

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara umum komponen penyusun kulit udang terdiri dari 3 (tiga) komponen utama yaitu kitin, protein, dan mineral (Rao et al., 2000). Pada percobaan ini digunakan kulit udang dari jenis vannamei (*Penaeus vannamei*) yang diperoleh dari pabrik pengolahan udang beku PT Wirantono Baru, berdasarkan hasil analisa proksimat terhadap kulit udang tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil pengujian komponen kulit udang vannamei

Parameter Uji	Komposisi
Kandungan air (%)	$70,5 \pm 0,54$
Kandungan abu (% , bk)	$20,25 \pm 0,06$
Kandungan protein (% , bk)	$20,28 \pm 0,05$
Kandungan kitin (% , bk)	$56,48 \pm 1,50$

Berdasarkan hasil pengujian proksimat terukur bahwa kitin merupakan komponen terbesar pada kulit udang vannamei yaitu sebesar 56,48%, abu (mineral) serta protein berkisar 20%, dan sisanya komponen lain. Dengan demikian, kulit udang vannamei dapat dijadikan alternative sumber kitin yang cukup baik selain kepiting dan rajungan yang memiliki kandungan kitin berkisar antara 13% - 33% (Synoweicki, J. et al, dan Al-Khateeb, N.A. et al, 2003).

Kitin pada kulit udang dapat diekstraksi dengan menghilangkan protein dan mineral, proses penyisihan protein disebut dengan proses deproteinasi sedangkan proses penyisihan mineral disebut dengan proses demineralisasi. Menurut Healy et al., (2003), kandungan protein dan mineral (abu) sangat menentukan terhadap kualitas dan harga kitin, apabila tingkat penyisihan protein dan mineral tinggi maka kandungan protein dan mineral kitin semakin kecil sehingga kualitas kitin semakin baik dan harga kitin makin tinggi.

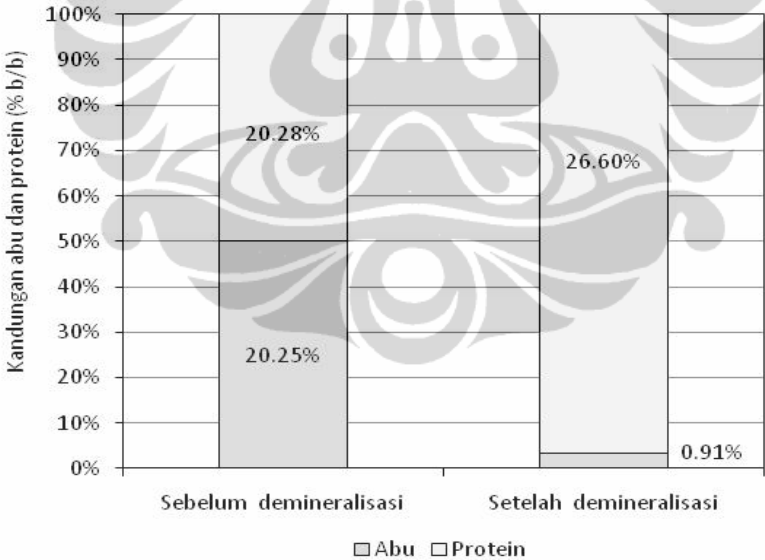
Proses deproteinasi dan demineralisasi dalam percobaan ini memanfaatkan kemampuan mikroba dalam mendegradasi protein dan mineral pada kulit udang, untuk proses deproteinasi digunakan *Bacillus licheniformis* F11.1 dan untuk

proses demineralisasi digunakan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116. Supaya didapatkan tingkat penyisihan protein dan mineral maksimal maka dilakukan percobaan proses demineralisasi dan deproteinasi secara kontinyu dengan berbagai variasi perlakuan waktu tinggal dan kadar substrat yang diumpangkan, sebagai tahap awal dilakukan percobaan proses demineralisasi dan deproteinasi secara *batch* sebagai tahapan untuk menentukan dimulainya proses kontinyu. Adapun hasil percobaan pendahuluan proses demineralisasi dan deproteinasi secara *batch* adalah sebagai berikut:

**4.1. Demineralisasi dan Deproteinasi Secara *Batch***

**4.1.1. Demineralisasi Kulit udang Secara *Batch***

Berdasarkan data hasil percobaan awal demineralisasi kulit udang secara biologis dengan sistem fermentasi *batch* menggunakan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116, kandungan mineral (abu) dan protein kulit udang selama 48 jam proses demineralisasi mengalami perubahan seperti tertera pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Perubahan kandungan abu dan protein selama proses demineralisasi secara *batch*

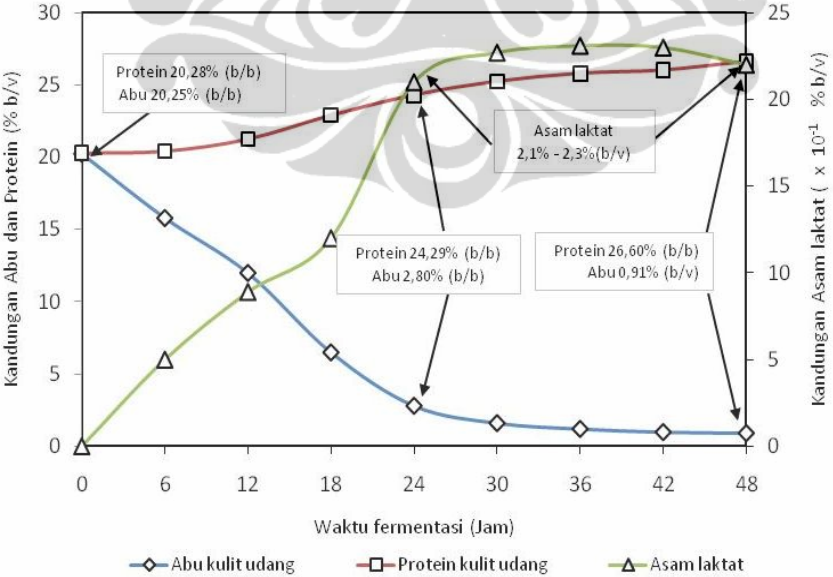
Kadar abu sebelum proses demineralisasi adalah 20,25% dan setelah 48 jam proses demineralisasi turun menjadi 0,91%, dengan tingkat penurunan kandungan abu kulit udang sebesar 95,51%. Penurunan kandungan abu dalam kulit udang tersebut sebagai hasil reaksi antara asam laktat dengan mineral kulit

udang (kalsium karbonat), seperti yang disampaikan oleh Jung et al., (2005) bahwa proses demineralisasi menggunakan bakteri asam laktat terjadi dalam dua tahapan yaitu tahap pertama adalah konversi glukosa menjadi asam laktat, dan tahap kedua asam laktat bereaksi dengan kalsium karbonat membentuk produk samping kalsium laktat seperti pada persamaan reaksi 4.1 dan 4.2:



Berdasarkan analisis data penurunan kandungan mineral di atas, menunjukkan bahwa mineral kalsium karbonat (CaCO<sub>3</sub>) yang dapat bereaksi dengan asam laktat (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>) hanya sebesar 19,34%, dan terkonversi dalam bentuk kalsium laktat (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Ca sekitar 4,99 gram.

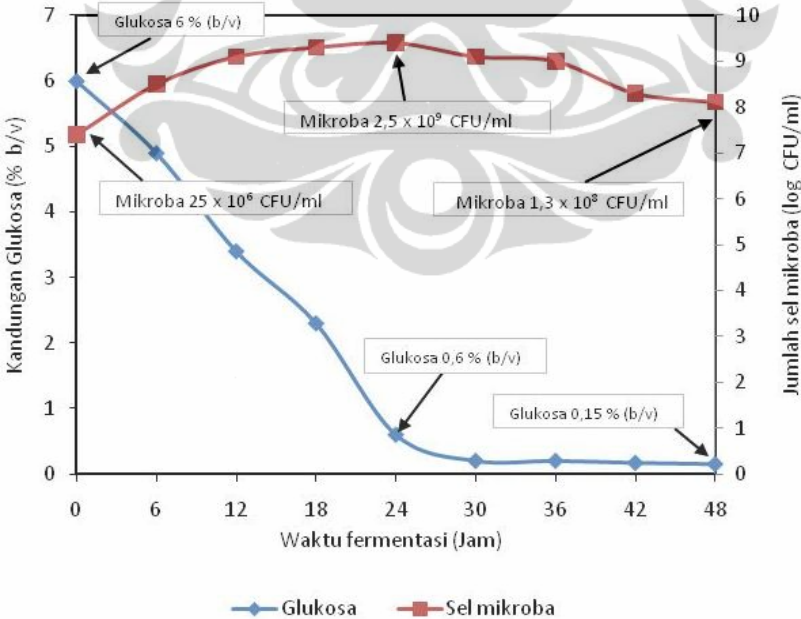
Sedangkan kandungan protein mengalami peningkatan dari 20,28% menjadi 26,60%, karena perubahan proporsi antara kandungan abu dengan protein dalam kulit udang, porsi kandungan abu menurun akibatnya porsi kandungan protein jadi meningkat, dan pada waktu perhitungan salah satu komponen pembagi yaitu abu mengalami penurunan.



Gambar 4.2. Perubahan kandungan abu, protein dan asam laktat selama proses demineralisasi secara batch

Pola perubahan kandungan abu, protein dan asam laktat selama proses demineralisasi secara *batch* terlihat pada Gambar 4.2, penurunan kandungan abu terjadi seiring dengan meningkatnya kandungan asam laktat dalam media fermentasi. Menurut Rao dan Steven (2006) bahwa *L.acidophilus* dapat mengkonversi glukosa menjadi asam laktat lebih dari 85%, mikroba ini termasuk golongan homofermentatif yang dapat mengkonversi 1 mol glukosa menjadi 2 mol asam laktat.

Asam laktat yang diproduksi *L. acidophilus* FNCC 116 hanya dapat menkonversi 19,34% kalsium karbonat dalam kulit udang atau hanya diperlukan sekitar 0,078 mol asam laktat, dari hasil analisis terdapat kelebihan produk asam laktat sekitar 2,3% atau sebesar 0,26 mol, kandungan asam laktat bebas relatif tetap pada kisaran sampai akhir proses, padahal masih ada tersisa mineral dalam kulit udang sekitar 0,91% yang belum tersisihkan, artinya laju reaksi dalam kondisi tunak. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh terjadinya kejenuhan produk samping kalsium laktat, sehingga menghambat laju reaksi antara asam laktat dengan kalsium karbonat, fenomena ini sering terjadi dalam fermentasi *batch*.



Gambar 4.3. Perubahan kandungan glukosa dan jumlah sel mikroba selama proses demineralisasi secara *batch*

Mikroba *L. acidophilus* FNCC 116 selama proses demineralisasi mengalami pertumbuhan yang cukup baik seperti pada Gambar 4.3, glukosa sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan mikroba terus mengalami penurunan hingga mencapai 0,6%, artinya glukosa yang digunakan untuk pertumbuhan dan perbanyakan sel, serta yang dikonversi menjadi asam laktat sekitar 5,4%, sehingga diperoleh mikroba sekitar  $2,5 \times 10^9$  CFU/ml dan asam laktat bebas sekitar 2,3%, dan diakhir fermentasi glukosa yang mampu dikonversi sekitar 5,85%, sehingga kandungan glukosa yang tersisa hanya sekitar 0,15%.

Menurut Shuller dan Kargi (2002), pada proses fermentasi *batch* pertumbuhan mikroba dibatasi oleh ketersediaan nutrisi, sehingga pada saat nutrisi mulai berkurang maka mikroba akan memasuki fase *stasioner* dan cenderung mengalami fase kematian. Hal ini terjadi pada penelitian proses demineralisasi yang telah dilakukan, akibat keterbatasan jumlah glukosa yang tersedia semakin berkurang, maka pada akhir proses terjadi penurunan jumlah mikroba menjadi  $1,3 \times 10^8$  CFU/ml.

Menurut hasil penelitian yang dilakukan Xu, et al (2008) bahwa bakteri asam laktat dapat digunakan untuk proses demineralisasi kulit udang, produk yang dihasilkan memiliki kandungan mineral sebesar 0,3% - 0,4% dan kandungan protein sebesar 5,8% - 6,7%. setelah 42 jam fermentasi. Sedangkan berdasarkan hasil percobaan demineralisasi menggunakan *L. acidophilus* FNCC 116 pada penelitian ini mampu menyisihkan mineral sebesar 95,51%, dengan kandungan mineral akhir sebesar 0,91%.

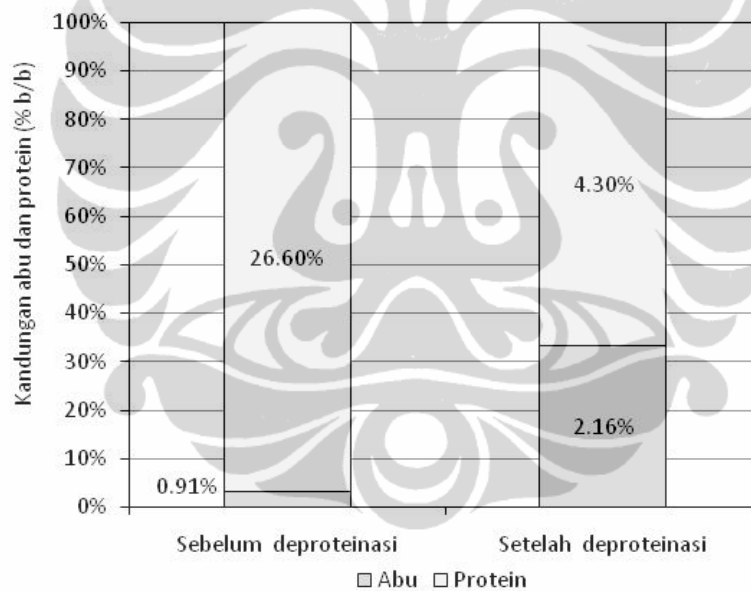
#### **4.1.2. Deproteinasi Kulit udang Secara *Batch***

Hasil percobaan proses deproteinasi menggunakan *Bacillus licheniformis* F11.1 selama 96 jam terjadi penyisihan kandungan protein yang cukup besar sekitar 83,83%, seperti pada Gambar 4.4, kandungan protein kulit udang sebelum proses deproteinasi adalah 26,6%, setelah proses turun menjadi 4,30%, penurunan kandungan protein terjadi akibat ikatan peptida dalam protein kulit udang terhidrolisis oleh enzim protease.

Menurut Waldeck et al., (2006) dan Junianto (2008), mikroba *Bacillus licheniformis* dapat menghasilkan enzim protease, yang mampu menghidrolisis ikatan peptida protein. Enzim tersebut bersifat endopetidase, artinya ikatan peptida yang dihidrolisis adalah ikatan peptida di bagian dalam rantai protein dengan reaksi sebagai berikut:



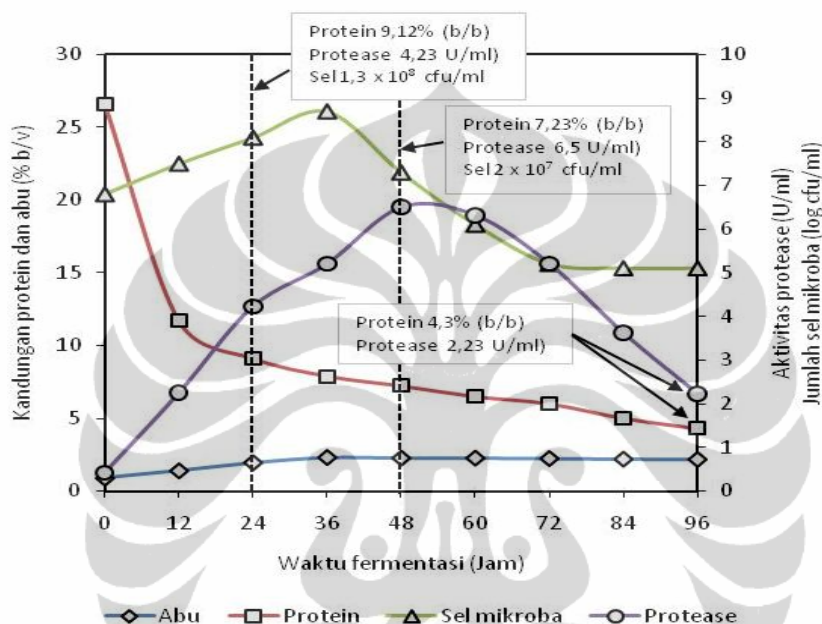
Kulit udang terdiri dari tiga komponen utama yaitu kitin, mineral dan protein, komponen protein dapat disisihkan melalui proses fermentasi menggunakan mikroba proteolitik, hal ini terjadi akibat rantai ikatan peptida protein terhidrolisis oleh enzim protease (Rao et al., 2000, Mahmoud et al., 2007, dan Aslak Einbu 2007).



Gambar 4.4. Tingkat perubahan kandungan protein dan abu selama proses deproteinasi secara *batch*

Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Waldeck, et al (2006), *B.licheniformis* dapat digunakan untuk proses deproteinasi kulit udang dengan kandungan protein akhir sebesar 0,8% - 3% setelah 142 jam fermentasi. Sedangkan kandungan abu mengalami peningkatan dari 0,91% jadi 2,16% setelah deproteinasi. Junianto (2008) menggunakan *B.licheniformis* F11.1 mampu menyisihkan protein sebesar 92,42%.

Tingkat penyisihan protein selama proses deproteinasi sistem *batch* relatif masih rendah yaitu masih sekitar 83,83%, pada Gambar 4.5 selama 24 jam pertama protein cepat terhidrolisis yaitu dari 26,60% menjadi 9,12%, tetapi 72 jam berikutnya reaksi berjalan lambat sehingga protein yang terhidrolisis semakin sedikit, sehingga diakhir proses pada jam ke 96 protein yang tersisa hanya mencapai 4,3%.



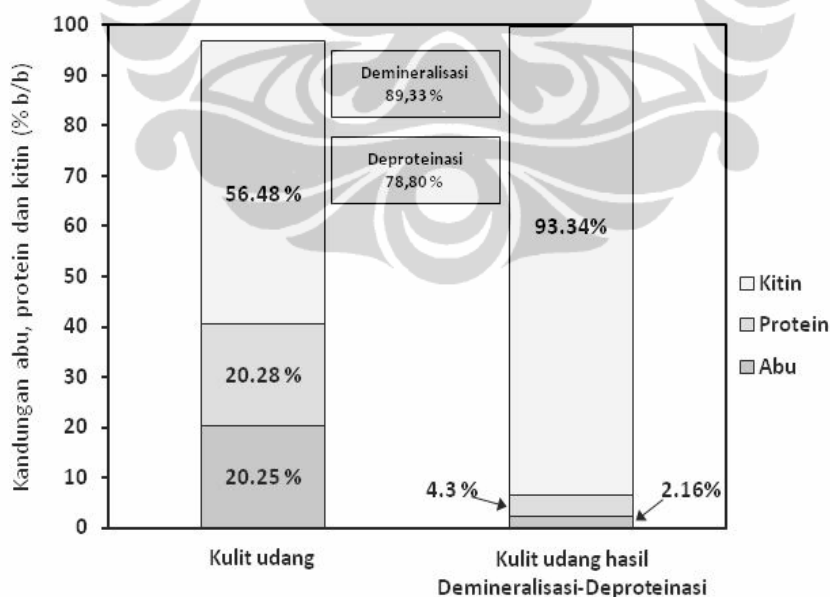
Gambar 4.5. Perubahan kandungan protein, abu, protease dan jumlah mikroba selama proses deproteinasi secara *batch*

Fenomena ini dapat disebabkan oleh beberapa hal, menurut Aslak Einbu (2007) lapisan kulit udang tersusun dari beberapa lapisan *cuticle* yang terdiri dari serat kitin-protein yang membentuk lapisan-lapisan horizontal yang saling silang, pada awal fermentasi yang terhidrolisis adalah protein pada lapisan-lapisan terluar, semakin dalam maka penetrasi enzim akan semakin kurang, dan waktu yang diperlukan untuk menghidrolisis protein pada lapisan terdalam semakin lama, sehingga protein yang terhidrolisis semakin sedikit.

Menurut Shuller dan Kargi (2002), dalam suatu reaksi enzimatik kecepatan reaksi sangat dipengaruhi oleh ketersediaan substrat dan produk akhir yang terbentuk, pada saat produk akhir yang terbentuk mendekati titik jenuh maka reaksi enzimatik akan berjalan lambat, bahkan produk akhir yang berlebih akan menghambat laju aktivitas enzimatik.

Aktivitas protease pada jam ke 24 mencapai 4,23 U/ml, dan memasuki jam ke 48 aktivitas protease mencapai nilai tertinggi yaitu 6,5 U/ml, akibat adanya peningkatan aktivitas enzim, maka kandungan protein kembali turun menjadi 7,23%. Ada kecenderungan peningkatan aktivitas enzim pada jam ke 48, bukan disebabkan hasil aktivitas mikroba, tetapi enzim yang berasal dari lisisnya cairan sel mikroba yang mati, sehingga enzim yang terdapat dalam cairan sel masuk ke dalam media fermentasi. Hal ini terjadi karena setelah jam ke 36, sel mikroba mulai memasuki fase kematian sehingga di akhir proses mikroba yang tersisa hanya sekitar  $1,26 \times 10^5$  CFU/ml.

Fenomena ini sesuai dengan hasil percobaan Waldeck, et al (2006), *B.licheniformis* mampu menghasilkan protease yang dapat digunakan untuk proses deproteinasi kulit udang, aktivitas enzim tertinggi terjadi pada awal sampai akhir fase *stasioner* yaitu jam ke 24 - 35 sebesar 60 U/ml. Sedangkan percobaan yang dilakukan Junianto (2008), mikroba *B. Licheniformis* F11.1 mampu menghasilkan protease dengan aktivitas tertinggi pada jam ke 24 - 36 sebesar 15,28 U/ml.



Gambar 4.6. Karakteristik kitin hasil demineralisasi-deproteinasi secara simultan pada fermentasi *batch*



Berdasarkan hasil percobaan proses demineralisasi secara *batch* menggunakan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 selama 48 jam, dapat menyisihkan mineral sebesar 89,33%, dan proses deproteinasi secara *batch* menggunakan *Bacillus licheniformis* F11.1 selama 96 jam, dapat menyisihkan protein sebesar 78,80%. Produk akhir yang diperoleh memiliki kandungan kitin 93,34%, abu 2,16% dan protein 4,3% (Gambar 4.6).

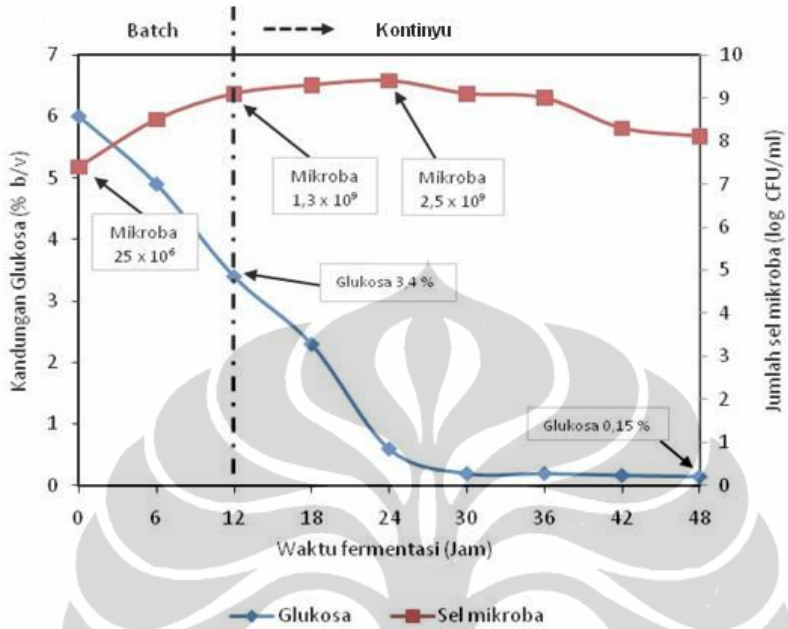
#### 4.1.3. Penentuan Awal Dimulainya Proses Kontinyu

Setelah dilakukan percobaan awal proses demineralisasi dan deproteinasi secara *batch*, maka percobaan selanjutnya adalah proses demineralisasi dan deproteinasi kulit udang secara kontinyu, menggunakan mikroba *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 dan *Bacillus licheniformis* F11.1, dengan harapan melalui fermentasi kontinyu produktivitas ke dua mikroba dapat dimaksimalkan, karena ada asupan nutrisi atau substrat secara terus-menerus, dan produk samping yang dapat menghambat laju reaksi terus ke luar sistem, sehingga laju konversi abu dan protein kulit udang selama proses fermentasi tetap tinggi.

Menurut Shuller dan Kargi (2002), pola pertumbuhan mikroba dalam sistem fermentasi *batch* dibagi menjadi 4 (empat) fase, yaitu: Pertama fase lag, yang merupakan fase adaptasi mikroba dengan kondisi lingkungannya; Ke-dua fase logaritmik atau eksponensial, pada fase ini mikroba mengalami pertumbuhan dan perbanyak sel yang cepat; Ke-tiga fase stasioner, pada fase ini jumlah sel yang tumbuh dan yang mati berimbang; dan Ke-empat fase kematian, pada fase ini jumlah mikroba yang mati lebih banyak dari pada yang tumbuh. Ketersediaan nutrisi dalam sistem fermentasi *batch* menjadi penentu dalam setiap fase pertumbuhan mikroba tersebut.

Penentuan awal proses demineralisasi secara kontinyu, mengacu pola pertumbuhan mikroba *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116, dan penurunan kandungan glukosa selama proses demineralisasi secara *batch*, seperti pada Gambar 4.7. Berdasarkan hasil percobaan, pertumbuhan mikroba selama proses demineralisasi mengalami fase eksponensial dari jam ke 0 sampai akhir jam ke

12, fase stasioner mulai jam ke 16 sampai jam ke 30, dan fase kematian mulai jam ke 35 sampai jam ke 48.



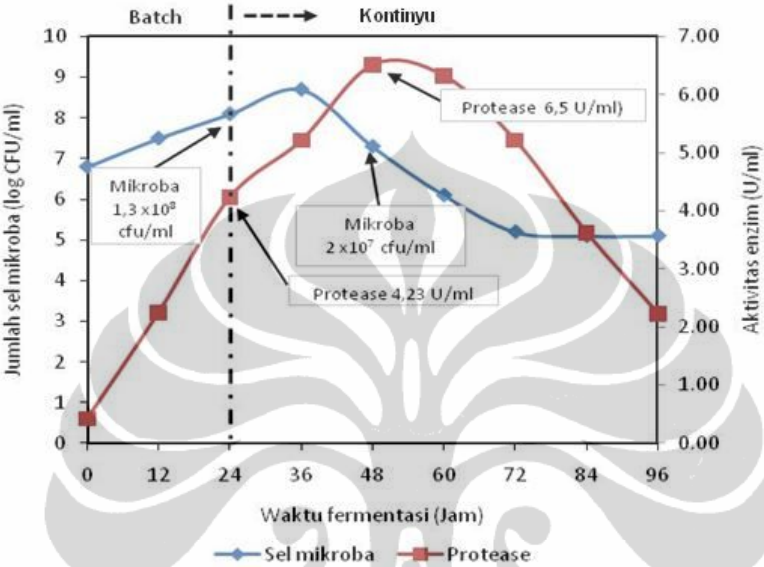
Gambar 4.7. Skematik proses demineralisasi secara kontinyu berdasarkan proses demineralisasi sistem *batch*

Berdasarkan pola tersebut maka awal dimulainya proses demineralisasi secara kontinyu adalah jam ke 12 jam, karena pada jam tersebut pertumbuhan sel akan memasuki akhir fase eksponensial dan glukosa yang tersisa sekitar 30%. Pada fase ini suplai nutrisi sangat diperlukan untuk pertumbuhan dan penambahan jumlah masa sel, sehingga viabilitas dan produktivitasnya tetap tinggi, dan dapat dipertahankan sampai akhir proses.

Awal proses deproteinasi secara kontinyu mengacu pada pola pertumbuhan *Bacillus licheniformis* F11.1 selama deproteinasi secara *batch*, seperti pada Gambar 4.8. Berdasarkan hasil percobaan pola pertumbuhan mikroba tersebut memasuki fase eksponensial mulai jam ke 0 sampai akhir jam ke 24, fase stasioner mulai awal jam ke 30 sampai akhir jam ke 36, dan fase kematian mulai akhir jam ke 36.

Berdasarkan pola tersebut maka proses deproteinasi secara kontinyu dimulai saat memasuki jam ke 24, karena pada jam tersebut sel mulai memasuki akhir fase eksponensial. Seperti telah diuraikan di atas bahwa fase pertumbuhan

dan jumlah mikroba sangat tergantung pada ketersediaan nutrisi, maka umpan nutrisi pada fase ini sangat diperlukan supaya jumlah mikroba, viabilitas dan produktivitas tetap tinggi, dan produk samping dapat dikeluarkan secara terus-menerus, sehingga proses deproteinasi dapat terus meningkat.



Gambar 4.8. Skematik proses deproteinasi secara kontinyu berdasarkan proses deproteinasi secara batch

**4.1.4. Penentuan Konsentrasi Nutrisi Umpan dan Waktu Tinggal**

Penentuan konsentrasi glukosa sebagai nutrisi yang diumpankan pada proses demineralisasi kontinyu menggunakan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116, berdasarkan pendekatan hubungan antara rendemen mikroba ( $Y_{X/S}$ ) dengan perubahan jumlah mikroba ( $\Delta X$ ), dan perubahan konsentrasi nutrisi ( $\Delta S$ ). Serta hubungan antara jumlah mikroba maksimum ( $X_{max}$ ) yang diharapkan selama proses berlangsung, dengan jumlah mikroba awal ( $X_0$ ), rendemen mikroba, dan konsentrasi nutrisi awal ( $S_0$ ). Menurut Shuler dan Kargi (2002), rendemen mikroba ( $Y_{X/S}$ ) dan jumlah mikroba maksimum ( $X_{max}$ ), ditentukan berdasarkan persamaan 4.1 dan 4.2:

$$Y_{X/S} = - \frac{\Delta X}{\Delta S} \tag{4.1}$$

$$X_{max} = X_0 + Y_{X/S} S_0 \tag{4.2}$$

Berdasarkan hasil analisa terhadap perubahan jumlah mikroba selama 24 jam pertama pada proses demineralisasi, diperoleh nilai  $\Delta X = 2,49 \times 10^{12}$  CFU/L, dan perubahan konsentrasi glukosa  $\Delta S = 54$  g/L, maka rendemen mikroba *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 selama 24 jam proses demineralisasi secara *batch* sebesar  $Y_{X/S} = 46,11 \times 10^6$  CFU/g glukosa. Jumlah sel yang diharapkan selama proses demineralisasi secara kontinyu, adalah  $X_{\max} = 3 \times 10^{12}$  CFU/L, jika jumlah mikroba awal ( $X_0$ ) sebanyak  $25 \times 10^9$  CFU/L, maka konsentrasi glukosa awal ( $S_0$ ) yang diperlukan sebesar  $S_0 = 64,65$  g/L atau 6,5% (b/v).

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, maka percobaan demineralisasi kulit udang secara kontinyu dengan menggunakan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116, dicobakan variasi konsentrasi glukosa yang diumpangkan yaitu 2,5%; 5,0%; 6,5% dan 9,0% (b/v), variasi konsentrasi tersebut diperlukan untuk mengkaji kebutuhan minimum dan konsentrasi maksimum yang dapat di gunakan oleh mikroba tersebut, dan pengaruhnya terhadap proses demineralisasi.

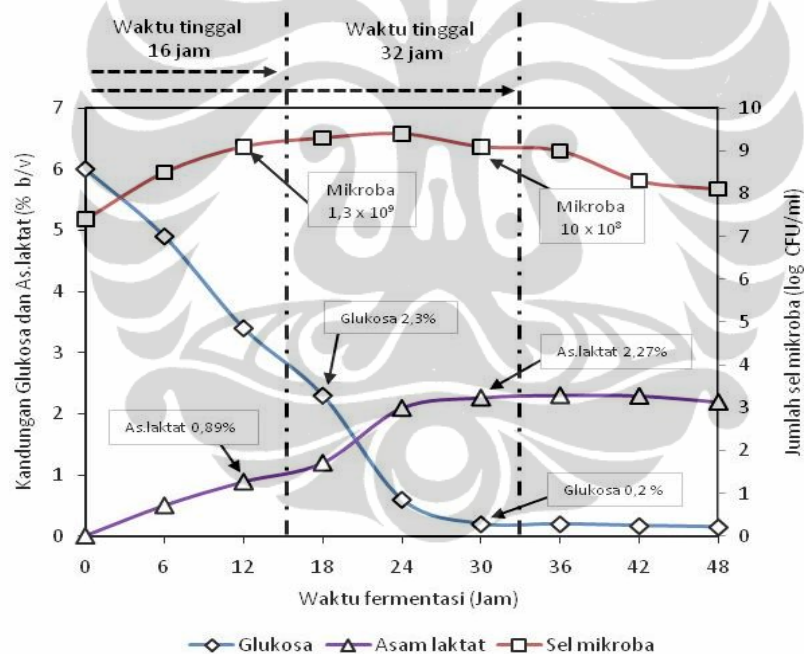
Hasil penelitian yang menjadi bahan pertimbangan untuk menentukan variasi konsentrasi glukosa, diantaranya hasil penelitian Rao dan Steven (2005), bahwa proses ekstraksi kitin dalam reaktor drum menggunakan mikroba *Lactobacillus plantarum* diperlukan glukosa sebanyak 5,0%, kemudian Ling et al., (2006), untuk produksi asam laktat secara kontinyu menggunakan *Lactobacillus rhamnosus* digunakan glukosa 4,0% – 5,0%, serta Junianto (2008) untuk proses demineralisasi dengan *subsequent-batch* menggunakan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 digunakan glukosa 6,0%.

Sedangkan nutrisi yang diumpangkan pada proses deproteinasi secara kontinyu menggunakan *Bacillus licheniformis* F11.1, adalah ekstrak khamir 0,5% (b/v), karena dengan konsentrasi tersebut cukup untuk memenuhi keperluan nutrisi bagi pertumbuhan sel, dan selama proses deproteinasi akan dihasilkan protein sebagai produk samping yang dapat digunakan kembali sebagai sumber nutrisi oleh mikroba tersebut.

Selain itu, berdasarkan hasil penelitian Waldeck et al., (2006), selama proses deproteinasi menggunakan *Bacillus licheniformis* pada sistem fermentasi

*batch* dengan media 0,5% ekstrak khamir, telah mampu menghasilkan kitin dengan kandungan protein 0,8%, dan Junianto (2008) melakukan proses deproteinasi menggunakan *Bacillus licheniformis* F11.1 pada sistem fermentasi *subsequent-batch*, dengan media 0,5% ekstrak khamir dapat menghasilkan kitin dengan kandungan protein 1,42%.

Waktu tinggal untuk proses demineralisasi secara kontinyu ditentukan berdasarkan pola pertumbuhan mikroba dan produktivitasnya. Seperti pada Gambar 4.9, pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 selama proses demineralisasi secara *batch*, memasuki akhir fase eksponensial pada akhir jam ke 12, dan memasuki fase stasioner mulai jam ke 16 sampai jam ke 30, dan fase kematian mulai jam ke 35 sampai jam ke 48.



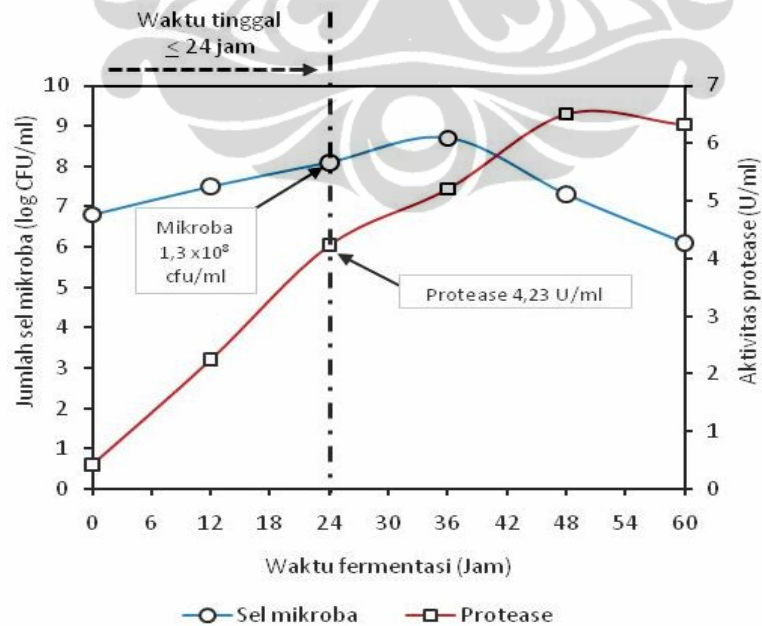
Gambar 4.9. Skematik penentuan waktu tinggal proses demineralisasi secara kontinyu

Sedangkan konsumsi glukosa meningkat sampai akhir jam ke 24 sehingga glukosa hanya tersisa sekitar 0,3%, selanjutnya konstan sampai akhir proses. Selain itu menurut hasil penelitian Junianto (2008) produksi asam laktat dari *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116, mengalami peningkatan tertinggi mulai jam ke 16 sampai jam ke 24, dan 24 jam berikutnya cenderung konstan. Berdasarkan analisa pola fase pertumbuhan mikroba, konsumsi glukosa dan produksi asam

laktat tersebut, maka waktu tinggal untuk pada proses demineralisasi secara kontinyu adalah selama 16 jam dan 32 jam.

Sementara itu, berdasarkan hasil percobaan deproteinasi kulit udang secara *batch*, waktu tinggal ditentukan berdasarkan pola pertumbuhan mikroba dan produktivitasnya dalam menghasilkan protease. Seperti pada Gambar 4.10, pola pertumbuhan *Bacillus licheniformis* F11.1, memasuki akhir fase eksponensial pada jam ke 24, dan memasuki fase stasioner awal jam ke 30. Produksi protease meningkat sampai akhir jam ke 36, sedangkan kenaikan protease setelah jam ke 36, kemungkinan akibat tambahan enzim dari lisis masa sel yang mati.

Hasil penelitian Junianto (2008) juga menjadi bahan pertimbangan, bahwa pola pertumbuhan *Bacillus licheniformis* F11.1 selama 60 jam proses deproteinasi, memasuki fase akhir eksponensial pada akhir jam ke 12, dan fase stasioner terjadi pada awal jam ke 18 sampai akhir jam ke 24. Sedangkan produksi protease mengalami kenaikan sampai jam ke 30. Berdasarkan fakta dan hasil analisa yang disampaikan di atas, maka waktu tinggal selama proses deproteinasi kontinyu harus  $\leq 24$  jam (yaitu: 6 jam; 12 jam dan 24 jam), hal ini untuk menjaga produktivitas, viabilitas dan jumlah sel *B. licheniformis* F11.1 tetap tinggi.



Gambar 4.10. Skematik penentuan waktu tinggal untuk proses deprotenasi secara kontinyu

Lamanya waktu tinggal suatu media atau mikroba dalam sistem fermentasi kontinyu, sangat dipengaruhi oleh kecepatan laju alir masa yang masuk dan ke luar sistem, serta besarnya volume proses. Pendekatan perhitungan kecepatan laju alir masa yang diumpankan selama proses kontinyu disesuaikan dengan waktu tinggal yang diharapkan, menurut Shuller dan Kargi (2002) hubungan antara laju alir (F), waktu tinggal ( $R_t$ ) dan volume kerja proses fermentasi (V), ditentukan berdasarkan persamaan 4.3:

$$F = \frac{V}{R_t} \quad (4.3)$$

Seperti telah diuraikan sebelumnya bahwa waktu tinggal ( $R_t$ ) untuk proses demineralisasi secara kontinyu adalah 16 jam dan 32 jam, sedangkan volume kerja demineralisasi  $V = 5000$  ml, maka berdasarkan persamaan 4.3, laju alir nutrisi glukosa (F) yang sesuai dengan waktu tinggal tersebut sekitar 5,21 ml/menit dan 2,6 ml/menit.

Ketersediaan nutrisi untuk pertumbuhan dan produktivitas mikroba selama proses deproteinasi kontinyu mutlak diperlukan, untuk itu perlu dilakukan umpan nutrisi ke dalam sistem fermentasi secara terus menerus, serta untuk menjaga agar laju deproteinasi tetap tinggi maka produk samping yang dapat menghambat laju reaksi perlu dikeluarkan dari sistem fermentasi.

Untuk menentukan kecepatan laju alir nutrisi yang diumpankan selama proses deproteinasi secara kontinyu, ditentukan melalui pendekatan hubungan antara laju alir (F), waktu tinggal ( $R_t$ ), dan volume kerja proses deproteinasi (V). Seperti telah diuraikan sebelumnya, bahwa waktu tinggal ( $R_t$ ) untuk proses deproteinasi secara kontinyu adalah 6 jam, 12 jam dan 24 jam, sedangkan volume kerja deproteinasi  $V = 5000$  ml, maka berdasarkan persamaan 4.3, laju alir nutrisi (F) yang diperlukan sekitar 13,89 ml/menit, 6,94 ml/menit, dan 3,47 ml/menit,

#### 4.2. Percobaan Demineralisasi dan Deproteinasi Kulit udang Secara Kontinyu

Berdasarkan hasil percobaan demineralisasi kulit udang dengan sistem fermentasi *batch* menggunakan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 selama 48 jam, dapat menurunkan kandungan abu dari 20,25% menjadi 0,91%, dengan tingkat penurunan abu sebesar 95,51%, dan diakhir proses deproteinasi kandungan abu menjadi 2,16% (tingkat penurunan abu produk akhir 89,33%).

Pada poses deproteinasi secara *batch* menggunakan *Bacillus licheniformis* F11.1 selama 96 jam, dapat menurunkan protein dari 26,60% menjadi 4,3% (tingkat penurunan protein sebesar 83,83%). Produk akhir yang diperoleh dari proses demineralisasi dan deproteinasi sistem fermentasi *batch* memiliki yield sekitar  $\pm 50\%$ , kandungan kitin 93.34%, abu 2,16%, dan protein 4,3% (b/b).

Hasil percobaan ini belum mencapai target yang diharapkan untuk memperoleh produk akhir dengan tingkat penurunan mineral dan protein minimal 97%, kandungan abu dan protein maksimal 1,5%.

Proses fermentasi *batch* memiliki beberapa kelemahan, diantaranya keterbatasan jumlah substrat atau nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan sel, sehingga jumlah serta produktivitas sel tidak dapat maksimal, selain itu terjadinya akumulasi produk samping yang dapat menghambat laju reaksi demineralisasi maupun deproteinasi.

Fenomena ini terjadi pada proses demineralisasi dan deproteinasi secara *batch* yang telah dilakukan pada percobaan ini. Secara umum setelah melewati jam ke 24, jumlah substrat glukosa dan *yeast extract* sudah berkurang, sehingga sel mikroba cepat mencapai fase stasioner menuju ke fase kematian, serta produktivitasnya mulai menurun.

Selain itu terjadi akumulasi kalsium laktat dan hidrolisat protein sebagai produk samping yang dapat menghambat laju reaksi antar reaktan, sehingga asam laktat tidak lagi dapat bereaksi dengan kalsium karbonat, dan enzim protease tidak



dapat lagi menghidrolisis protein. Hal ini berdampak pada berkurangnya laju penurunan abu dan protein, bahkan cenderung konstan.

Dengan melakukan sistem fermentasi *subsequent-batch* (fermentasi *batch* berturut-turut), Junianto (2008) telah berhasil memperoleh kitin 97,26% dengan kandungan abu 0,84 % dan protein 1,42%. Sistem fermentasi ini dilakukan dengan mengganti media fermentasi pada jam ke 24 dengan 100% media baru, baik pada proses demineralisasi maupun deproteinasi. Hal ini dilakukan untuk mengurangi akumulasi produk samping. Tetapi sistem ini menjadi tidak praktis karena sama halnya melakukan dua kali fermentasi *batch*, sehingga perlu dilakukan percobaan proses demineralisasi dan deproteinasi secara kontinyu.

Untuk memperoleh kondisi proses kontinyu yang optimal maka perlu dilakukan optimasi proses demineralisasi dan deproteinasi, maka pada percobaan ini telah dilakukan optimasi proses demineralisasi dan deproteinasi kontinyu, dengan parameter optimasi konsentrasi nutrisi dan waktu tinggal nutrisi umpan.

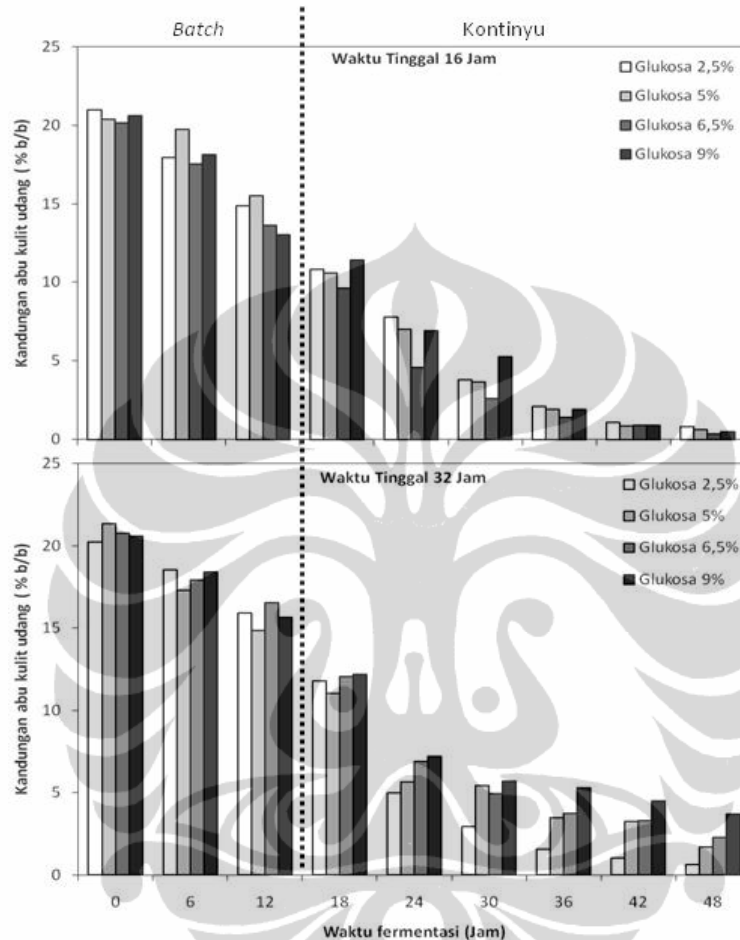
#### **4.2.1. Optimasi Demineralisasi Kulit udang Secara Kontinyu**

Kalsium merupakan mineral yang banyak terkandung pada kulit udang dalam bentuk kalsium karbonat (Rao et al., 2000). Menurut Aslak Einbu (2007), matriks protein dan kitin dalam kulit udang diperkuat oleh keberadaan kalsium karbonat, sehingga untuk mempermudah perolehan kitin dari kulit udang perlu dilakukan proses penyisihan mineral atau demineralisasi dengan memanfaatkan kemampuan bakteri asam laktat.

Pada percobaan ini, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 digunakan untuk mengurangi mineral yang terdapat dalam kulit udang melalui proses fermentasi kontinyu. Bakteri ini termasuk kelompok bakteri asam laktat homofermentatif yaitu bakteri yang dapat mengkonversi glukosa menjadi asam laktat sebagai produk utamanya (Junianto, 2008).

Untuk meningkatkan kemampuan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 selama proses demineralisasi kulit udang pada fermentasi kontinyu perlu

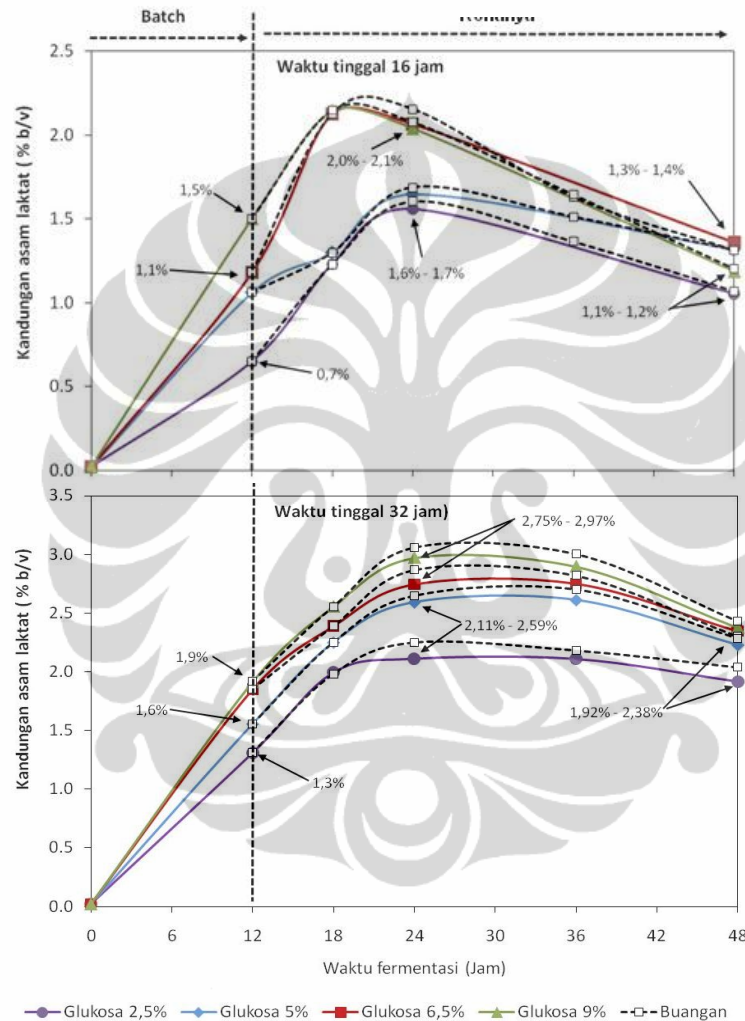
dilakukan optimasi konsentrasi nutrisi glukosa yang diumpankan dan lama waktu tinggalnya, adapun konsentrasi glukosa yang dioptimasi pada percobaan ini adalah 2,5%; 5%; 6,5% dan 9% b/v, dengan waktu tinggal 16 jam dan 32 jam.



Gambar 4.11. Perubahan kandungan abu pada berbagai konsentrasi glukosa umpan dengan waktu tinggal 16 jam dan 32 jam

Kandungan abu per perlakuan glukosa pada waktu tinggal 16 jam dan 32 jam seperti pada Gambar 4.11, bahwa umpan glukosa 6,5% dengan waktu tinggal 16 jam menunjukkan pola penurunan abu yang lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya, hal ini terbukti dengan capaian tingkat penurunan abu pada 12 jam pertama proses kontinyu telah mencapai 77,33% yaitu dari 20,15% menjadi 4,57% b/b, dan di akhir proses mencapai 98,35% yaitu turun menjadi 0,33% b/b, sedangkan pada perlakuan glukosa lainnya 12 jam pertama proses kontinyu penurunan abu rata-rata mencapai 64,96% yaitu dari 20,66% menjadi 7,24% b/b, dan diakhir proses sekitar 97,16% yaitu turun menjadi 0,63% b/b.

Demineralisasi kontinyu pada waktu tinggal 32 jam, umpan glukosa 2,5% memberikan penurunan kandungan abu pada 12 jam pertama sekitar 75,48%, diakhir proses sekitar 96,90% yaitu dari 20,26% turun menjadi 0,63%, dibandingkan perlakuan glukosa lainnya yang hanya sekitar 68,50% dan di akhir proses 87,71% yaitu dari 20,90% turun menjadi 2,56%.



Gambar 4.12. Perubahan kandungan asam laktat selama proses demineralisasi kontinyu dengan waktu tinggal 16 jam dan 32 jam

Kandungan asam laktat selama optimasi proses demineralisasi kontinyu dengan waktu tinggal 16 jam dan 32 jam, dapat terlihat pada Gambar 4.12, glukosa dengan berbagai variasi konsentrasi mulai diumpankan memasuki jam ke 12 demineralisasi *batch*, kandungan asam laktat bebas dalam media fermentasi dengan waktu tinggal 16 jam pada awal proses kontinyu dihasilkan sekitar 0,7% -

1,5%, setelah 12 jam proses kontinyu kandungan asam laktat bebas naik jadi 1,6% - 2,1% atau meningkat lebih dari 50%, tetapi selama 24 jam selanjutnya sampai akhir proses terjadi penurunan kandungan asam laktat jadi sekitar 1,1% - 1,4% atau turun rata-rata hampir 33%.

Sedangkan pada perlakuan waktu tinggal 32 jam memiliki kandungan asam laktat lebih tinggi, pada awal proses kontinyu kandungan asam laktat sekitar 1,3% - 1,9%, dan setelah 12 jam proses kontinyu kandungan asam laktat naik jadi 2,11% - 2,97% atau meningkat hampir 57%, tetapi selama 24 jam selanjutnya sampai akhir proses penurunan kandungan asam laktat tidak begitu besar hanya sekitar 1,92% - 2,38% atau turun rata-rata 15%.

Berdasarkan pola penurunan kandungan abu, glukosa, dan asam laktat pada tiap perlakuan waktu tinggal, terlihat bahwa pada perlakuan waktu tinggal 32 jam laju penyisihan mineral berjalan lambat, kemungkinan akibat terjadinya akumulasi produk samping kalsium laktat, sisa glukosa, dan sisa asam laktat. Hal ini terbukti dengan ditingkatkannya laju alir sehingga waktu tinggal lebih cepat menjadi 16 jam, maka laju reaksi berlangsung lebih cepat, karena tidak terjadi akumulasi produk samping, sisa glukosa dan sisa asam laktat yang berlebih.

Fenomena ini sesuai dengan pendapat Shuller dan Kargi (2002), bahwa terjadinya akumulasi produk samping dan substrat secara berlebih dalam sistem fermentasi dapat menghambat laju reaksi.

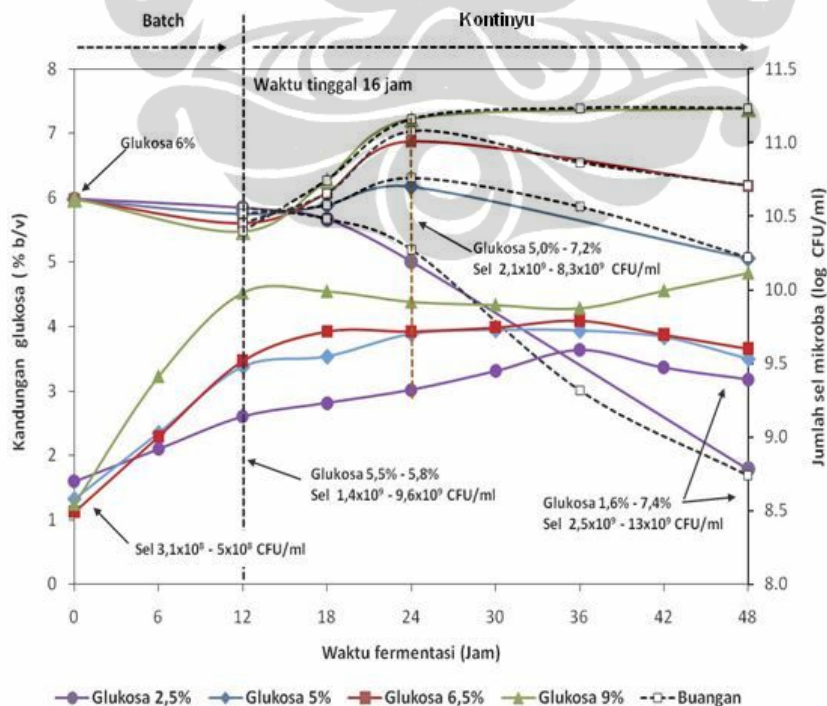
Keberadaan asam laktat tersebut berpengaruh terhadap kandungan mineral kulit udang, seperti beberapa hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Lee dan Tan (2002), Beaney et al (2005), Mahmoud et al (2007), Khanafari et al (2008), dan Junianto (2008) menyatakan bahwa mineral kulit udang dapat bereaksi dengan asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat membentuk produk samping mineral-laktat.

Sejalan dengan hasil percobaan ini, pada waktu tinggal 16 jam saat memasuki jam ke 12 setelah proses kontinyu terjadi penurunan kandungan abu kulit udang yang cukup tinggi sekitar 75,48% - 77,33%, hal ini sebagai pengaruh

dari peningkatan asam laktat yang mencapai sekitar 50% - 57%. Sedangkan selama 24 jam berikutnya terjadi peningkatan reaksi antara asam laktat dengan mineral kulit udang, yang ditandai dengan menurunnya sisa asam laktat sekitar 33%, sehingga demineralisasi dapat mencapai rata-rata 97,29%.

Penurunan kandungan abu pada waktu tinggal 32 jam hanya mencapai rata-rata 90,01%. Perbedaan penurunan kandungan abu antara ke dua waktu tinggal di atas, kemungkinan besar disebabkan oleh adanya akumulasi glukosa, asam laktat dan produk samping. Pada waktu tinggal 32 jam terjadi akumulasi lebih tinggi dibandingkan waktu tinggal 16 jam, sehingga cepat mencapai kejenuhan yang menghambat laju reaksi.

Pertumbuhan *L. acidophilus* FNCC 116 selama optimasi demineralisasi kontinyu pada perlakuan waktu tinggal 16 jam, dapat dilihat pada Gambar 4.13. Setelah proses kontinyu, mikroba mengalami peningkatan dari  $(1,4 \text{ s/d } 9,6) \times 10^9$  cfu/ml menjadi  $(1,7 \text{ s/d } 9,8) \times 10^9$  cfu/ml, memasuki jam ke 24 mikroba mulai memasuki fase stasioner. Hal ini ditandai dengan jumlah sel mikroba yang cenderung tetap sampai akhir proses kontinyu sekitar  $(2,1 \text{ s/d } 13) \times 10^9$  cfu/ml.

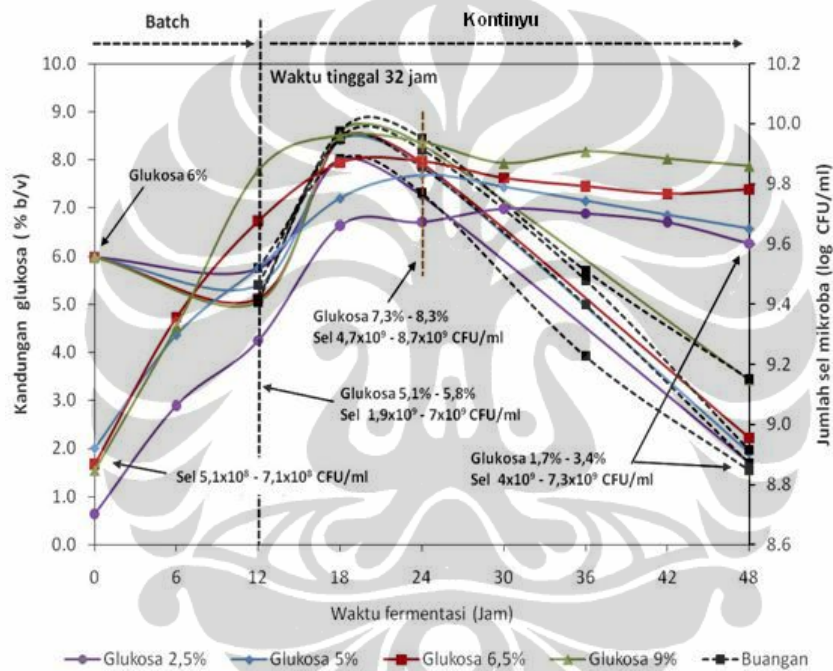


Gambar 4.13. Perubahan kandungan glukosa dan jumlah sel mikroba pada

Universitas Indonesia

berbagai konsentrasi glukosa umpan selama proses demineralisasi dengan waktu tinggal 16 jam

Menurut hasil penelitian yang dilakukan Ling et al (2006) bahwa pertumbuhan mikroba *Lactobacillus rhamnosus* memasuki fase stasioner setelah 12 jam proses kontinyu, produksi asam laktat dan laju konsumsi glukosa juga cenderung tetap. Hal ini sejalan dengan percobaan ini, pertumbuhan *L. acidophilus* FNCC 116 mencapai fase stasioner setelah 12 jam proses kontinyu, laju konsumsi glukosa dan produksi asam laktat mulai konstan.



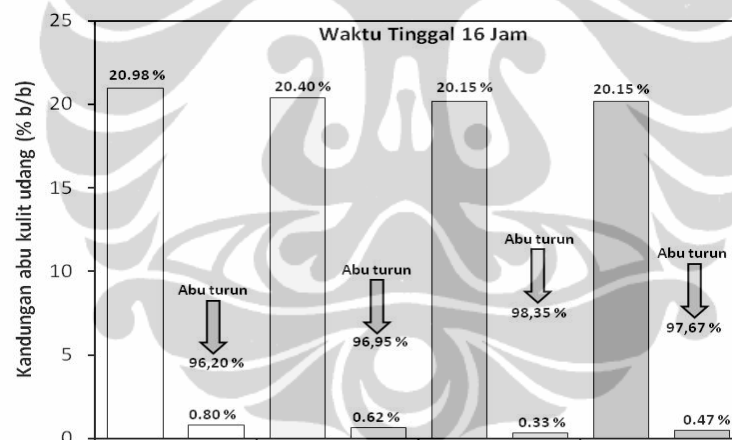
Gambar 4.14. Perubahan kandungan glukosa dan jumlah sel mikroba pada berbagai konsentrasi glukosa umpan selama proses demineralisasi dengan waktu tinggal 32 jam

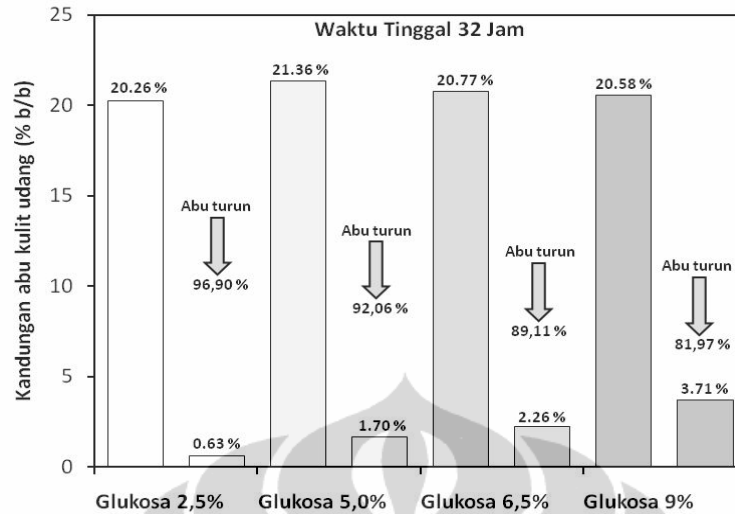
Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 pada waktu tinggal 32 jam, secara umum dapat dilihat pada Gambar 4.14. Setelah proses kontinyu jumlah mikroba mengalami peningkatan, dari  $(1,9 - 7) \times 10^9$  cfu/ml menjadi  $(4,6 - 9,2) \times 10^9$  cfu/ml, memasuki jam ke 24 mikroba mulai memasuki fase stasioner dan menjelang akhir proses, jumlah mikroba cenderung mengalami penurunan menjadi  $(4 - 7,3) \times 10^9$  cfu/ml.

Peningkatan jumlah mikroba tersebut dipengaruhi kandungan glukosa, dari data di atas menunjukkan bahwa semakin tinggi suplai glukosa yang diberikan

maka semakin banyak jumlah sel yang dihasilkan. Selama 30 jam terakhir proses demineralisasi pada waktu tinggal 32 jam, terjadi penurunan glukosa yang cukup besar yaitu dari 7,3% - 8,3% turun menjadi 1,7% - 3,4%, glukosa tersebut dikonsumsi oleh mikroba menjadi masa sel dan asam laktat.

Kandungan glukosa yang tersisa pada waktu tinggal 16 dan 32 jam, mengindikasikan adanya perbedaan laju konsumsi oleh mikroba. Semakin tinggi konsentrasi glukosa yang diumpankan, maka semakin tinggi pula laju pertumbuhan dan jumlah masa sel, serta asam laktat yang dihasilkan. Tetapi tingginya konsentrasi glukosa yang diumpankan, tidak selalu berbanding lurus dengan produktivitas mikroba dan efektivitas proses yang dimaksud, hal ini terbukti pada umpan glukosa 9% dapat memberikan respon jumlah sel dan asam laktat tertinggi, tetapi efektivitas proses demineralisasinya lebih rendah dibandingkan perlakuan lain.





Gambar 4.15. Tingkat penurunan kandungan abu pada berbagai konsentrasi glukosa umpan dengan waktu tinggal 16 jam dan 32 jam

Tingkat penyisihan abu pada setiap perlakuan konsentrasi glukosa, dalam waktu tinggal yang sama tidak berbeda nyata, tetapi antara perlakuan waktu tinggal berbeda nyata. Hal ini terlihat pada Gambar 4.15, bahwa proses demineralisasi kontinyu dengan waktu tinggal 16 jam dengan konsentrasi glukosa umpan 6,5% memberikan hasil yang terbaik, tingkat penyisihan mineral yang dicapai sebesar 98,35%, dan kandungan abu akhir sekitar 0,33%. Sedangkan waktu tinggal 32 jam, tingkat penyisihan kandungan mineral rata-rata hanya mencapai 90,01%, dengan kandungan abu akhir sekitar 0,63% - 3,71%.

#### 4.2.2. Optimasi Deprotenasi Kulit udang Secara Kontinyu

Kitin dari kulit udang dapat diperoleh dengan menghilangkan protein setelah terlebih dahulu dibuang mineralnya. Protein dalam kulit udang terikat dengan kitin melalui ikatan kovalen glikosida. Ikatan ini sangat kuat sehingga protein sangat sulit dilepaskan dari kitin (Chang dan Tsai, 1997).

Menurut Toan et al., (2006), untuk menurunkan kandungan protein dari kulit udang dapat dilakukan dengan menghidrolisis protein. Proses tersebut dapat dilakukan dengan penggunaan basa kuat, enzim proteolitik, atau mikroba yang mengeluarkan enzim proteolitik. Salah satu mikroba penghasil enzim proteolitik

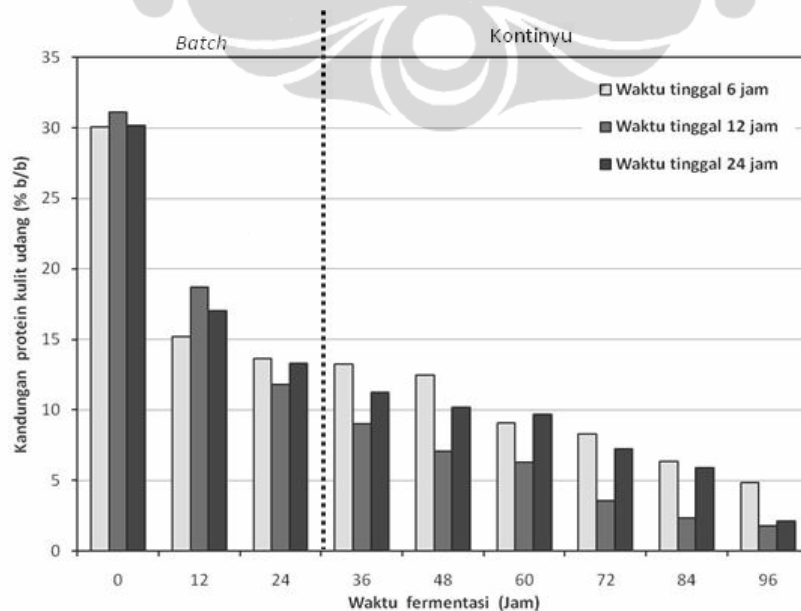
Universitas Indonesia



yang mampu menghidrolisis protein adalah *Bacillus licheniformis* (Fleming et al., 1995), menurut Waldeck et al (2006) bakteri ini mampu menghasilkan enzim protease sangat baik, selama proses deproteinasi kulit udang mampu menghasilkan protease sampai 60 U/ml.

Proses deproteinasi secara kontinyu dalam percobaan ini menggunakan bakteri *Bacillus licheniformis* F11.1, dengan waktu tinggal 6, 12 dan 24 jam. Parameter yang diamati adalah kandungan protein kulit udang, pertumbuhan bakteri dan aktivitas enzim protease selama proses berlangsung.

Berdasarkan perubahan kandungan protein selama proses deproteinasi kontinyu, menunjukkan bahwa perlakuan waktu tinggal 12 jam memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan waktu tinggal 6 jam dan 24 jam. Pada Gambar 4.16 terlihat bahwa 24 jam setelah proses deproteinasi kontinyu (jam ke 48) pada perlakuan waktu tinggal 12 jam, dapat menyisihkan protein sebesar 77,37% dan diakhir proses tingkat penyisihan protein mencapai 94,29%, dengan kandungan protein yang tersisa sekitar 1,78%. Sedangkan pada perlakuan waktu tinggal 6 jam dan 24 jam, pada jam yang sama hanya mampu menyisihkan protein sekitar 58,49% dan 66,30%, pada akhir proses tingkat penyisihan protein hanya sekitar 83,87% dan 92,96%., dengan protein yang tersisa sekitar 4,85% dan 2,12%.



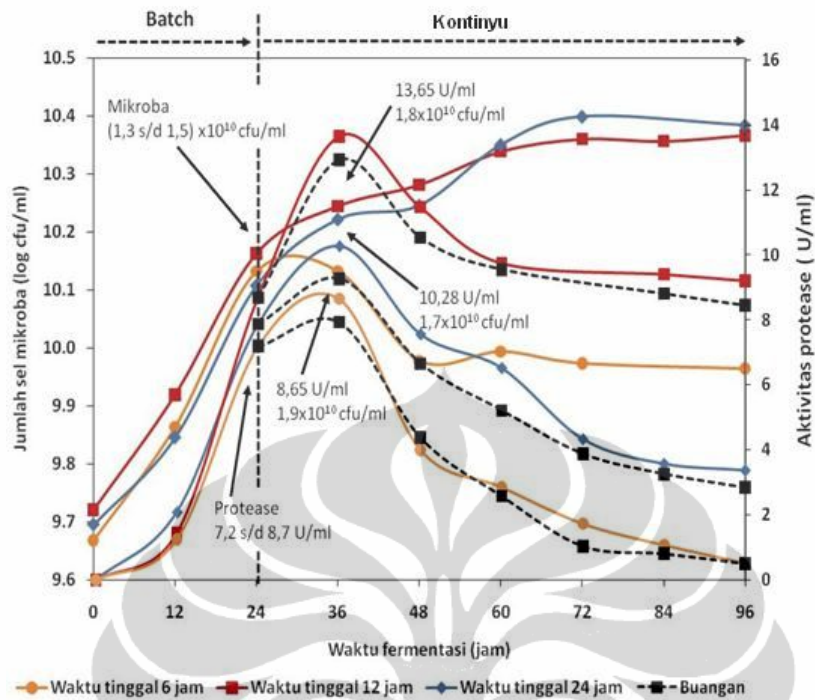
Gambar 4.16. Perubahan kandungan abu pada berbagai perlakuan waktu tinggal selama proses deproteinasi kontinyu

Penurunan protein pada perlakuan waktu tinggal 6 jam dan 24 jam yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan waktu tinggal 12 jam, kemungkinan besar dipengaruhi oleh kecepatan laju alir yang masuk dan ke luar sistem tidak optimal. Pada waktu tinggal 6 jam, laju alir nutrisi yang ke masuk dan ke luar sistem terlalu cepat, maka penggunaan nutrisi oleh mikroba untuk dikonversi menjadi masa sel dan enzim tidak maksimal, menyebabkan produktivitas sel dan jumlah enzim yang dihasilkan berkurang, sehingga proses hidrolisis protein menjadi berkurang.

Sedangkan pada waktu tinggal 24 jam, laju alir nutrisi dan produk samping terlalu lama, hal ini dapat menimbulkan fenomena jumlah mikroba dan enzim yang dihasilkan tinggi, tetapi laju reaksi berjalan lambat akibat terakumulasinya produk samping sehingga menghambat reaksi enzimatik. Fenomena ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Shuller dan Kargi (2002), bahwa reaksi enzimatik sangat dipengaruhi oleh produk, jika terjadi akumulasi produk yang berlebihan akan menghambat laju reaksi enzimatik.

Selain itu adanya pengaruh dari waktu interaksi antara protease yang dihasilkan dengan protein kulit udang, menurut Aslak Einbu (2007) lapisan kulit udang tersusun dari beberapa lapisan *cuticle*, yang terdiri dari serat (*fibril*) kitin-protein yang membentuk lapisan-lapisan horizontal saling-silang, pada awal fermentasi yang terhidrolisis adalah protein pada lapisan terluar, untuk memecah lapisan protein yang lebih dalam diperlukan jumlah enzim lebih banyak dan waktu penetrasi yang lebih lama.

Pertumbuhan dan produktivitas *Bacillus licheniformis* F11.1 selama optimasi cukup baik. Seperti pada Gambar 4.17, di awal proses deproteinasi kontinyu (jam ke 24) jumlah mikroba berkisar antara  $(1,3 - 1,5) \times 10^{10}$  cfu/ml, dengan aktivitas protease bebas sebesar 7,2 – 8,7 U/ml.



Gambar 4.17. Perubahan jumlah sel mikroba dan aktivitas protease pada berbagai perlakuan waktu tinggal selama proses deproteinasi kontinyu

Pada perlakuan waktu tinggal 12 jam, pada jam ke 36 terjadi kenaikan aktivitas protease bebas menjadi 13,65 U/ml. Sedangkan pada perlakuan 6 jam dan 24 jam, hanya sebesar 8,65 U/ml dan 10,28 U/ml. Setelah jam ke 36 sampai akhir jam ke 60, aktivitas protease bebas cenderung menurun jadi 2,85 U/ml s/d 9,75 U/ml.

Jumlah mikroba pada perlakuan 12 jam dan 24 jam, pada jam ke 36 mengalami kenaikan menjadi  $2,2 \times 10^{10}$  cfu/ml, sedangkan pada perlakuan 6 jam jumlah mikroba cenderung menurun jadi  $9,9 \times 10^9$  cfu/ml. Memasuki jam ke 60 jumlah mikroba dan aktivitas protease bebas cenderung tetap sampai akhir proses sekitar  $(9,2 - 24,2) \times 10^9$  cfu/ml dan 0,52 – 9,20 U/ml.

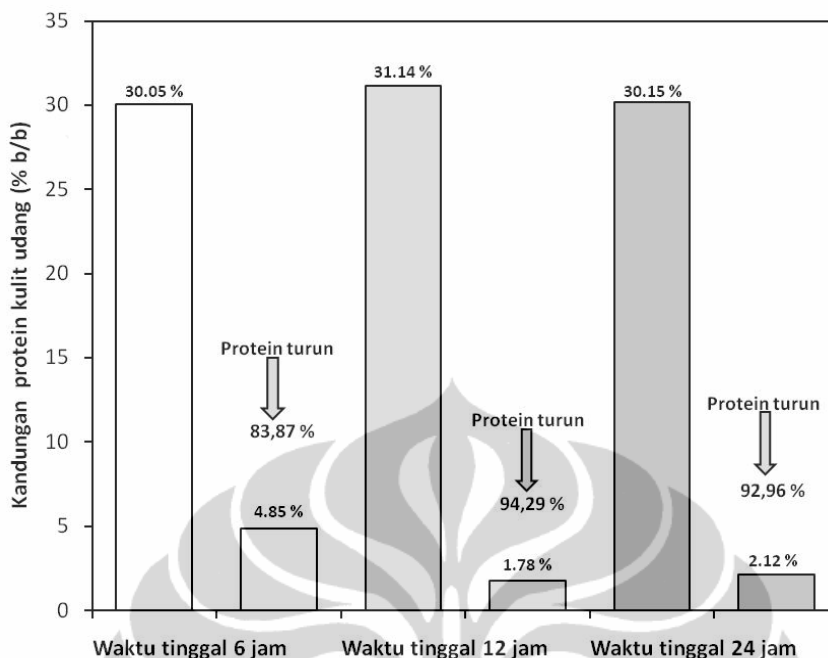
Peningkatan aktivitas protease pada jam ke 36 berpengaruh terhadap penurunan kandungan protein kulit udang, menurut Waldeck et al., (2006) aktivitas protease selama proses deproteinasi kulit udang menggunakan *Bacillus licheniformis*, meningkat pada jam ke 35 dengan aktivitas sebesar 60 U/ml yang

mampu menurunkan protein sampai 0,8% pada akhir proses.

Sesuai dengan hasil percobaan Waldeck et al., (2006), hasil percobaan ini menunjukkan bahwa perlakuan waktu tinggal 12 jam, saat memasuki jam ke 36 terjadi peningkatan aktivitas protease bebas sebesar 13,65 U/ml, dan mampu menurunkan protein kulit udang sebesar 94,29% di akhir proses. Hal ini berarti bahwa produktivitas *Bacillus licheniformis* F11.1 dalam menghasilkan protease pada perlakuan ini relatif lebih tinggi, dibandingkan dengan perlakuan 6 jam dan 24 jam yang hanya memiliki aktivitas protease sebesar 8,65 U/ml dan 10,28 U/ml, dengan penurunan protein sebesar 83,87% dan 92,96%.

Berdasarkan hasil analisis data-data percobaan proses deproteinasi secara kontinyu menggunakan *Bacillus licheniformis* F11.1 selama 72 jam, secara umum pada setiap perlakuan waktu tinggal cukup berbeda, hal ini terlihat pada Gambar 4.18, bahwa setelah 72 jam proses deproteinasi kontinyu dengan waktu tinggal 12 jam dan 24 jam, dapat menurunkan protein sebesar 94,29% dan 92,96%, dengan kandungan protein yang tersisa sebesar 1,78% dan 2,12%.

Sedangkan pada waktu tinggal 6 jam tingkat penurunan protein kulit udang sebesar 83,87%, dengan kandungan protein yang tersisa sebesar 4,85%, hal ini membuktikan bahwa proses deproteinasi kontinyu dengan waktu tinggal 12 jam mampu memberikan hasil yang terbaik dibandingkan dua perlakuan lainnya.



Gambar 4.18. Tingkat penurunan kandungan protein kulit udang sebelum dan setelah proses deproteinasi kontinyu

#### 4.3. Ekstraksi Kitin dari Kulit Udang Secara Kontinyu

Berdasarkan hasil pembahasan sub bab 4.2.1 dan 4.2.2, rancangan optimasi proses demineralisasi kontinyu untuk ekstraksi kitin dari kulit udang vannamei yang dilanjutkan dengan proses deproteinasi kontinyu secara simultan adalah sebagai berikut : Kulit udang dengan ukuran 0,5 – 1 cm didemineralisasi melalui proses fermentasi kontinyu, dengan pemberian umpan media glukosa 6,5% yang dilakukan pada jam ke 12 jam, dengan waktu tinggal 16 jam. Waktu demineralisasi kontinyu dilakukan selama 36 jam.

Fermentasi dilakukan pada suhu kamar ( $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), dan diagitasi dengan kecepatan 50 rpm. Medium fermentasi terdiri dari 0,5 g/L ekstrak khamir dan 60 g/L glukosa pada volume proses 5 liter. Jumlah inokulum bakteri *L. acidophilus* FNCC 116 sebanyak 10 % (v/v) dengan tingkat kepadatan  $10 \times 10^8$  cfu/ml. Setelah proses demineralisasi kontinyu selesai, kulit udang hasil demineralisasi dicuci bersih hingga air cuciannya netral (pH 7). Kemudian kulit udang hasil demineralisasi langsung dilanjutkan dideproteinasi kontinyu.

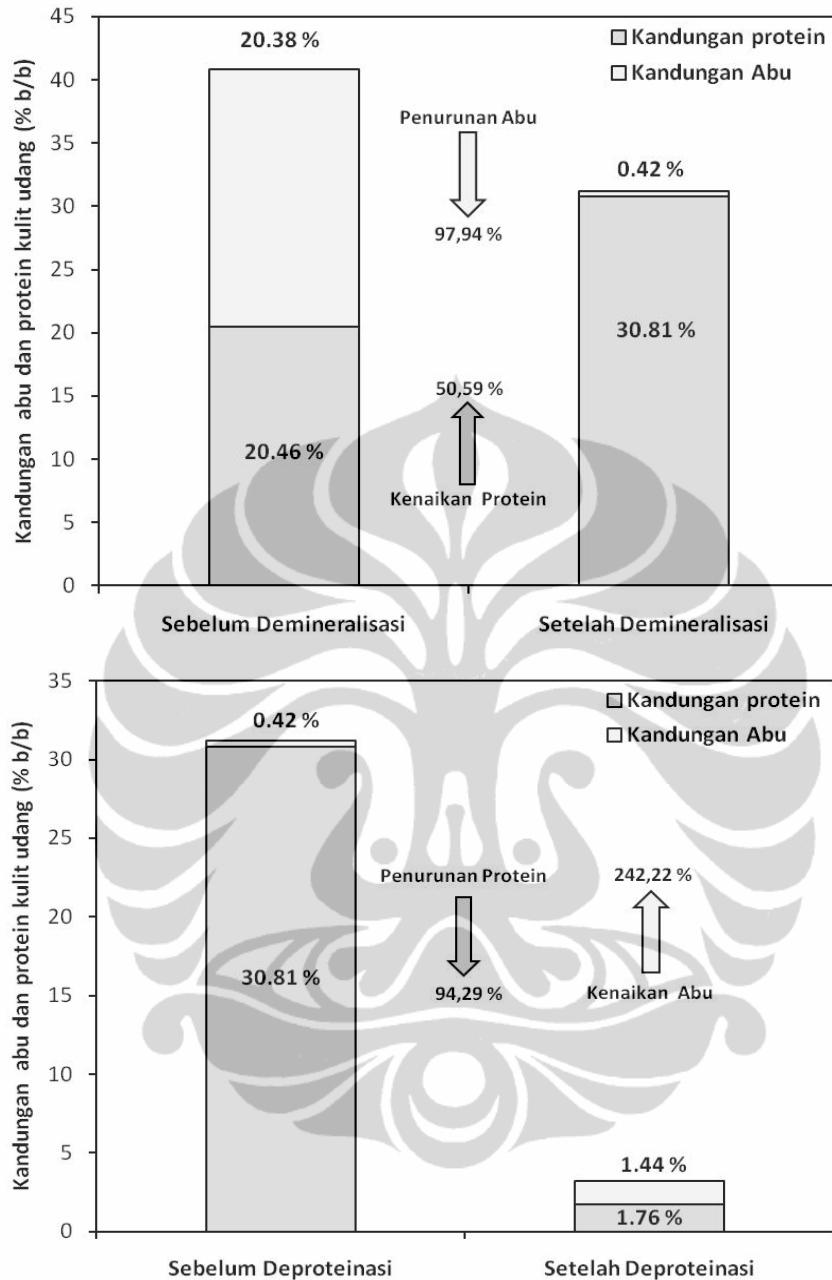
Universitas Indonesia

Proses deproteinasi kulit udang secara kontinyu hasil demineralisasi dilakukan sebagai berikut: Medium untuk proses deproteinasi kontinyu dimasukan ke dalam fermentor yang masih berisi kulit udang hasil demineralisasi kontinyu yang telah dicuci. Komposisi medium deproteinasi terdiri dari ekstrak khamir 5 g/L;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5 g/L;  $\text{CaCl}_2$  1 g/L; NaCl 5 g/L dan  $\text{MgSO}_4$  0,5 g/L. pH awal medium diatur pada 7,3. Kemudian ke dalam medium fermentasi dimasukkan juga inokulum bakteri *B. licheniformis* F11.1 sebanyak 20 % (b/v) dengan tingkat kepadatan  $10 \times 10^8$  cfu/ml.

Selanjutnya dikultivasi dengan sistem fermentasi *batch* kemudian diumpankan media deproteinasi pada jam ke 24 jam dengan waktu tinggal 12 jam. Waktu deproteinasi kontinyu dilakukan selama 72 jam. Suhu kultivasi dipertahankan  $37^\circ\text{C}$ , pH dijaga dalam kisaran 7,8 – 8,2, dan diberi aerasi serta agitasi masing-masing sebesar 2 vvm dan 250 rpm. Kulit udang hasil demineralisasi yang telah dideproteinasi adalah kitin.

Berdasarkan hasil proses demineralisasi kontinyu selama 36 jam dengan konsentrasi glukosa umpan 6,5% dan waktu tinggal 16 jam (Gambar 4.19), dapat menurunkan kandungan abu sebesar 97,94%, pada awal proses kandungan abu kulit udang sebesar 20,38%, di akhir proses turun menjadi 0,42%. Kandungan protein kulit udang mengalami kenaikan 50,59%, pada awal proses sebesar 20,46% di akhir proses naik menjadi 30,81%.

Sementara itu, hasil analisa kandungan protein dan abu terhadap produk hasil deproteinasi kontinyu, kandungan protein mengalami penurunan sebesar 94,29%, di awal proses kandungan protein sebesar 30,81% dan di akhir proses turun menjadi 1,76%. Kandungan abu mengalami kenaikan, di awal proses kandungan abu sebesar 0,42% dan diakhir proses naik menjadi 1,44%

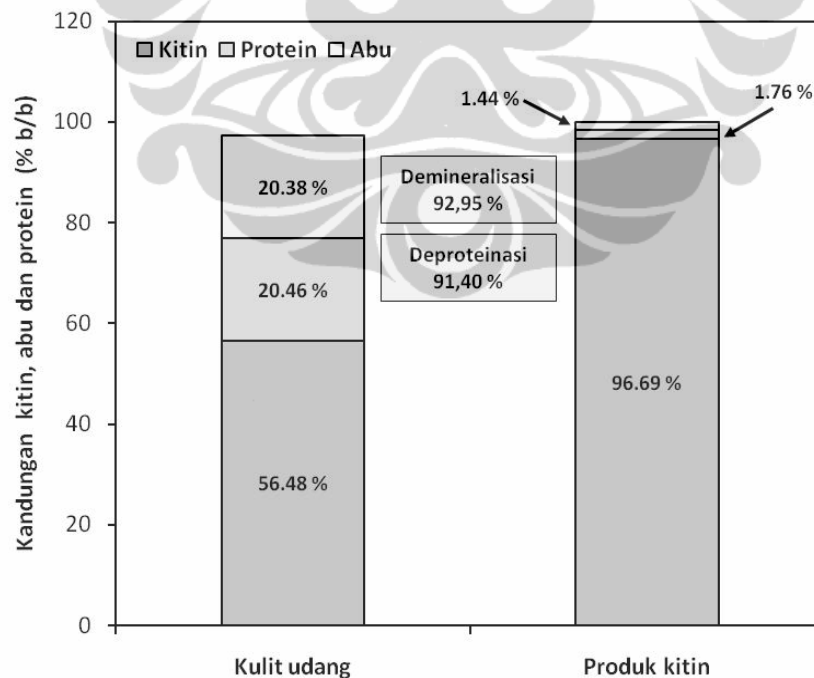


Gambar 4.19. Perubahan kandungan abu dan protein kulit udang hasil proses demineralisasi dan deproteinasi kontinyu

Menurut hasil penelitian Junianto (2008) tingkat penurunan kandungan abu dan protein kulit udang yang diperoleh melalui ekstraksi kitin secara fermentasi *batch* berturut-turut (*subsequent batch*), adalah 95,69 % dan 92,42 %, dan produk kitin yang diperoleh mempunyai kandungan abu 0,84 % (bk), kandungan protein 1,42 % (bk), kandungan kitin 97,26 % (bk). Sedangkan hasil

penelitian ekstraksi kitin secara kimia dari kulit udang yang dilakukan oleh beberapa peneliti adalah sebagai berikut: Aye dan Stevens (2004) mempublikasikan tingkat penyisihan kandungan abu dan protein masing-masing adalah 97,9 % dan 98,43 %. Beaney et al., (2005) melaporkan tingkat penyisihan kandungan abu dan protein sebesar 99,68 % dan 91,06 %. Kemudian Rao dan Stevens (2005) juga menyatakan tingkat penyisihan kandungan abu dan protein masing-masing adalah 95,68 % dan 97,84 %.

Berdasarkan analisa terhadap produk kitin hasil ekstraksi demineralisasi dan deproteinasi kontinyu seperti pada Gambar 4.20, tingkat penurunan kandungan abu (demineralisasi) sebesar 92,95% dan tingkat penurunan kandungan protein (deproteinasi) sebesar 91,40%, dengan kandungan abu dan protein masing-masing adalah 1,44 % (b/b) dan 1,76 % (b/b), dengan kandungan kitin sebesar 96,69 % (b/b), mutu kitin hasil ekstraksi ini memiliki kualitas yang sebanding kitin komersial produk Dalian Chem Imp & Exp Group Co.ltd mutu II yang mensyaratkan kandungan abu  $\leq 5\%$  dan protein  $\leq 3\%$ , sedangkan produk Bioline untuk mutu industri mensyaratkan kandungan abu dan protein  $\leq 2\%$ .



Gambar 4.20. Karakteristik produk kitin hasil proses demineralisasi dan deproteinasi kontinyu