

PENGARUH KECEPATAN AGITASI TERHADAP TINGKAT DEMINERALISASI KULIT UDANG PADA TAHAPAN EKSTRAKSI KITIN SECARA BIOLOGIS

Junianto

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran,
Jl Raya Jatinangor KM 21, Ujung Berung – Bandung 40200

E-mail: anto_lisc@yahoo.com

ABSTRAK

Proses demineralisasi adalah salah satu tahapan ekstraksi kitin dari kulit udang. Pada penelitian ini, proses demineralisasi dilakukan secara biologis melalui fermentasi asam laktat. Isolat bakteri yang digunakan adalah *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kecepatan agitasi untuk memperoleh tingkat penghilang mineral yang maksimal pada proses demineralisasi kulit udang. Percobaan dilakukan dengan rancangan acak lengkap yang terdiri dari tiga perlakuan kecepatan agitasi yaitu 0, 50, dan 100 putaran per menit (rpm). Setiap perlakuan diulang sebanyak empat kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kecepatan agitasi untuk mendapatkan tingkat penghilang mineral maksimal pada proses demineralisasi kulit udang adalah 50 rpm. Tingkat penghilangan mineral dinyatakan dengan tingkat penurunan kandungan abu; dimana pada kecepatan agitasi 50 rpm, penurunan kandungan abunya 97,42%.

Kata kunci : Demineralisasi, kitin, kulit, udang, biologis.

THE EFFECT OF AGITATION VELOCITY ON THE SHRIMP SHELLS DEMINERALIZATION LEVEL AT BIOLOGICALLY STEP OF CHITIN EXTRACTION

ABSTRACT

Demineralization process is one step of chitin extraction from shrimp shells and its was done with lactic acid fermentation. *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 was used for this fermentation process. The objective of research is to determine the velocity of agitation for finding the level of removed mineral from the shrimp shells. Completely randomized block design was used with three level of agitation treatments, that was 0, 50, and 100 rpm. The result of the research showed that the 50 rpm of agitation could remove the mineral content of shrimp shells maximally. The level of removed mineral was declared as the ash content. where at the 50 rpm agitation, the ash content reduction was 97.42%.

Key words : Demineralization, chitin, shells, shrimps, biologically.

PENDAHULUAN

Salah satu limbah yang dihasilkan dari industri pembekuan udang adalah kulit udang. Menurut Dhewanto dan Kresnowati (2002) proporsi berat kulit udang terhadap berat udang keseluruhannya adalah 45%. Berdasarkan proporsi tersebut, diperkirakan jumlah limbah kulit udang yang tersedia pada tahun 2007 mencapai 100.188,9 ton. Selama ini, pemanfaatan limbah kulit udang di Indonesia sebagian besar digunakan untuk pakan ternak, campuran untuk pembuatan kerupuk udang, dan terasi (Dhewanto & Kresnowati, 2002).

Pengolahan limbah kulit udang menjadi produk seperti pakan ternak, terasi maupun kerupuk mempunyai nilai tambah relatif kecil. Untuk meningkatkan nilai tambah kulit udang, diekstraksi menjadi kitin sangat penting dilakukan, karena kitin mempunyai harga jual yang tinggi. Harga kitin saat ini berkisar antara Rp 50.000,-/kg (untuk bahan

penanganan limbah cair) sampai Rp.1.000.000,-/kg (untuk bahan biomedik).

Ekstraksi kitin dari kulit udang dilakukan melalui tahapan demineralisasi kemudian diikuti dengan tahapan deproteinasi. Demineralisasi adalah proses penghilangan mineral sedangkan deproteinasi adalah proses penghilangan protein dari kulit udang. Menurut Bustos & Healy (1994), tahapan demineralisasi kulit udang untuk ekstraksi kitin dapat dilakukan secara kimiawi maupun biologis. Demineralisasi secara kimiawi dilakukan menggunakan asam kuat seperti HCl sedangkan secara biologis dilakukan dengan memanfaatkan kemampuan mikroba untuk memproduksi asam yaitu melalui fermentasi asam laktat atau sitrat. Lee & Tan (2002) menyatakan bahwa demineralisasi secara biologis lebih menguntungkan daripada secara kimiawi karena biaya penanganan limbahnya relatif lebih murah.

Mikroba yang digunakan pada percobaan

demineralisasi kulit udang untuk ekstraksi kitin ini adalah bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116. Bakteri ini termasuk kelompok bakteri asam laktat homofermentatif yaitu bakteri yang dapat mengkonversi glukosa menjadi asam laktat sebagai produk utamanya. Selain itu juga bersifat mikroaerofilik yaitu dapat tumbuh baik pada kondisi lingkungan dengan kandungan oksigen terbatas (Luis *et al.*, 2003). Menurut Rao and Stevens (2005), pemberian agitasi terbatas pada bioreaktor untuk proses demineralisasi perlu dilakukan. Tujuannya agar terjadi transfer oksigen dari lingkungan sekitar ke dalam cairan medium fermentasi. Selain itu agitasi dimaksudkan untuk menghomogenkan suspensi yang ada dalam medium fermentasi. Oksigen dan unsur nutrisi terlarut dalam medium fermentasi merupakan faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kecepatan agitasi untuk memperoleh tingkat penghilang mineral yang maksimal pada proses demineralisasi kulit udang secara biologis.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit udang vannamei (*Penaeus vannamei*) yang diperoleh dari pabrik pembekuan udang PT Wirontono Baru, Jakarta utara, isolat *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 (Koleksi Kultur Mikroba Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta), glukosa, ekstrak khamir, agar, dan *de Man Rogosa Sharpe* (MRS) Broth.

Alat yang digunakan yaitu bioreaktor ukuran 2 Liter, otoklaf, tabung reaksi, pembakar bunsen, cawan petri, cawan porselin, sentrifuse Hitachi Nimac CR 21G, corong, pH-meter Knick, spektrofotometer Novaspec II, erlenmeyer, beaker glass, alat pengering ultra violet, tanur, *High performance liquid chromatography* (HPLC), injektor, inkubator *shaker*, *ependorf*, gelas ukur, dan lain-lain.

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimen dengan rancangan percobaan acak lengkap yang terdiri dari tiga perlakuan kecepatan agitasi yaitu 0, 50, dan 100 putaran per menit (rpm). Setiap perlakuan diulang sebanyak empat kali.

Prosedur percobaan dilakukan sebagai berikut: Kulit udang dicuci bersih kemudian dilakukan pengecilan ukuran dengan cara diblender, setelah itu disaring dengan kawat saringan ukuran 0,5 – 1 cm. Selanjutnya ditimbang sebanyak 300 gram dan dikemas dalam kantong plastik untuk disimpan dalam *freezer* pada suhu -20°C sampai siap digunakan dalam proses fermentasi.

Langkah berikutnya adalah pembuatan *starter* dan inokulum bakteri *L. acidophilus* FNCC116 berdasarkan prosedur Jung *et al.* (2005) yang

dimodifikasi. Pembuatan *starter* dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL biakan bakteri *L. acidophilus* FNCC116 dari *stock culture* yang disimpan pada suhu -20°C, kemudian dikulturasi dalam *erlenmeyer* 125 mL yang berisi 9 mL larutan MRS (*de Man Rogosa Sharps*). Proses kulturasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator.

Selanjutnya, *starter* bakteri tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL yang berisi 90 mL larutan MRS. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C sampai diperoleh nilai *optical density* (OD) 0,85 sebagai inokulum. Lama waktu yang diperlukan untuk mencapai nilai OD 0,85 sekitar 7 – 8 jam. Tingkat kepadatan sel pada nilai OD 0,85 adalah 1×10^9 cfu/ML. Kemudian dilakukan proses demineralisasi terhadap kulit udang melalui proses fermentasi asam laktat (Rao and Steven 2005 yang dimodifikasi).

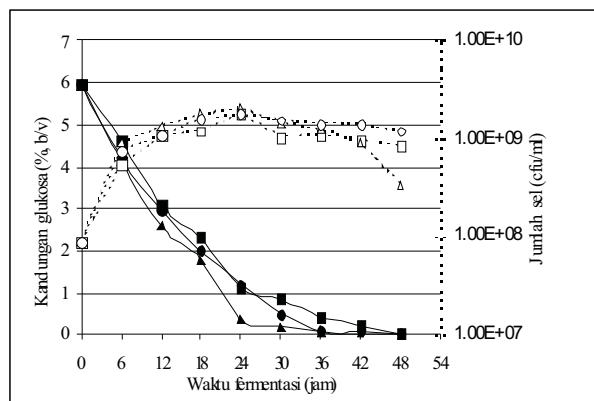
Fermentasi dilakukan dalam bioreaktor ukuran 2 liter dengan volume kerja 1 liter. Proses demineralisasi dilakukan sebagai berikut: dimasukkan 100 ML (10%, v/v) larutan inokulum dan 300 gram (30%, b/v) kulit udang ke dalam bioreaktor yang telah diisi medium fermentasi sebanyak 900 ML. Komposisi medium fermentasi tersebut terdiri dari glukosa 60 g/L dan ekstrak khamir 0,5 g/L. pH awal medium fermentasi ditetapkan pada pH 7. Setelah itu difermentasi pada suhu ruang (30°C $\pm$ 1°C) dan diagitasi sesuai dengan perlakuan yang ditetapkan selama 48 jam.

Selama proses fermentasi dilakukan pengamatan terhadap kulit udang dan medium fermentasi. Variabel yang diamati pada kulit udang adalah kandungan abu (AOAC 1984) kemudian dilakukan penghitungan tingkat penurunan kandungan abu kulit udang. Variabel yang diamati pada medium fermentasi adalah kandungan glukosa (metode DNS, AOAC 1984), kandungan asam laktat (HPLC), pH (pH meter), dan jumlah bakteri (TPC). Pengambilan contoh dilakukan setiap 6 jam sekali. Data yang diperoleh dari penghitungan tingkat penurunan kandungan abu dianalisis secara statistik dengan uji F dan uji Jarak Berganda Duncan pada taraf kepercayaan 95%. Adapun hasil pengukuran dari parameter yang lain dianalisis secara diskriptif dalam bentuk grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri dalam medium fermentasi pada berbagai kecepatan agitasi menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri pada setiap perlakuan kecepatan agitasi memperlihatkan pola yang sama. Terjadi pertumbuhan sangat cepat (peningkatan ± 1 log) antara jam ke-0 sampai jam ke- 6, pertumbuhan relatif tetap (peningkatan $\pm 0,3$ log) setelah jam ke-6

sampai jam ke-24, kemudian pertumbuhan menurun setelah jam ke-24. Puncak pertumbuhan bakteri terjadi pada jam ke-24 pada setiap perlakuan kecepatan agitasi. Perlakuan kecepatan agitasi 50 rpm memberikan kondisi pertumbuhan bakteri yang lebih optimal dibandingkan perlakuan lainnya sebelum fase kematian terjadi.



Gambar 1. Perubahan kandungan glukosa (—) dan jumlah bakteri (---) dalam medium selama proses fermentasi pada berbagai perlakuan kecepatan agitasi (■ dan □ = 0 rpm, ▲ dan △ = 50 rpm, ● dan ○ = 100 rpm)

Pemberian agitasi yang lebih tinggi (100 rpm) menyebabkan pertumbuhan bakteri tidak optimal. Agitasi yang kuat dapat meningkatkan kelarutan oksigen dalam medium sehingga akan menghambat pertumbuhan bakteri yang bersifat anaerob fakultatif seperti *L. acidophilus* FNCC 116. Hasil percobaan ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Rao and Stevens (2005), bahwa kecepatan agitasi dalam bioreaktor beragitasi berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat.

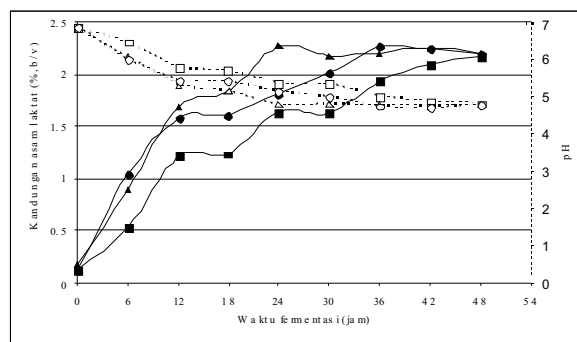
Umumnya, bakteri asam laktat bersifat anaerob fakultatif yang memerlukan oksigen terbatas untuk proses metabolismenya. Dengan demikian pemberian agitasi dalam bioreaktor untuk proses fermentasi asam laktat dilakukan pada kecepatan yang relatif rendah. Selanjutnya Rao and Stevens (2005) menyatakan, bahwa pemberian agitasi dalam bioreaktor dimaksudkan untuk memperluas kontak antara udara dalam lingkungan sekitar dengan cairan medium fermentasi, sehingga oksigen dalam udara yang terlarut dalam medium menjadi meningkat. Ketersediaan oksigen terlarut dalam medium digunakan untuk proses metabolisme oleh bakteri dalam medium tersebut. Semakin besar kecepatan agitasi yang diberikan maka kelarutan oksigen dalam medium akan semakin tinggi.

Adanya pertumbuhan bakteri menyebabkan kadar glukosa dalam medium fermentasi menurun (Gambar 1). Glukosa dalam medium fermentasi digunakan bakteri sebagai sumber karbon. Selain itu juga glukosa dibiokonversi menjadi asam laktat oleh bakteri. Berdasarkan Gambar 1, pola penurunan

glukosa berbanding terbalik dengan pola pertumbuhan bakteri. Antara jam ke-0 sampai jam ke-24, penurunan glukosa terjadi sangat cepat.

Kandungan glukosa dalam medium fermentasi dari setiap perlakuan kecepatan agitasi pada jam ke-24 berkisar antar 0,5% sampai 1,5%. Artinya selama 24 jam proses fermentasi berlangsung, rata-rata 75% lebih glukosa telah dibiokonversi oleh bakteri. Pertumbuhan bakteri selama itu berada dalam fase pertumbuhan eksponensial. Semakin optimal pertumbuhan bakteri dalam fase pertumbuhan eksponensial, maka tingkat penurunan kandungan glukosa semakin cepat. Hal ini dapat ditunjukkan pada perlakuan agitasi 50 rpm yaitu terjadi pertumbuhan bakteri yang lebih cepat dibandingkan perlakuan lainnya dari awal fermentasi sampai jam ke-24, sehingga penurunan glukosa pada perlakuan tersebut menurun lebih cepat pula (Gambar 1)

Penurunan glukosa dari jam ke-24 sampai akhir proses fermentasi relatif kecil pada setiap perlakuan agitasi, karena pertumbuhan bakteri pada rentang waktu tersebut telah memasuki fase pertumbuhan menurun. Selain itu juga kandungan glukosa dalam medium fermentasi hanya tersisa di bawah 0,5% (b/v). Selanjutnya, penurunan glukosa dalam medium fermentasi menyebabkan kandungan asam laktat meningkat. Pembentukan asam laktat ini karena terjadi biokonversi glukosa menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat yang terdapat dalam



Gambar 2. Perubahan kandungan asam laktat (—) dan pH (---) dalam medium selama proses fermentasi pada berbagai perlakuan kecepatan agitasi (■ dan □ = 0 rpm, ▲ dan △ = 50 rpm, ● dan ○ = 100 rpm).

Bakteri asam laktat yang digunakan dalam fermentasi ini bersifat homofermentatif sehingga hanya asam laktat saja yang dihasilkan. Selanjutnya dinyatakan pula bahwa kecepatan produksi asam laktat dalam fermentasi asam laktat, salah satunya dipengaruhi jumlah bakteri asam laktat yang terdapat dalam medium tersebut. Semakin banyak jumlah bakteri asam laktat maka produksi asam laktat akan semakin cepat. Menurut Luis *et al.* (2003), fermentasi asam laktat homofermentatif dapat membiokonversi 1 molekul glukosa menjadi 2 molekul asam laktat.

Hasil pengamatan terhadap kandungan asam

laktat dalam medium fermentasi pada setiap perlakuan kecepatan agitasi terlihat bahwa kandungan asam laktat meningkat tajam dari jam ke-0 sampai jam ke-24 ($\pm 2\%$), kemudian setelah jam ke-24 peningkatan asam laktat relatif kecil ($\pm 0,5\%$), dan bahkan relatif tetap yaitu terjadi pada perlakuan (B) kecepatan agitasi 50 rpm. Hal ini disebabkan pada jam ke-0 sampai jam ke-24 tersebut pertumbuhan bakteri dalam medium fermentasi sangat cepat (Gambar 1) sehingga proses metabolismenya untuk memproduksi asam laktat juga meningkat dengan cepat (Gambar 2).

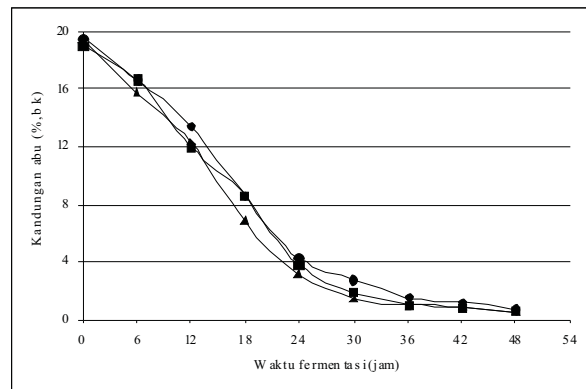
Pembentukan asam laktat dalam medium fermentasi juga mempengaruhi pH medium fermentasi. Nilai pH medium menurun seiring peningkatan pembentukan asam laktat (Gambar 2).

Pola penurunan nilai pH medium dari berbagai perlakuan kecepatan agitasi hampir sama untuk setiap perlakuan kecepatan agitasi yang diberikan. Polanya adalah terjadi penurunan nilai pH yang relatif cepat dari jam ke-0 sampai jam ke-24, setelah itu terjadi penurunan yang relatif lambat sampai akhir proses fermentasi. Pola ini berkorelasi negatif dengan yang diperlihatkan pada proses pembentukan asam laktat. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa pH yang terukur dalam medium fermentasi tersebut merepresentasikan tingkat keasaman dari pembentukan asam laktat.

Asam laktat yang terbentuk bereaksi dengan kalsium karbonat pada kulit udang yang ada dalam medium tersebut. Proses reaksi ini terus berlangsung selama proses fermentasi sehingga kalsium karbonat pada kulit udang semakin sedikit. Secara stokiometri, 2 mol asam laktat dapat bereaksi dengan sempurna 1 mol kalsium karbonat atau 1 mol kalsium. Dengan demikian, kebutuhan asam laktat untuk bereaksi sempurna dengan 1 gram kalsium diperlukan 4,5 gram asam laktat atau setara dengan 4,5 gram glukosa.

Penurunan kalsium dari kulit udang akibat pelarutan tersebut dapat diketahui dengan pengukuran kandungan abu kulit udang. Hasil pengamatan terhadap kandungan abu kulit udang selama proses fermentasi berlangsung dari berbagai perlakuan kecepatan agitasi menunjukkan pola penurunan yang drastis dari jam ke-0 sampai jam ke-24. Rata-rata lebih dari 80% kandungan abu kulit udang telah dapat dihilangkan (Gambar 4) selama itu dari setiap perlakuan kecepatan agitasi. Hal ini menunjukkan bahwa pada 24 jam pertama, terjadi proses reaksi yang cepat antara kalsium karbonat yang terdapat pada kulit udang dengan asam laktat yang dihasilkan dari biokonversi glukosa oleh bakteri *L. acidophilus* FNCC 116. Reaksi yang berlangsung cepat tersebut pertama disebabkan oleh kandungan kalsium karbonat pada kulit udang masih tinggi. Kedua, biokonversi glukosa menjadi asam laktat terjadi sangat cepat yang dapat dilihat dari

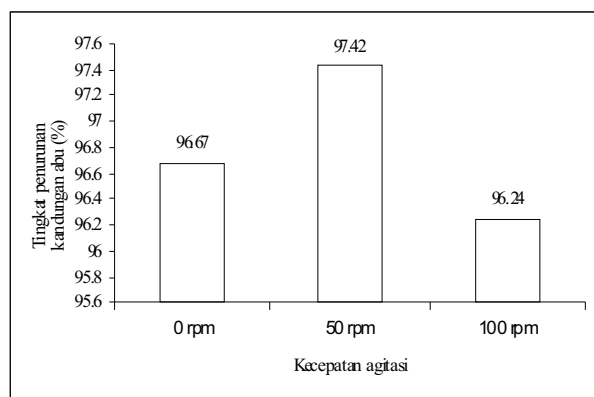
penurunan kandungan glukosa dalam medium fermentasi (Gambar 1).



Gambar 3. Penurunan kandungan abu kulit udang selama proses fermentasi pada berbagai perlakuan kecepatan agitasi (■ 50 rpm, ▲ 70 rpm, ● 90 rpm, ◆ 100 rpm)

Tingkat penurunan kandungan abu kulit udang selama proses demineralisasi dari setiap perlakuan berbeda-beda dan berkisar antara $96,24 \pm 0,06\%$ sampai $97,42 \pm 0,48\%$. Tingkat penurunan kandungan abu kulit udang tertinggi ($97,42\%$) diperoleh dari perlakuan kecepatan agitasi 50 rpm (Gambar 4). Hal ini karena perlakuan kecepatan agitasi 50 rpm memberikan kondisi proses fermentasi untuk pertumbuhan bakteri yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya (Gambar 1). Akibatnya, proses biokonversi glukosa menjadi asam laktat lebih cepat terutama antara jam ke-0 sampai jam ke-24 (Gambar 1 dan 2), sehingga proses penurunan kandungan abu kulit udang menjadi lebih cepat (Gambar 3). Pernyataan ini diperkuat dengan hasil analisis statistik.

Berdasarkan uji F pada taraf kepercayaan 95%, tingkat penurunan kandungan abu pada proses demineralisasi kulit udang sangat dipengaruhi oleh kecepatan agitasi yang diberikan. Selanjutnya berdasarkan uji Jarak Berganda Duncan taraf kepercayaan 95%, tingkat penurunan kandungan abu kulit udang dari setiap perlakuan adalah berbeda nyata. Rao and Steven (2005) melaporkan bahwa tingkat penurunan kandungan abu kulit udang pada ekstraksi kitin melalui fermentasi asam laktat dipengaruhi oleh pertumbuhan dan kemampuan bakteri membiokonversi glukosa menjadi asam laktat. Sementara itu Luis *et al.* (2003), menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri asam laktat yang bersifat mikroaerofilik dipengaruhi oleh kecepatan agitasi yang diberikan. Berdasarkan kedua laporan tersebut, bahwa agitasi mempengaruhi pertumbuhan bakteri, dan pertumbuhan bakteri mempengaruhi pembentukan asam laktat dari biokonversi glukosa. Kecepatan dan jumlah asam laktat yang terbentuk mempengaruhi besarnya tingkat dan kecepatan penurunan kandungan abu kulit udang.



Gambar 4. Tingkat penurunan kandungan abu kulit udang pada berbagai perlakuan kecepatan agitasi selama proses demineralisasi dengan lama waktu fermentasi 48 jam.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa kecepatan agitasi 50 rpm adalah tingkat kecepatan agitasi yang paling baik untuk proses demineralisasi kulit udang melalui fermentasi asam laktat menggunakan bakteri *L. Acidophilus* FNCC 116. Tingkat penurunan kandungan abu kulit udangnya diperoleh sebesar 97,42% selama 48 jam dengan konsentrasi inokulum, glukosa, dan substrat kulit udang masing-masing adalah 10% (v/v), 60 gr/L dan 30% (b/v).

Sementara itu, hasil penelitian demineralisasi kulit udang yang dilakukan Rao dan Stevens (2005), diperoleh tingkat penurunan kandungan abu sebesar 63% selama 24 jam. Penelitian yang dilakukannya menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum* 541, dengan konsentrasi inokulum, glukosa, dan subtract kulit udang masing-masing sebesar 10% (v/v), 50 gr/L, dan 10% (b/v).

SIMPULAN

Kecepatan agitasi untuk diperoleh tingkat penghilang mineral yang maksimal pada proses demineralisasi kulit udang secara biologis adalah 50 rpm. Tingkat penghilangan mineral tersebut dinyatakan dalam penurunan kandungan abu yaitu sebesar 97,42%.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Association of Official Analytical Chemistry, Inc. Arlington, Virginia.
- Bustos, R.O & M.G. Healy. 1994. Microbial Extraction of Chitin From Prawn Shell Waste. Proceeding From the 6 th International Conference on Chitin and Chitosan, Held in Gdynia, Poland, Agustus 16–19.
- Dhewanto, M & M.T.A.P. Kresnowati. 2002. Chitosan Industry, An Alternative for Maritime Industry Empowerment in Indonesia. ISSM Committee: ISTECS-Eropa : 327-333.
- Jung W.J, G.H. Jo, J.H. Kuk, K.Y. Kim, & R.D. Park. 2005. Extraction of Chitin from Red Crab Shell Waste by Cofermentation with *Lactobacillus paracasei* subsp KCTC-3074 and *Serratia marcescens* FS-3. App Microbiol Biotechnol, (3): 253–255.
- Lee, V & E. Tan. 2002. Enzymatic Hydrolysis of Prawn Shell Waste for The Purification of Chitin. Department of Chemical Engineering, Loughborough University. Available online at <http://www.lboro.ac.uk/>. (diakses 17 Mei 2007).
- Luis S.J.T., A.B. Moldes, J.L. Alonso, & M. Vazquez. 2003. Optimization of Lactic Acid Production by *Lactobacillus delbrueckii* through Response Surface Methodology. J. of Food Science, (68): 1454–1458.
- Rao, M.S., & W.F. Stevens. 2005. Chitin Production by *Lactobacillus* Fermentation of Shrimp Biowaste in a Drum Reactor and Its Chemical Conversion to Chitosan. J. Chemical Technology and Biotechnology, (80): 1080–1087.