

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit Udang

Ekspor komoditi hasil perikanan dari Indonesia yang terbesar sampai saat ini adalah udang. Realisasi ekspor udang pada tahun 2007 mencapai 160.797 ton dengan nilai Rp 11,5 trilyun. Nilai ekspor udang ini adalah 50% dari nilai ekspor komoditi perikanan Indonesia pada tahun 2007 yaitu sebesar 23 trilyun. Ekspor udang tahun 2003 sampai 2009 terus meningkat sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2.1. Udang yang diekspor hampir 90% nya adalah bentuk beku tanpa kulit dan kepala. Jenis udang yang diekspor adalah udang vannamei dan windu, untuk tiga tahun terakhir hampir 75% adalah udang vannamei (Pusat Data Statistik dan Informasi, Departemen Kelautan dan Perikanan, 2008).

Tabel 2.1 Produksi dan ekspor udang Indonesia 2003 – 2009*

Tahun	Produksi (ton)	Ekspor (ton)
2003	191.723	92.027
2004	226.553	124.604
2005	295.000	153.906
2006	281.901	159.329
2007	318.565	160.797
2008	480.000	285.000
2009*	540.000	320.000

Sumber : Pusat Data Statistik dan Informasi, Departemen Kelautan dan Perikanan ; *) Prakiraan

Selama ini limbah kulit udang tersebut dikeringkan dan dimanfaatkan sebagai pakan atau pupuk dengan nilai yang rendah. Mengolahnnya menjadi kitin atau kitosan akan memberikan nilai tambah yang cukup tinggi, kulit krustasea mengandung 14-35% kitin. Sebagai salah satu negara pengeksport udang, Indonesia tentu saja berpeluang memproduksi kitin atau kitosan. Volume ekspor udang (kupas dan tanpa kepala) sekitar 135 ribu ton setiap tahunnya, di atas kertas akan tersedia kulit udang sebanyak 60 ribu ton. Ekspor kepiting (umumnya kaleng) sekitar 4000 ton per tahun juga berpotensi menghasilkan kulit sebagai limbah sebanyak 1000 ton per tahun. Kedua limbah tersebut berpotensi diolah menjadi kitin, dengan produksi sekitar 21 ribu ton per tahun.

Sebaran ketersediaan kulit udang mencakup pantura Jawa, Sumatera Utara, Lampung, Sulawesi Selatan, Tenggara dan Tengah, dan Kalimantan Timur. Sedangkan untuk kulit kepiting, mencakup Sumatera Utara, Pantai Timur Sumatera, Pantura Jawa, Kalimantan dan Sulawesi Selatan. Survei yang dilakukan oleh Badan Riset Kelautan dan Perikanan (BRKP) menunjukkan bahwa untuk daerah Jabotabek dapat tersedia sekitar 100 ton kulit udang kering setiap bulannya atau setara dengan 13 ton kitin. Apabila ini dikonversikan ke dalam nilai uang (harga US\$ 5 per kg), maka setidaknya akan diperoleh devisa sebesar US\$ 65 ribu per bulan atau US\$ 780 ribu per tahun, belum termasuk kepiting dan daerah lain.

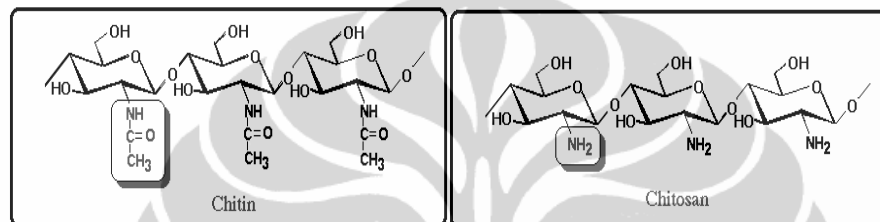
Tersebar nya bahan baku (kulit udang atau kulit kepiting kering) merupakan salah satu kendala. Menurut penelitian BRKP, pabrik kitin layak dibangun bila tersedia bahan baku (kering) sebanyak 3000 kg per hari. Untuk mengolah bahan sebanyak itu, investasi yang diperlukan untuk mendirikan pabrik kitin atau kitosan memang relatif rendah untuk ukuran sebuah pabrik. Hitungan BRKP memberikan angka sekitar Rp 1,7 sampai dengan Rp 2,1 M untuk lahan (2000 m²), bangunan pabrik dan kantor serta mesin. Mengingat pabrik kitin dan kitosan banyak menghasilkan limbah cair yang bersifat asam atau basa, maka hitungan di atas diperkirakan dapat menjadi 1,5-2 kali, setelah memasukkan kebutuhan Amdal dan penyediaan “*waste treatment unit*” (Teknologi-dkp.go.id , 2006).

Menurut Rao et al., (2000), kulit udang mengandung beberapa komponen yaitu protein, pigmen, lemak, kitin dan mineral yang berupa kalsium karbonat. Semua komponen ini dapat diisolasi atau diekstraksi sehingga mempunyai nilai jual yang lebih tinggi dibandingkan dengan kulit udang. Tiga komponen yang keberadaannya cukup besar dalam kulit udang adalah kitin, mineral dan protein.

Kandungan kitin pada kulit udang merah (*Solenocera melantho*) adalah 23,3 % (bk) dan kandungan kitin pada udang *Crangon crangon* adalah 17,8 % (bk) (Synowiecki dan Al-Khateeb, 2000), kandungan kitin dalam kulit udang berkisar antara 20 – 60 % (bk), tergantung jenisnya.

2.2 Kitin

Struktur kitin dan kitosan serupa dengan selulosa, yaitu antara monomernya terangkai dengan ikatan glukosida pada posisi β (1-4). Perbedaan dengan selulosa adalah gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada atom karbon nomor dua, digantikan oleh gugus asetamina (-NHCOCH₃) pada kitin sehingga kitin menjadi sebuah polimer berunit N-Asetil glukosamin sedangkan pada kitosan digantikan oleh gugus amin (NH₂). Struktur kimia kitin dan kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.1 (Rinaudo, 2006).

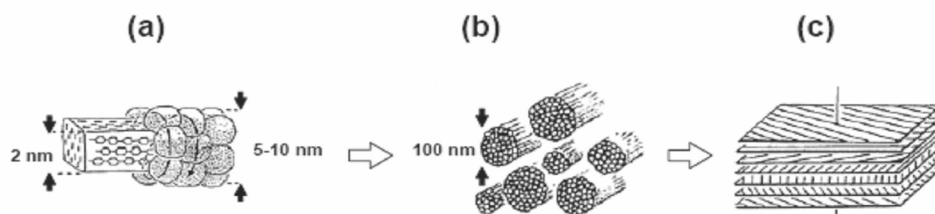


Gambar 2.1. Struktur kimia kitin dan kitosan (Rinaudo, 2006)

Pengamatan dengan sinar X terhadap struktur kitin menunjukkan adanya gugus amino yang tidak terasetilasi pada setiap 6 sampai 7 gugus asetil glukosamida. Ditinjau dari segi fisik, struktur kitin tersusun atas unit-unit berbentuk *ortorombik*, setiap sel dibangun oleh 8 residu asetil glukosamin, dan mempunyai ukuran 94 ' x 10,5 ' x 9,3 '. Berdasarkan struktur tersebut kitin dapat dibedakan atas tiga jenis yaitu α kitin (rantai antipararel), β kitin (rantai pararel) dan γ -kitin (rantai campuran) (Rinaudo, 2006).

Kitin merupakan makromolekul berbentuk padatan amorf atau kristal, berwarna putih, dan dapat terurai secara hayati (*biodegradable*), terutama oleh bakteri penghasil enzim kitinase. Kitin bersifat tidak larut dalam air, asam anorganik encer, asam organik, alkali pekat dan pelarut organik tetapi larut dalam asam pekat seperti asam sulfat, asam nitrit, asam fosfat dan asam formiat *anhydrous*, kitin dalam asam pekat dapat terdegradasi menjadi monomernya dan memutuskan gugus asetil.

Struktur cangkang (eksoskeleton) krustase terdiri dari lapisan-lapisan *cuticle*, matrik organik yang menyusun *cuticle* adalah kitin yang berasosiasi dengan protein seperti terlihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur matrik kitin-protein pada cuticle krustase (Aslak, 2007)
 (a) Kristal kitin yang dikelilingi protein. (b) Fibril kitin-protein. (c) Skematik lapisan fibril yang tersusun horizontal dan paralel.

Pada cuticle, rantai kitin tersusun dalam bentuk kristal panjang dan tipis. Globular protein melilit lapisan luar kristal kitin (a). Unit kitin-protein bergabung membentuk fibril dalam berbagai diameter dimana kristal kitin tampak seperti batang yang terlapisi protein (b). Fibril kitin-protein membentuk lembaran-lembaran horizontal dan fibril paralel dengan arah berbeda antara satu lapisan dengan lapisan lainnya (c). Setiap lapisan cuticle terkalsifikasi oleh kalsium karbonat dalam bentuk kristal kalsit. Kristal tersebut timbul dan tumbuh bersamaan jaringan organik fibrilar dan membentuk material komposit aselular kaku yang membentuk eksoskeleton (Aslak Einbu, 2007).

Mutu niaga berbagai produk kitin berdasarkan spesifikasi kandungan air, abu, dan proteinnya terdapat pada Tabel 2.2. Menurut Bustos dan Healey (1994), harga kitin ditentukan oleh kandungan abu dan proteinnya. Semakin kecil kandungan abu dan proteinnya harga kitin semakin tinggi, serta banyak pengguna kitin yang mensyaratkan kitin dengan kandungan abu dan protein $\leq 1\%$, terutama untuk industri farmasi.

Tabel 2.2. Mutu kitin niaga dari berbagai produk

Spesifikasi	Dalian Chem Imp & Exp Group Co.ltd ^{*)}			Bioline ^{**)}	Thailand ^{***)}
	Mutu I	Mutu II	Mutu III	Mutu Industri	Mutu Komersial
Kandungan abu (%)	$\leq 1,5$	≤ 5	≤ 10	≤ 2	$\leq 1,0$
Kandungan protein (%)	$\leq 1,5$	≤ 3	≤ 3	≤ 2	$\leq 5,0$
Kandungan air (%)	≤ 10	≤ 10	≤ 10	≤ 10	≤ 10

^{*)} <http://alibaba.co>; ^{**)} <http://bioline.co>; ^{***)} <http://www.indiaagar.com>

Kitin melalui proses deasetilasi (pengurangan gugus asetil) baik secara kimiawi maupun biologis dapat diturunkan menjadi kitosan. Kitosan ini

mempunyai sifat yang larut dalam asam-asam organik encer dan tidak larut dalam air. Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan selama ini dilakukan secara termokimia menggunakan alkali kuat pada suhu tinggi, perlakuan secara enzimatis belum memberikan hasil yang memuaskan yaitu memperoleh derajat deasetilasi (DD) yang sangat rendah (Emmawati, 2005), sulitnya dihasilkan kitosan dengan DD tinggi diduga karena kitin secara alami berbentuk kristalin yang mengandung rantai-rantai polimer kitin berkerapatan sangat tinggi, yang satu sama lain terikat dengan ikatan hidrogen yang sangat kuat, sehingga menghalangi enzim berpenetrasi mencapai substrat spesifiknya.

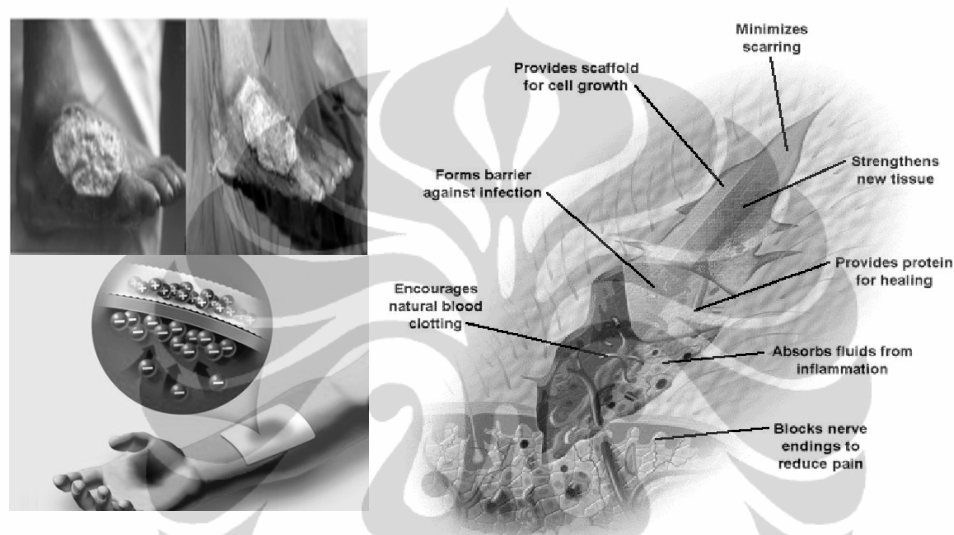
Menurut Synowiecki dan Al-khateeb (2003), sifat turunan kitin (kitosan) yang penting untuk aplikasinya adalah kemampuannya mengikat air dan minyak karena terdapat gugus hidrofobik dan hidrofilik. Struktur polar kitosan terdispersi membentuk misel, dan ekor hidrokarbonnya tersembunyi di sebelah dalam membentuk fase hidrofobik, sedangkan fase hidrofilik ada di sebelah luar, air dan minyak yang dapat diikat kitin masing-masing sebesar 385 % dan 315 %.

Bahkan perkembangan terakhir kitosan banyak digunakan oleh industri makanan kesehatan diantaranya sebagai suplemen makanan untuk pengontrol berat badan, sifat kitosan yang dapat memblok lemak dari makanan karena kitosan berikatan dengan lemak, mengikat garam empedu dan mengikat asam lemak bebas, sehingga makanan berlemak yang masuk ke dalam tubuh tidak sempat dicerna dan diserap oleh tubuh (Kristbergsson et al., 2003).

Kitin dan turunannya dapat digunakan sebagai surfaktan atau pengemulsi pada makanan, dan kosmetik, selain itu digunakan sebagai penstabil, pengental, kelengkapan *ion exchanger*, membran pada kromatografi dan dialisis, untuk proses penyembuhan luka bakar, pengobatan dermatitis, pengobatan infeksi jamur, sebagai benang bedah dan sebagai bahan lensa kontak yang lunak dan bersih (Paul dan Sharma, 2004).

Pesatnya perkembangan penelitian kitin dan turunannya karena memiliki beberapa keistimewaan diantaranya adalah kitosan mempunyai sifat haemostatic (menghentikan pendarahan), memberikan efek makrofag, menghambat

pertumbuhan jamur dan bakteri, merangsang pembentukan sel epitel terutama pada luka bakar, mempercepat pembentukan lapisan dermis, pembuluh darah dan saraf, bahkan dengan adanya pembebasan N-acetyl- β -D-glucosamine oleh kitin ke dalam jaringan luka dapat merangsang pembelahan fibroblas dan kolagen serta merangsang sintesis asam hialuronik sehingga luka menjadi lekas sembuh dan mencegah terbentuknya gores bekas luka, contoh penggunaan kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.3 (Paul, W., and Sharma,C.P., 2004).

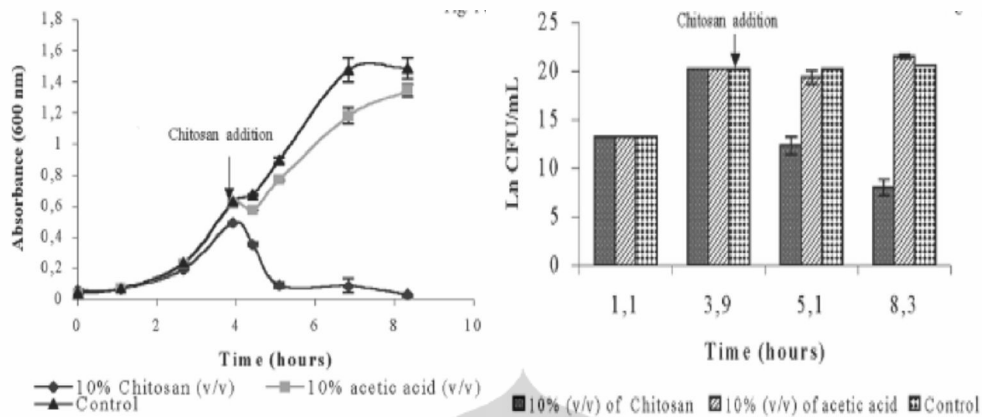


Gambar 2.3. Penggunaan kitosan pada luka dan manfaat dari kitosan (Paul, W., and Sharma,C.P., 2004)

Pada bidang biomedika kitin dan turunannya digunakan untuk membantu penyembuhan luka sebagai bahan untuk menutupi luka mulai luka bakar, luka habis operasi, luka karena kecelakaan. Kitosan apabila dikombinasikan dengan molekul bioaktif, sel, atau biomaterial lainnya sangat berpotensi untuk dapat dikembangkan sebagai bahan untuk rekayasa jaringan termasuk jaringan kulit, saraf, tulang, termasuk jaringan tulang rawan, bahkan ke depan diperkirakan pasar rekayasa jaringan di Eropa mencapai 70 miliar euro (Thomas Freier, 2008).

Kitin dan turunannya terutama kitosan digunakan juga pada industri makanan diantaranya sebagai pengawet makanan karena memiliki sifat bakteriostatik, fungistatik dan anti oksidan, berdasarkan hasil penelitian kitosan 10% (v/v) dapat menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan *Listeria monocytogenes* seperti terlihat pada Gambar 2.4 (Kristbergsson et al., 2003).

Universitas Indonesia



Gambar 2.4. Pertumbuhan *Listeria monocytogenes* setelah penambahan kitosan (Kristbergsson et al., 2003)

Kitin dan kitosan juga banyak digunakan untuk industri lainnya seperti industri tekstil, bidang fotografi, industri fungisida (Henny, K.H., 2004), secara singkat penggunaan kitosan pada beberapa industri tersebut adalah :

Industri Tekstil, serat tenun dapat dibuat dari kitin dengan cara membuat suspensi dalam *asam format*, kemudian ditambahkan *triklor asam asetat* dan segera dibekukan pada suhu 20 °C selama 24 jam. Jika larutan ini dipintal dan dimasukkan dalam *etil asetat* maka akan terbentuk serat tenun yang potensial untuk industri tekstil. Pada kerajinan batik, pasta kitosan dapat menggantikan "malam" (*wax*) sebagai media pematikan.

Bidang Fotografi, jika kitosan dilarutkan dalam larutan dimetilasetamida LiCl, maka dari larutan ini dapat dibuat film untuk berbagai kegunaan. Pada industri film untuk fotografi, penambahan tembaga kitosan dapat memperbaiki mutu film yaitu untuk meningkatkan fotosensitivitasnya.

Industri Fungisida, kitosan mempunyai sifat antimikrobia melawan jamur lebih kuat dari Kitin. Jika Kitosan ditambahkan pada tanah, maka akan menstimulir pertumbuhan mikrobia yang dapat mengurai jamur. Selain itu Kitosan juga dapat disemprotkan langsung pada tanaman. Misalnya larutan 0,4% kitosan jika disemprotkan pada tanaman tomat dapat menghilangkan virus *tobacco mozaik*.

Industri Kosmetika, kini telah dikembangkan produk baru shampoo kering mengandung kitosan yang disuspensi dalam alkohol. Termasuk pembuatan lotion

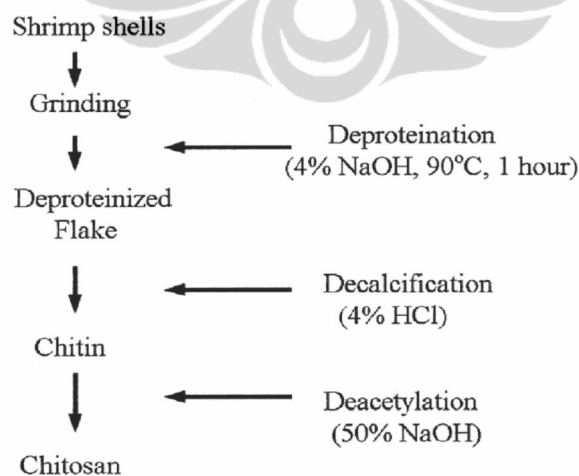
dan shampoo cair yang mengandung 0,5 - 6,0 % garam kitosan. Shampoo ini mempunyai kelebihan dapat meningkatkan kekuatan dan berkilaunya rambut, karena adanya interaksi antara polimer tersebut dengan protein rambut.

Penanganan Limbah, karena sifat polikationiknya, kitosan dapat dimanfaatkan sebagai agensia penggumpal dalam penanganan limbah terutama limbah berprotein yang kemudian dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Pada penanganan limbah cair, kitosan sebagai chelating agent yang dapat menyerap logam beracun seperti merkuri, timah, tembaga, pluranium dan uranium dalam perairan dan ntuk mengikat zat warna tekstil dalam air limbah.

2.3 Ekstraksi Kitin

Ekstraksi kitin dilakukan melalui dua tahapan proses yaitu penyisihan protein (deproteinasi) dan penyisihan kalsium karbonat (demineralisasi) dari kulit udang (Mahmoud et al., 2007). Kedua tahapan proses dalam ekstraksi kitin tersebut dapat dilakukan secara kimia maupun biologi (Beaney et al., 2005).

Ekstraksi kitin secara kimia dilakukan dengan menggunakan senyawa kimia seperti asam klorida pada proses demineralisasinya, sedangkan pada proses deproteinasi menggunakan basa kuat seperti natrium hidroksida seperti pada Gambar 2.5 (Steven et al., 1998).



Gambar 2.5. Proses produksi kitin dan kitosan secara kimiawi (Steven et al., 1998)

Kualitas produk kitin dan kitosan sangat tergantung pada teknologi proses produksi yang digunakan, teknologi produksi kitin dan kitosan dari kulit udang, kepiting atau rajungan telah dikenal dan diproduksi dalam skala besar, tetapi industri kitin dan kitosan yang ada saat ini masih menggunakan teknologi konvensional yaitu menggunakan 4% HCl untuk proses demineralisasi (penyisihan mineral) dan 4% NaOH untuk deproteinasi (penyisihan protein) pada temperatur 70 – 90 °C, demikian juga dalam melakukan proses produksi kitosan dari kitin untuk proses deasetilasi masih menggunakan 50% NaOH pada temperatur yang sama (Steven et al., 1998).

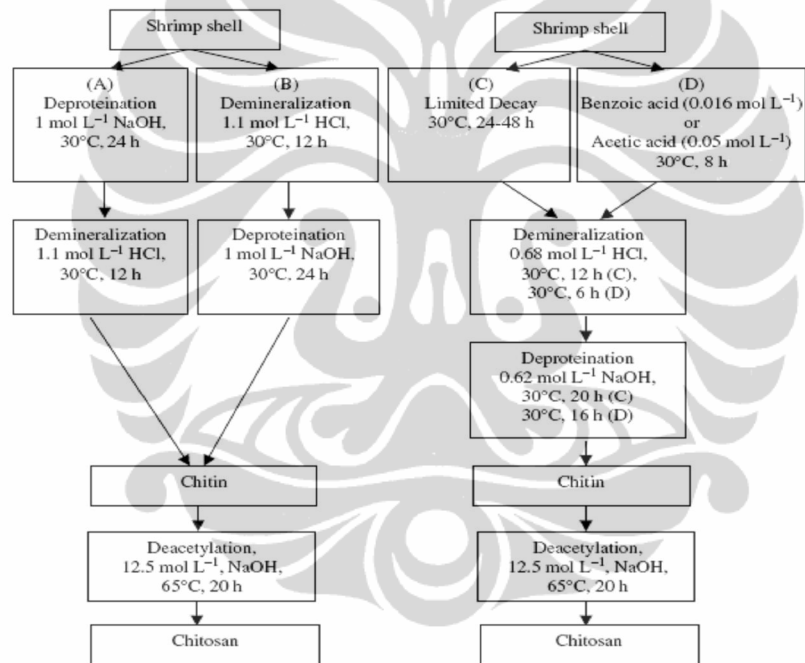
Ekstraksi kitin secara biologi dilakukan melalui fermentasi asam laktat pada tahapan demineralisasi sedangkan pada tahapan deproteinasi menggunakan enzim protease baik yang ditambahkan langsung atau enzim yang dihasilkan oleh bakteri selama proses kultivasi (Mizani et al., 2007 dan Jung et al., 2005).

Produksi kitin dengan mempergunakan asam dan basa pada temperatur tinggi dapat mempengaruhi kualitas produk, penggunaan alkali dalam waktu lama pada suhu tinggi dapat memicu produk penguapan aldol, sedangkan penggunaan asam klorida berlebih dapat menghidrolisis rantai β -glikosidik secara berlebihan yang merupakan rantai utama kitin sehingga berpengaruh terhadap berat molekul, viskositas, dan derajat deasetilasi kitin (Toan et al., 2006).

Penggunaan asam klorida berlebih pada proses demineralisasi dapat mempengaruhi sifat fisio-kimia kitin, berat molekul, dan derajat deasetilasi sehingga memberikan efek negatif terhadap pemurnian kitin, serta limbah yang dihasilkan termasuk berbahaya dan biaya proses pemurnian kitin meningkat (Mahmoud et al., 2007).

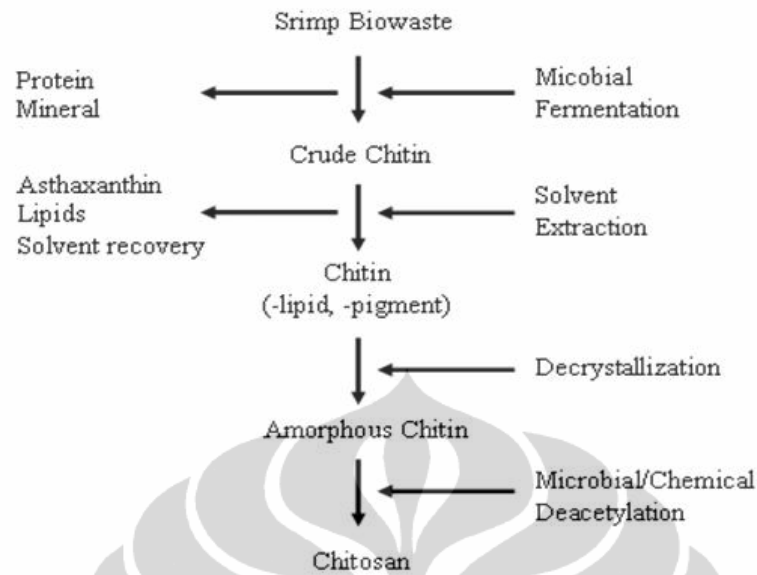
Berbagai penelitian dilakukan untuk memperbaiki teknologi konvensional proses produksi kitin dari kulit udang atau kepiting dengan memberi berbagai perlakuan awal sebelum proses ekstraksi menggunakan asam dan basa seperti pada Gambar 2.6 (Toan et al., 2006), diantaranya dengan memotong-motong kulit udang atau kepiting, menggiling dan mengayaknya menjadi ukuran lebih kecil sehingga sistem lebih homogen.

Pre-treatment dengan perendaman air asam (asam klorida atau asam asetat) dapat mengurangi penggunaan bahan alkali (Aye K.N., dan Steven, W.F., 2004), memberi perlakuan asam organik seperti asam asetat, asam benzoate dan asam laktat (Mahmoud, et al., 2007), bahkan kulit udang atau kepiting difermentasikan lebih dahulu secara alamiah dan terkontrol sebelum diekstraksi menggunakan asam dan basa (Toan et al., 2006), atau dilakukan perendaman pada larutan basa dengan konsentrasi bertingkat (Lertsutthiwong et al., 2002). Hal ini dilakukan untuk mengurangi konsentrasi penggunaan asam dan basa serta menurunkan temperatur proses, kualitas kitin yang dihasilkan bervariasi dengan tingkat penurunan mineral dan protein berkisar 80 – 99 %.



Gambar 2.6. Berbagai modifikasi proses produksi kitin dan kitosan secara kimiawi (Toan et al., 2006)

Penelitian berkembang dengan menerapkan teknologi ekstraksi kitin secara biologis, hal ini dilakukan untuk memperoleh kitin dengan kualitas yang dapat diperbandingkan dengan cara kimiawi dan lebih aman terhadap lingkungan. Proses produksi kitin dari kulit udang atau kepiting secara biologis adalah dengan memanfaatkan kemampuan beberapa mikroba yang mampu menghasilkan asam organik terutama asam laktat, serta mikroba yang mampu menghasilkan enzim protease seperti terlihat pada Gambar 2.7 (Steven et al., 1998).

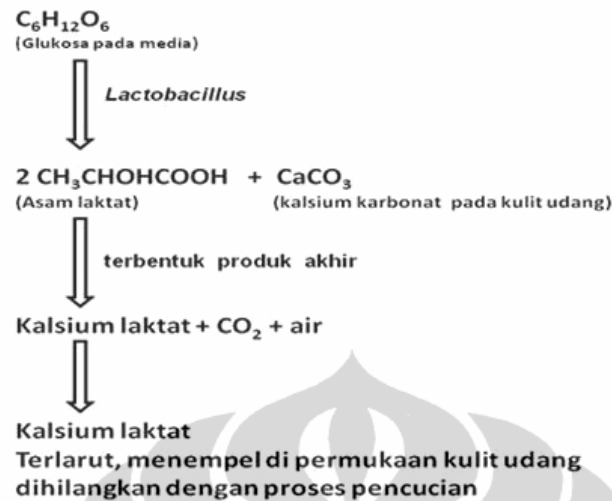


Gambar 2.7. Proses produksi kitin dan kitosan secara biologis (Steven et al., 1998)

2.3.1 Proses Demineralisasi

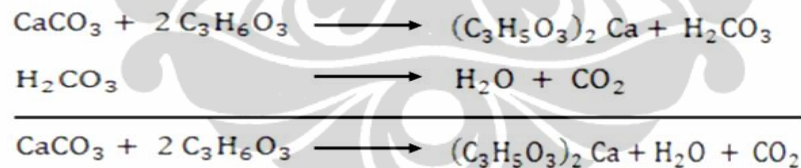
Kulit udang mengandung mineral 20 – 35 % (berat kering), komposisi yang utama adalah kalsium karbonat. Komponen mineral ini dapat dilarutkan dengan penambahan asam seperti asam klorida, asam sulfat atau asam laktat (Synowiecki dan Al-Khateeb, 2003), proses demineralisasi dapat pula dilakukan secara kimia dan biologi. Demineralisasi secara kimia digunakan senyawa kimia seperti asam klorida atau asam laktat. Demineralisasi secara biologi yaitu melarutkan mineral yang terdapat dalam kulit udang melalui proses fermentasi asam laktat.

Proses demineralisasi secara biologis ini melibatkan dua proses utama yang bersamaan dalam satu sistem, proses pertama adalah pembentukan asam laktat, sedangkan proses kedua adalah reaksi antara asam laktat yang terbentuk dengan kalsium karbonat dalam kulit udang membentuk kalsium laktat Gambar 2.8, dan reaksi kimianya dapat dilihat pada Gambar 2.9 (Jung et al., 2005).



Gambar 2.8. Skematik proses demineralisasi kulit udang melalui fermentasi asam laktat (diolah dari: Jung et al., 2005)

Menurut Healey et al., (2003), demineralisasi secara biologis melalui fermentasi asam laktat hampir sama dengan secara kimiawi yang menggunakan asam laktat. Akan tetapi demineralisasi menggunakan asam laktat langsung diperlukan dua tahapan proses. Proses pertama adalah pembentukan dan pemisahan asam laktat. Proses kedua adalah mereaksikan antara asam laktat dengan kalsium karbonat dalam kulit udang membentuk kalsium laktat.



Gambar 2.9. Reaksi antara asam laktat dan kalsium karbonat (Jung et al., 2005)

Fermentasi asam laktat merupakan proses perubahan bahan penghasil asam laktat seperti glukosa, sukrosa, maltosa dan laktosa menjadi asam laktat oleh enzim yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat termasuk dalam golongan bakteri gram positif, tidak berspora, berbentuk batang atau bulat, tidak berespirasi, dan suhu optimum pertumbuhan antara 20 – 40 °C. Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat adalah mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, tumbuh pada pH 3,8 sampai 8,0. Adapun bakteri yang tergolong dalam bakteri asam laktat adalah *Aerococcus*, *Carnobacterium*,

Lactobacillus, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, dan *Vagococcus* (Frazier dan Westhoff, 1988).

Bakteri-bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu bakteri homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri heterofermentatif selain menghasilkan asam laktat, juga karbondioksida dan etanol, sedangkan bakteri homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat. Anggota genus *Pediococcus*, dan *Streptococcus* merupakan bakteri homofermentatif, sedangkan genus *Leuconostoc* merupakan bakteri heterofermentatif. Genus bakteri *Lactobacillus* ada yang termasuk dalam bakteri homofermentatif dan heterofermentatif (Sharpe, 1981).

Beberapa penelitian proses demineralisasi kulit udang melalui fermentasi asam laktat antara lain bakteri asam laktat yang digunakan Rao dan Stevens (2006) adalah *L. plantarum*, sedangkan Beaney et al., (2005) menggunakan gabungan bakteri *L. salvarius*, *Enterococcus faecium* dan *P. acidilactici*. Adapun Jung et al., (2005) menggunakan bakteri *L. paracasei*.

Menurut Rao dan Stevens (2006), pemilihan jenis bakteri untuk proses demineralisasi pada tahapan ekstraksi kitin dari kulit *crustacea* didasarkan atas kemampuannya membiokonversi gula menjadi asam laktat, salah satu bakteri asam laktat yang efisien membiokonversi gula menjadi asam laktat adalah *L. acidophilus*. Bakteri ini bersifat homofermentatif, mampu membiokonversi gula menjadi asam laktat lebih dari 85 %.

L. acidophilus secara spesifik ditemukan dan tumbuh di dalam susu skim, termasuk golongan organisme gram positif dan non-motil. Bentuknya batang bulat 0,6 – 0,9 μm dan panjang 1,5 – 6,0 μm serta ada dalam bentuk tunggal atau berpasangan. Suhu pertumbuhan optimumnya adalah 37 °C dan tidak dapat tumbuh pada temperatur di bawah 22 °C atau di atas 45 °C (Karna et al., 2007).

L. acidophilus mempunyai kemampuan untuk berkembang dalam media asam dan juga dalam ragi, amigdalin, selobiosa, dan salicin. *L. acidophilus* dapat juga melakukan proses fermentasi pada rafinosa, trihalosa dan dekstrin. Sedangkan xylosa, arabinosa, rhamnosa, gliserol, manitol, sorbitol, dulsitol, dan

inositol tidak dapat difermentasi oleh bakteri asam laktat ini. Selain itu, *Lactobacillus* merupakan organisme probiotik yang memiliki banyak kemampuan penting, salah satu diantaranya dapat bertahan dalam koloni sel karena menghasilkan *bacteriocins* yang bekerja berlawanan terhadap pertumbuhan patogen (Karna et al., 2007).

2.3.2 Proses Deproteinasi

Kulit udang selain mengandung kitin juga mengandung protein, untuk mendapatkan kitin maka protein tersebut harus dihilangkan. Protein yang terdapat pada kulit udang dapat berikatan secara fisik dan kovalen. Protein yang terikat secara fisik dalam kulit udang dapat dihilangkan dengan perlakuan fisik seperti pengecilan ukuran, dan pencucian dengan air. Adapun protein yang terikat secara kovalen dapat dihilangkan dengan perlakuan kimia yaitu pelarutan dalam larutan basa kuat atau dengan perlakuan biologis (Synowiecki dan Al-Khateeb, 2003).

Deproteinasi secara kimia dari kulit udang dengan menggunakan larutan natrium hidroksida atau larutan basa lainnya dapat menyebabkan kerusakan pada asam amino protein, sehingga dikembangkan deproteinasi secara biologi dengan menggunakan mikroba atau enzim protease. Enzim protease yang dihasilkan mikroba adalah enzim yang mampu menghidrolisis ikatan peptida dalam protein. Menurut Waldeck et al., (2006) enzim protease ada yang memiliki aktivitas endopeptidolitik yaitu memutuskan ikatan peptida di dalam rantai polipeptida protein. Proses pemutusan ikatan peptida dengan katalis enzim terdapat pada Gambar 2.10 sedangkan secara skematis deproteinasi kulit udang dengan enzim protease dapat dilihat pada Gambar 2.11 (Junianto, 2008).

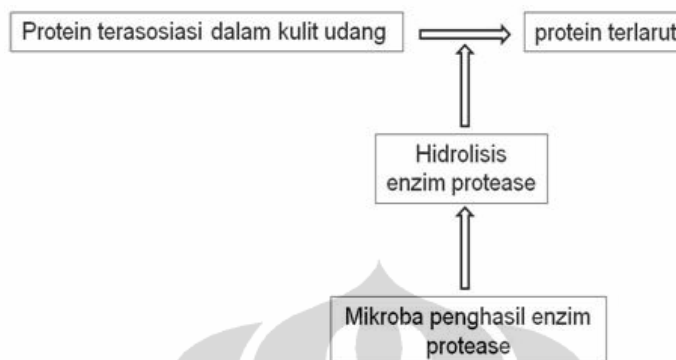


Gambar 2.10. Reaksi kimia pemutusan ikatan peptida dengan katalis enzim (diolah dari: Junianto, 2008)

Proses hidrolisis protein secara enzimatik memerlukan kondisi yang sesuai sehingga aksi enzim dalam memutuskan ikatan peptida menjadi maksimal.

Universitas Indonesia

Faktor-faktor yang perlu dikondisikan dalam proses hidrolisis adalah temperatur, jumlah dan jenis enzim yang digunakan, pH, dan waktu.



Gambar 2.11. Skematis deproteinasi secara biologi (Junianto, 2008)

Beberapa penelitian deproteinasi kulit udang secara biologi telah banyak dilakukan, baik yang menggunakan enzim yang ditambahkan langsung maupun enzim hasil metabolik sekunder dari proses kultivasi mikroba (Yang et al., 2000). Bustos dan Healy (1994) telah membandingkan penggunaan enzim langsung dengan enzim hasil metabolik kultivasi mikroba pada proses deproteinasi kulit udang. Hasilnya menunjukkan tingkat hidrolisis protein kulit udang menggunakan enzim hasil kultivasi mikroba (82%) lebih baik dibandingkan menggunakan enzim yang ditambahkan langsung (64%). Menurut Gagne dan Simpson (1993) rasio enzim papain terhadap kulit udang yang dibutuhkan untuk memperoleh hasil maksimum pada proses deproteinasi adalah sangat tinggi yaitu 1 : 10 (b/b).

Bustos dan Healey (1994) menyatakan penggunaan enzim langsung untuk proses deproteinasi pada tahapan ekstraksi kitin dari kulit udang diperlukan dua tahapan proses. Tahapan pertama dilakukan proses isolasi dan pemurnian terhadap enzim proteolitik dari jaringan hewan dan tanaman atau hasil metabolik sekunder mikroba. Tahapan kedua adalah enzim yang telah diisolasi dan dimurnikan tersebut digunakan untuk proses hidrolisis protein terhadap kulit udang. Akan tetapi, proses deproteinasi kulit udang melalui kultivasi mikroba proteolitik hanya dilakukan satu tahapan saja yaitu tidak diperlukan proses isolasi dan pemurnian enzim. Enzim hasil metabolik mikroba langsung menghidrolisis protein kulit udang yang terdapat dalam kultivasi tersebut.

Deproteinasi kulit udang melalui kultivasi mikroba telah banyak dilakukan. Bustos and Healy (1994) melaporkan penggunaan campuran mikroba *B. subtilis*, *S. faecium*, *P. pentasaseus*, dan *A. oryzae* dan mampu mendeproteinasi 81,7 % dari kulit udang yang telah didemineralisasi secara kimia. Yang et al., (2000), menggunakan *B. subtilis* dan mampu mendeproteinasi 78 % dari kulit udang segar.

Bacillus licheniformis mempunyai potensi untuk digunakan pada proses deproteinasi kulit udang (Waldeck et al., 2006). *B. licheniformis* merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang dengan panjang antara 1,5 μm sampai 3 μm dan lebar antara 0,6 μm sampai 0,8 μm . Spora bakteri ini berbentuk batang silindris atau elips dan terdapat pada sentral atau parasentral. Suhu maksimum pertumbuhannya adalah 50 – 55 °C dan suhu minimumnya 15 °C.

B. licheniformis merupakan species bakteri yang mampu menghasilkan protease dalam jumlah yang relatif tinggi. Jenis protease yang dihasilkan adalah enzim ekstraselular yang tergolong proteinase serin. Enzim ini bekerja sebagai endopeptidase yaitu memutuskan ikatan peptida yang berada dalam rantai protein sehingga dihasilkan peptida dan polipeptida (Fleming et al., 1995).

Sifat dari enzim protease serin adalah aktivitasnya dapat dihambat kuat oleh senyawa diisopropil-fluorofosfat (DFP), 3,4-dichloroisocoumarin (3,4-DCL), L-3-carboxytrans-2,3-epoxypropyl-leucylamido (4-guanidine), butane, phenyl methyl sulfonyl fluoride (PMSF), dan tosyl-L-lysine chloromethyl ketone (TLCK). Selain itu, protease serin tahan terhadap EDTA (Ethylene diamine tetraacetic acid) dan adanya ion Ca^{++} dapat menstabilkan enzim ini pada suhu tinggi (Rao et al., 1998).

2.4 Sistem Fermentasi

Proses deproteinasi maupun demineralisasi dalam ekstraksi kitin dari kulit udang secara biologi dilakukan dengan memanfaatkan kemampuan mikroba dalam suatu proses kultivasi. Kultivasi mikroba dilakukan bersama-sama dengan kulit udang dalam suatu sistem fermentasi (Stevens et al., 1998; Jung et al., 2005).

Untuk proses deproteinasi, kultivasi mikroba dimaksudkan untuk

Universitas Indonesia

memproduksi enzim protease yang selanjutnya enzim ini menghidrolisis protein yang terikat secara kovalen dalam kulit udang (Healey et al., 2003). Adapun pada proses demineralisasi, kultivasi mikroba dimaksudkan untuk memproduksi asam laktat. Asam laktat yang terbentuk secara bersamaan akan bereaksi dengan kalsium karbonat, komponen mineral yang terdapat dalam kulit udang (Rao et al., 2000).

Keberhasilan ekstraksi kitin secara biologi pada tahapan deproteinasi dipengaruhi oleh kemampuan enzim untuk menghidrolis protein. Kemampuan atau aktivitas enzim ini salah satunya dipengaruhi oleh jumlah enzim yang dihasilkan dalam suatu kultivasi. Semakin banyak jumlah enzim yang dihasilkan maka aktivitas enzim semakin tinggi pula, sehingga semakin banyak protein pada kulit udang yang dihidrolisis (Bustos dan Healy, 1994).

Keberhasilan ekstraksi kitin secara biologi pada tahapan demineralisasi dipengaruhi oleh jumlah asam laktat. Semakin banyak jumlah asam laktat yang dihasilkan maka semakin banyak kalsium karbonat pada kulit udang yang dapat dilarutkan (Rao et al., 2000).

Menurut Stanbury dan Whitaker (1984), enzim dan asam laktat merupakan produk metabolik mikroba yang dikultivasi dalam suatu sistem fermentasi. Enzim merupakan produk metabolit sekunder sedangkan asam laktat termasuk metabolik primer. Metabolit sekunder bakteri akan diproduksi maksimal pada saat bakteri tersebut telah memasuki fase eksponensial sedangkan metabolit primer diproduksi sejalan dengan meningkatnya pertumbuhan bakteri.

Strategi untuk memproduksi secara maksimal baik terhadap produk metabolik primer maupun sekunder pada fermentasi medium cair telah banyak dilaporkan. Fleming et al., (1995), menggunakan fermentasi *batch* untuk mengoptimalkan sintesis enzim ekstraseluler dari *B. licheniformis* DN286 dan *B. subtilis* 168. Lee et al., (2007) menggunakan fermentasi *fed batch* untuk memproduksi bakteri asam laktat. Ling et al., (2006) memproduksi asam laktat secara kontinyu menggunakan *L. rhamnosus*. Sedangkan Hipolito et al., (2002) menggunakan fermentasi kontinyu untuk mengoptimalkan produksi asam laktat melalui kultivasi *Lactococcus lactis*.

Universitas Indonesia

Saat ini belum banyak dilakukan penelitian proses demineralisasi dan deproteinasi kulit udang untuk ekstraksi kitin secara biologis melalui proses fermentasi kontinyu, penelitian kebanyakan masih menggunakan sistem fermentasi *batch*, hasil penelitian terakhir proses demineralisasi kulit udang menggunakan mikroba *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 yang dilanjutkan proses deproteinasi secara biologis menggunakan *Bacillus licheniformis* F11.1 pada sistem fermentasi *batch* berturut-turut (*subsequent-batch*).

Pada sistem *subsequent-batch* tersebut, fermentasi *batch* pertama demineralisasi dan deproteinasi dilakukan selama 24 jam, kemudian penggantian media fermentasi diganti dengan media baru sebanyak 100% selanjutnya dilakukan fermentasi *batch* ke dua. Dengan sistem fermentasi ini pada proses demineralisasi mampu menurunkan kandungan abu sampai 95,69% setelah 12 jam fermentasi ke dua, sedangkan pada proses deproteinasi terjadi penurunan kandungan protein 92,42 % setelah 72 jam fermentasi ke dua, total kitin yang diperoleh sebanyak 97,26% dengan kadar abu 0,84% dan protein 1,42% (Junianto, 2008).

2.5. State of The Art

Proses ekstraksi kitin di industri saat ini, dilakukan secara kimiawi menggunakan 1 - 10% asam klorida (HCl) untuk demineralisasi dan 1 - 10% sodium hidroksida (NaOH) untuk deproteinasi. Menurut Toan et al., (2006) dan Mahmoud et al., (2007), ekstraksi secara kimiawi dapat mempengaruhi sifat fisika-kimia kitin, diantaranya dapat menghidrolisis rantai β -glikosidik sebagai rantai utama kitin, sehingga terjadi penurunan berat molekul, viskositas, dan derajat deasetilasi kitin, yang berakibat pada rendahnya kualitas kitin.

Akibat pengaruh negatif proses kimiawi tersebut, maka banyak penelitian dilakukan untuk memperbaiki proses kimiawi, atau mencari alternatif pengganti proses tersebut, diantaranya dilakukan oleh Toan et al., (2006), yang memadukan antara proses kimiawi dengan biologis, kulit udang difermentasikan secara alami selama 24 - 48 jam, kemudian diberi perlakuan $0,68 \text{ mol L}^{-1}$ HCl dan $0,62 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH selama 6 - 20 jam, mampu menurunkan abu dan protein kurang dari 1%.

Universitas Indonesia

Beberapa hasil penelitian proses demineralisasi dan deproteinasi secara biologis yang telah dilakukan diantaranya: Rao et al., (2000) menggunakan *L. Plantarum* dengan berbagai perlakuan penambahan asam organik, mampu menurunkan mineral pada kisaran 86% - 90% dan protein sekitar 75% - 88%. Healey et al., (2003), demineralisasi menggunakan konsorsia mikroba asam laktat *L. plantarum*, *L. salivarius*, *Streptococcus faecium* dan *Pediococcus acidilactici*, dapat menurunkan mineral sebesar 93,8%.

Kemudian, Jung et al., (2005), demineralisasi menggunakan *L. Paracasei* subsp. *Tolerans* KCTC-3074, dapat menurunkan mineral 81%. Kemudian Beaney et al., (2005), menggunakan konsorsia *L. salivarius*, *Enterococcus faecium* dan *P. Acidilactici*, dapat menurunkan mineral sebesar 77,61% dan protein sebesar 49,37%. Jung et al., (2005), menggunakan konsorsia *L. Paracasei* subsp. *Tolerans* KCTC-3074 dan *Serratia marcescens*, dapat menurunkan mineral sekitar 97,2% dan protein 52,6% setelah 7 hari proses. Selanjutnya penelitian yang dilakukan Rao dan Stevens (2005), demineralisasi menggunakan *L. Plantarum* 541, berhasil menurunkan mineral sebesar 88%.

Rao dan Stevens (2006), demineralisasi menggunakan *L. Plantarum*, berhasil menurunkan mineral sebesar 81,4%, sedangkan proses deproteinasi yang dilakukan Rao dan Stevens (2006), menggunakan *L. Plantarum* strain 541 dan strain A6, berhasil menurunkan protein masing-masing sebesar 59,8% dan 52,2%. Bhaskar et al., (2006), menggunakan *Pediococcus acidolactici* CFR2182 dapat menurunkan mineral 72.5% dan protein 97,9%.

Kemudian Waldeck et al., (2006), deproteinasi menggunakan *B. licheniformis* mampu menurunkan protein sebesar 97,5%. Taek Oh et al., (2007), demineralisasi menggunakan *Pseudomonas aeruginosa* F722 mampu menurunkan mineral sampai 92%. Sini et al., (2007) menggunakan *B.subtilis* dapat menurunkan mineral sebesar 72% dan protein hingga 84%. Selanjutnya Jung et al., (2007) deproteinasi menggunakan *Serratia marcescens* FS-3 dapat menurunkan protein sebesar 68,9%. Mizani dan Aminlari (2007), deproteinasi menggunakan enzim alcalase (0,5%) mampu menurunkan protein hingga 64%.

Universitas Indonesia

Penelitian demineralisasi yang dilakukan Choorit et al., (2008), menggunakan *Pediococcus* sp dapat menurunkan mineral 83,47%. Junianto (2008), proses demineralisasi dan deproteinasi menggunakan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 dan *Bacillus licheniformis* F11.1, menggunakan sistem fermentasi *subsequent batch*, mampu menurunkan mineral 95,69% dan protein 92,42%. Penelitian demineralisasi oleh Pacheco et al., (2009), menggunakan *Lactobacillus plantarum* dapat menghasilkan asam laktat sekitar 0.319 mmol/g yang memberikan efek demineralisasi tertinggi.

Penelitian yang sudah dilakukan seperti yang diuraikan di atas, seluruhnya menggunakan sistem fermentasi *batch*, salah satu hasil penelitian yang dilakukan oleh Junianto (2008) menggunakan sistem fermentasi *subsequent batch*. Tingkat penyisihan mineral dan protein dengan sistem fermentasi *batch*, seperti diuraikan di atas masih relatif rendah yaitu sekitar 95%.

Berdasarkan fakta tersebut, maka penelitian ekstraksi kitin dengan sistem fermentasi kontinyu merupakan inovasi baru. Sistem fermentasi kontinyu memiliki beberapa keunggulan dibandingkan fermentasi *batch*, ditambah dengan penggunaan mikroba yang unggul seperti *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 dan *Bacillus licheniformis* F11.1 untuk proses demineralisasi dan deproteinasi, dapat memberikan nilai tambah sebagai teknologi alternatif yang cukup menjanjikan untuk produksi kitin secara biologis.