conference di Jakarta.

Wang, S.L. and Chang, W.T. 1997. Purification and characterization of two bifunctional chitinase/lysozymes extracellularly produced by *Pseudomonas*

aeruginosa K-187 in a shrimp and crab shell powder medium. *J. Applied. Environ. Microbiol.* 63 (2): 380–386.

Zilda, D.S. and Chasanah, E. 2005. *Screening of Chitinolytic Bacteria from Terasi*. Dipresentasikan pada The 9th of ASEAN Food Conference di Jakarta.