



UNIVERSITAS INDONESIA

AMOBILISASI SEL
Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan *Bacillus licheniformis
F11.4 UNTUK DEMINERALISASI DAN DEPROTEINASI
LIMBAH KULIT UDANG DALAM PENGOLAHAN KITIN

TESIS

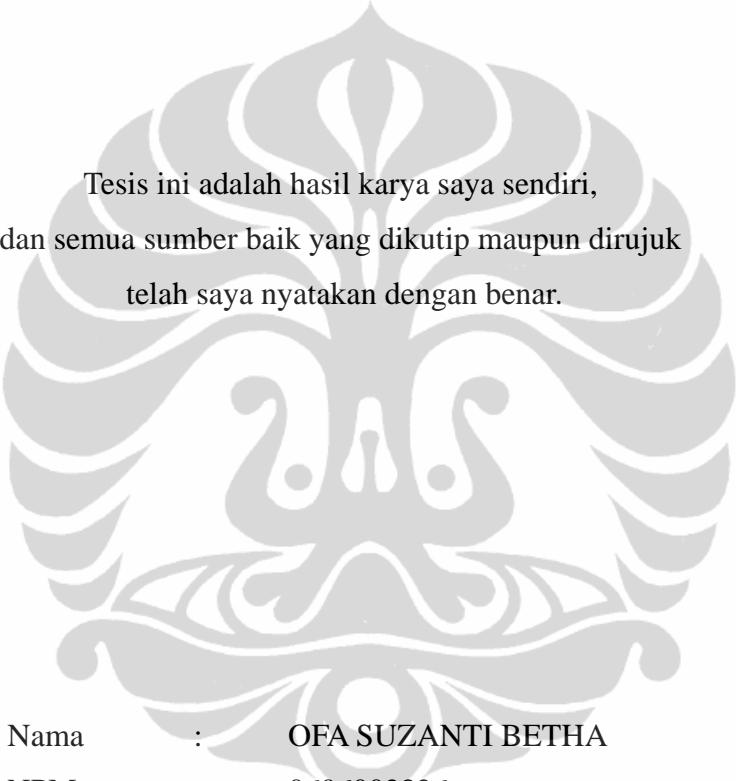
**“diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Master
pada program pascasarjana Ilmu Kefarmasian FMIPA UI”**

OFA SUZANTI BETHA
0606002326

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCA SARJANA
PROGRAM STUDI ILMU KEFARMASIAN
DEPOK

JULI 2009.

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS



Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : OFA SUZANTI BETHA
NPM : 0606002326

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Ofa Suzanti Betha
NPM : 0606002326
Program Studi : Ilmu Kefarmasian
Judul : Amobilisasi Sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan
Bacillus licheniformis F11.4 untuk Demineralisasi dan
Deproteinasi Limbah Kulit Udang Dalam Pengolahan Kitin

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Ilmu Kefarmasian pada Program Studi Ilmu Kefarmasian Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

Dewan Penguji

Pembimbing : Dr. Herman Suryadi,MS (.....)
Pembimbing : Dr. Siswa Setyahadi (.....)
Penguji : Dr. Harmita (.....)
Penguji : Dr. Amarila Malik (.....)
Penguji : Dr. Arry Yanuar,MS (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal :

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis haturkan kepada Allah SWT, karena tanpa rahmat dan karunia dari-Nya tidak akan mungkin penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Selanjutnya, penulis ingin menyampaikan penghargaan dan terima kasih kepada pihak yang telah berjasa membantu dan memberikan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

1. Bapak Dr. Herman Suryadi MS dan Dr. Siswa Setyahadi selaku pembimbing yang telah membimbing sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS, dan Bapak Dr. Maksun M. Rajdi, M.Biomed, selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA Univ. Indonesia, yang telah memberikan bantuan dan fasilitas selama penulis mengikuti pendidikan Program Magister Sarjana Farmasi.
3. Prof. Dr. Endang Hanani, MS dan Prof. Dr. Effionora, selaku Ketua Program Pasca Sarjana Ilmu Kefarmasian FMIPA UI, yang telah banyak memberikan bantuan, bimbingan, saran dan fasilitas kepada penulis.
4. Bapak Dr. Achmadin Luthfi, selaku Kepala Laboratorium Teknologi Bioindustri BPPT, yang telah memberikan kesempatan, fasilitas kepada penulis untuk melakukan penelitian.
5. Karyawan/ pegawai pada Program Pasca Sarjana Ilmu Kefarmasian FMIPA UI, mba' Lilis & Arni yang telah banyak membantu administrasi.
6. Bapak/Ibu Peneliti Senior, Staff peneliti dan rekan sesama peneliti pada Laboratorium Teknologi Bioindustri BPPT beserta, (t'Rita, Viola, m'Widy, Mumu) atas ide, ilmu, pengalaman, dukungannya.
7. Rekan-rekan mahasiswa Program Pasca Sarjana Ilmu Kefarmasian FMIPA UI Angkatan 2006 Hayu, Bu Eko, Bu Silvi, yang telah banyak memberi bantuan.
8. Keluarga, suami, orang tua yang penulis hormati yang telah memberikan bantuan moril materil,
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil, baik penulis sadari atau tidak, kami ucapkan terim kasih

Jakarta, Juli 2009

Penulis,

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ofa Suzanti Betha
NPM : 0606002326
Program Studi: Ilmu Kefarmasian
Departemen : Farmasi
Fakultas : MIPA
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free-Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Amobilisasi Sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan *Bacillus licheniformis* F11.4 untuk Demineralisasi dan Deproteinasi Limbah Kulit Udang dalam Pengolahan Kitin

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta/dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di :
Pada tanggal :

Yang menyatakan

(OFA SUZANTI BETHA)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan penelitian	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Amobilisasi Sel	4
2.2 Metoda Amobilisasi Sel	4
2.3 Teknik Pembuatan Sel Amobil	6
2.4 Matrik Amobilisasi	6
2.5 Kitin	7
2.6 Proses Pengolahan Kitin	8
2.7 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	9
2.8 <i>Bacillus licheniformis</i>	10
2.9 Metoda Umum Pengujian Protease	10
2.10 Metoda Pengujian Protein	11
2.11 Metoda Pengujian Asam Laktat	12
2.12 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	12
2.13 Spektrofotometer	13
3. BAHAN , ALAT DAN METODA	
3.1 Bahan	15
3.2 Alat	15
3.3 Metoda	15
4. HASIL PENELITIAN	21
5. PEMBAHASAN	25
6. KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	34
6.2 Saran	34
DAFTAR REFERENSI	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Rumus struktur kitin.....	7
Gambar 2.	Sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116.....	40
Gambar 3.	Sel amobil <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4.....	40
Gambar 4.	Foto SEM (perbesaran 50 x) butiran alginat tanpa sel bakteri.....	41
Gambar 5.	Foto SEM (perbesaran 500 x) butiran alginat tanpa sel bakteri.....	41
Gambar 6.	Foto SEM (perbesaran 50x) sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116 dalam gel alginat 2%	42
Gambar 7.	Foto SEM (perbesaran 500 x) sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116 dalam gel alginat 2%.....	42
Gambar 8.	Foto SEM (perbesaran 50 x) sel amobil <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4 dalam alginat 2%.....	43
Gambar 9.	Foto SEM (perbesaran 500 x) sel amobil <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4 dalam alginat 2%.....	43
Gambar 10.	Kulit Udang Sebelum Diproses.....	44
Gambar 11.	Kulit Udang Hasil Demineralisasi.....	44
Gambar 12.	Kulit Udang Hasil Deproteinasi.....	44
Gambar 13.	Wadah fermentasi kulit udang	45
Gambar 14.	Spektrofometer U-2001 Hitachi.....	45
Gambar 15.	Thermomixer (Eppendorf).....	45
Gambar 16.	HPLC (Merck).....	46
Gambar 17.	Sentrifugator (Sigma 201 M).....	46
Gambar 18.	pHmeter (Inolab).....	46
Gambar 19.	Pengaruh Konsentrasi Sel Amobil terhadap Kadar Asam Laktat pada fermentasi sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116 ...	47
Gambar 20.	Pengaruh Konsentrasi Sel Amobil terhadap pH pada fermentasi sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116	47
Gambar 21.	Pengaruh konsentrasi kulit udang terhadap pH pada demineralisasi menggunakan 30% sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116.....	48
Gambar 22.	Pengaruh konsentrasi kulit udang terhadap kadar asam laktat pada demineralisasi menggunakan 30% sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116.....	48

Gambar 23.	Pengaruh konsentrasi kulit udang terhadap pH pada demineralisasi menggunakan 20% sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116.....	49
Gambar 24.	Pengaruh konsentrasi kulit udang terhadap kadar asam laktat pada fermentasi demineralisasi menggunakan sel amobil 20% <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116.....	49
Gambar 25.	Pengaruh perbedaan konsentrasi sel terhadap pH pada demineralisasi menggunakan sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116.....	50
Gambar 26.	Pengaruh perbedaan konsentrasi sel terhadap konsentrasi asam laktat pada medium A (sel30%) dan E (sel20%), konsentrasi kulit udang 10%.....	51
Gambar 27.	Pengaruh perbedaan konsentrasi sel terhadap konsentrasi asam laktat pada medium B (sel30%) dan F (sel20%) konsentrasi kulit udang 20%.....	51
Gambar 28.	Pengaruh perbedaan konsentrasi sel terhadap konsentrasi asam laktat pada medium C (sel30%) dan G (sel20%) konsentrasi kulit udang 30%.....	51
Gambar 29.	Pengaruh konsentrasi sel terhadap aktivitas protease pada fermentasi sel amobil <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4.....	52
Gambar 30.	Pengaruh temperatur terhadap aktivitas protease pada fermentasi deproteinasi sel amobil <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4.....	52
Gambar 31.	Pengaruh konsentrasi sel amobil terhadap aktivitas protease pada deproteinasi menggunakan sel amobil <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4.....	53
Gambar 32.	Pengaruh konsentrasi kulit udang terhadap aktivitas protease pada deproteinasi menggunakan sel amobil <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4.....	53
Gambar 33	Kurva Kalibrasi Protein.....	54
Gambar 34.	Spektrum Asam Laktat Standar.....	55
Gambar 35.	Spektrum Asam Laktat Sampel.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Pengaruh konsentrasi sel amobil terhadap pH dan konsentrasi asam laktat pada fermentasi sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116	57
Tabel 2.	Pengaruh konsentrasi sel amobil dan kulit udang terhadap pH dan kadar asam laktat pada demineralisasi menggunakan sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116	57
Tabel 3.	Pengaruh konsentrasi sel amobil dan kulit udang terhadap kadar abu kulit udang pada demineralisasi menggunakan sel amobil <i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC116.....	57
Tabel 4.	Pengaruh konsentrasi sel amobil terhadap aktivitas protease pada fermentasi sel amobil <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4.....	58
Tabel 5.	Aktivitas enzim protease pada fermentasi deproteinasi kulit udang menggunakan 30% sel <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4 pada suhu 37°C	58
Tabel 6.	Aktivitas protease pada deproteinasi 30% kulit udang menggunakan 30% sel <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4 pada suhu 40°C.....	59
Tabel 7.	Aktivitas protease pada deproteinasi kulit udang menggunakan 30% sel <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4 pada suhu 55°C.....	59
Tabel 8.	Aktivitas protease pada deproteinasi 30% kulit udang menggunakan 20% sel <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4 pada suhu 40°C.....	60
Tabel 9.	Aktivitas protease pada deproteinasi 20% kulit udang menggunakan 30% sel <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4 suhu 40°C.....	60
Tabel 10.	Pengaruh temperatur terhadap kadar protein pada deproteinasi sel amobil <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4	61
Tabel 11.	Pengaruh konsentrasi sel amobil kadar protein kulit udang pada deproteinasi <i>Bacillus licheniformis</i> F11,4 temperatur 40°C.....	61
Tabel 12.	Pengaruh konsentrasi kulit udang terhadap kadar protein pada deproteinasi sel amobil <i>Bacillus licheniformis</i> F11.4 temperatur 40°C.....	61
Tabel 13.	Data Pembuatan Kurva Kalibrasi Protein BSA.....	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Cara pembuatan reagen dan larutan buffer yang digunakan.....	64
Lampiran 2.	Pembuatan medium fermentasi.....	65
Lampiran 3.	Cara perhitungan aktivitas protease (metoda Waldeck).....	66
Lampiran 4.	Cara perhitungan kadar protein dalam kulit udang.....	67
Lampiran 5.	Prosedur dan hasil perhitungan kepadatan sel dalam butiran sel amobil.....	68
Lampiran 6.	Skema amobilisasi sel bakteri.....	69
Lampiran 7.	Skema proses demineralisasi kulit udang.....	70
Lampiran 8.	Skema proses deproteinasi.....	71



ABSTRAK

Nama : Ofa Suzanti Betha
Program Studi : Ilmu Kefarmasian
Judul : Amobilisasi Sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan *Bacillus licheniformis* F11.4 untuk Demineralisasi dan Deproteinasi Limbah Kulit Udang Dalam Pengolahan Kitin

Kitin merupakan salah satu polimer alam yang banyak tersedia dalam sesudah selulosa. Kitin dan turunannya telah banyak digunakan diberbagai bidang diantaranya pertanian, tekstil, khususnya farmasi dan kesehatan. Limbah kulit udang yang merupakan sumber bahan baku pengolahan kitin menghasilkan kualitas kitin yang lebih baik apabila diolah dengan cara biologi dibandingkan cara kimia. Pengolahan kitin secara biologi menggunakan asam laktat untuk demineralisasi dan enzim protease hasil fermentasi bakteri untuk proses deproteinasi. Telah dilakukan penelitian terhadap kemampuan sel amobil *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan *Bacillus licheniformis* F11.4 dalam proses demineralisasi dan deproteinasi limbah kulit udang dalam ekstraksi kitin dengan tujuan untuk efisiensi proses fermentasi. Proses amobilisasi kedua jenis bakteri ini dilakukan dengan menggunakan metoda penjerapan sel di dalam matrik natrium alginat 2% yang selanjutnya direaksikan dengan CaCl_2 0,2M. Proses demineralisasi limbah kulit udang menggunakan sel amobil *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 30% dan medium yang terdiri dari 6% glukosa, 1,5% yeast, 0,003% MnSO_4 , 0,003% $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,02% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ mampu menghasilkan asam laktat sampai 2,24% dan mampu menurunkan kadar abu dalam kulit udang sampai dengan 1,18%. Sel amobil *Bacillus licheniformis* F11.4 pada fermentasi menggunakan medium yang terdiri dari 0,5% yeast, 0,5% NaCl 0,05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ mampu menghasilkan enzim protease dengan aktivitas tertinggi sebesar 25,18 U/ml. Proses deproteinasi limbah kulit udang menggunakan sel amobil *Bacillus licheniformis* F11.4 30% mampu menurunkan kadar protein dalam kulit udang sampai 2,73% dengan aktivitas protease tertinggi 50,61 U/ml. Hasil penelitian ini menunjukkan, sel amobil *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan *Bacillus licheniformis* F11.4 mampu menurunkan kadar abu dan kadar protein kulit udang dalam tahapan pengolahan kitin secara biologi.

Kata kunci :

Amobilisasi, kitin, *Lactobacillus acidophilus* FNCC116, *Bacillus licheniformis* F11.4.

ABSTRACT

Name : Ofa Suzanti Betha
Study Programe : Pharmacy
Title : Cell Immobilization of *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 and *Bacillus licheniformis* F11.4 for Demineralization and Deproteinization in Bioprocessing Chitin Recovery from Shrimp Shell Waste.

Chitin, a homopolimer, is the most abundant renewable natural resources after cellulose. Chitin and its derivatives hold many applications in agriculture, textile, pharmacy and medic. Chitin that extracted from waste shrimp shells by biological fermentation has better quality than chemical procees. Demineralization of chitin by biological procees use lactic acid as product of fermentation. Deproteinization of chitin use proteolytic activity of enzyme that produce by bacteria in fermentation. *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 and *Bacillus licheniformis* F11.4 has been immobilized by entrapment methods and 2% sodium alginate in 0,2 M CaCl₂ as the matric . The ability of immobilized *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 cell in fermentation was tested. The fermentation that was carried out in medium which consist of 6% glukosa, 1,5% yeast extract, 0,003% MnSO₄ 0,003% FeSO₄.7H₂O, 0,02% MgSO₄.7H₂O and has been produced 2,24% lactic acid. Demineralization of waste shrimp shell with 30% immobilized *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 cell has successfully decreased ash content tol 1,18% and produced lactic acid maximum 2.24%. Immobilized *Bacillus licheniformis* F11.4 cell in fermentation produced protease enzyme with maximum activity 25.18 U/ml. Deproteinization of waste shrimp shell with 30% immobilized *Bacillus licheniformis* F11.4 cell can decreased protein content to 2,73% and reached highest protease activity 50,61 U/ml. Immobilization of *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 cell and *Bacillus licheniformis* F11.4 cell promised an efficient method in bioproceesing of chitin recovery.

Key words :

Immobilization cell, chitin, *Lactobacillus acidophilus* FNCC116, *Bacillus licheniformis* F11.4.