

BAB V. PEMBAHASAN

5.1 Amobilisasi Sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC116.

Hasil foto SEM dengan perbesaran 50 kali memperlihatkan perbedaan bentuk permukaan butiran yang sudah mengandung sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dengan butiran gel alginat yang masih kosong. Butiran alginat yang kosong lebih beralur atau kasar sedangkan butiran gel yang mengandung sel amobil permukaan lebih rapat dan kompak (Gambar 4 dan 6).

Pada hasil foto SEM perbesaran 500 kali dari butiran gel alginat yang masih kosong (Gambar 5) terlihat adanya pori-pori. Pada hasil foto SEM butiran gel sel amobil *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 (Gambar 7) hampir tidak terlihat lagi pori-porinya dan permukaannya gel terlihat rapat dan kompak. Hal ini disebabkan karena sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 telah mengalami penyerapan di dalam pori-pori gel alginat.

Dalam penelitian kali ini, dilakukan amobilisasi menggunakan natrium alginat sebagai matrik karena matrik ini yang paling banyak digunakan sebagai matrik untuk amobilisasi bakteri secara umum, harganya lebih murah dibandingkan matrik jenis lain (Brodelius dan Vandamme, 1987). Alginat akan membentuk gel dengan ion-ion divalent pada konsentrasi tinggi. Kekakuan struktur gel alginat akan bertambah secara umum seiring dengan afinitasnya terhadap ion berdasarkan urutan sebagai berikut, Mn>Co>Zn>Cd>Ni>Cu>Pb>Ca>Sr>Ba. Tidak semua ion-ion ini dapat digunakan untuk amobilisasi sel. Ion Ca^{2+} adalah ion yang paling umum digunakan untuk tujuan amobilisasi sel karena toksisitasnya paling rendah. Kemampuan alginat membentuk gel juga ditentukan oleh kadar asam guluronat yang menyusun struktur alginat. Kekuatan gel ditentukan oleh ukuran molekul dan komposisi struktur yang menyusun alginat. Tingginya kandungan asam guluronat didalam alginat akan menyebabkan alginat dapat mengikat ion divalent tadi lebih baik dibandingkan dengan alginat yang lebih sedikit mengandung asam

guluronat sehingga akan menghasilkan gel yang lebih kuat dan lebih stabil. Variable lain yang menentukan proses pembentukan gel dengan alginat adalah jenis dan viskositas alginat yang digunakan, pH, temperatur, adanya senyawa seperti EDTA atau sitrat dan konsentrasi ion kalsium (Orive, dkk 2006.)

Prosedur amobilisasi menggunakan matrik natrium alginat ini sangat sederhana dan tingkat keberhasilannya tinggi. Butiran alginat dapat dibuat dalam jumlah banyak dalam waktu singkat dan dengan menggunakan peralatan yang sederhana. Walaupun matrik ini ada kekurangannya yaitu, sel bakteri masih dapat bermigrasi keluar matrik amobilisasi melalui pori yang terbentuk di dalam struktur gel alginat dengan ion kalsium. Pada penelitian ini hal tersebut dapat diterima. Bakteri yang keluar dari matrik tidak akan mengganggu proses fermentasi (Brodelius dan Vandamme, 1987).

Konsentrasi alginat untuk amobilisasi sel biasanya 1% - 5% tergantung pada jenis alginat yang digunakan (Brodelius dan Vandamme, 1987). Pada proses amobilisasi ini konsentrasi natrium alginat yang digunakan untuk kedua jenis bakteri sama yaitu 2%. Konsentrasi ini didapatkan dari pengujian pendahuluan dengan membuat butiran kosong tanpa dicampur dengan sel bakteri. Dari hasil percobaan pendahuluan tersebut didapatkan konsentrasi 2 % yang dapat membentuk butiran yang bulat. Butiran sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 amobil yang diperoleh berbentuk bulat, dengan ukuran diameter 1-3 mm berwarna putih susu, sangat berbeda dengan warna larutan gel natrium alginat yang bening. Selanjutnya perlu juga dilakukan penelitian terhadap konsentrasi optimal natrium alginat yang menghasilkan asam laktat yang maksimal dan menghasilkan penurunan mineral yang maksimal.

5.2 Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Sel Amobil Terhadap pH dan Konsentrasi Asam Laktat pada Fermentasi Sel Amobil *Lactobacillus acidophilus* FNCC116.

Fermentasi sel amobil *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 menggunakan medium yang terdiri dari glukosa 6%, ekstrak khamir 1,5%, MnSO₄ 0,003%

FeSO₄.7H₂O 0,003% MgSO₄.7H₂O 0,02% dapat menghasilkan asam laktat dan penurunan pH medium. Dari hasil pengamatan pH dan kadar asam laktat dapat dilihat bahwa fermentasi sel amobil *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 sudah dapat menghasilkan asam laktat pada jam ke 6 dengan penambahan glukosa sebesar 6%. Pada masing-masing medium jumlah asam laktat meningkat sampai akhir fermentasi. Jika dibandingkan antara jumlah asam laktat pada setiap waktu pengamatan terlihat bahwa dengan bertambahnya konsentrasi sel amobil maka konsentrasi asam laktat juga lebih besar. Pada jam ke 36 kadar asam laktat paling tinggi dihasilkan oleh medium D₀ (sel amobil 30%) (Tabel.1 dan Gambar 19).

Secara umum pada fermentasi sel amobil tanpa kulit udang ini terlihat bahwa penurunan pH terjadi berbanding lurus dengan jumlah asam laktat yang dihasilkan setiap waktunya. Jumlah asam laktat meningkat sampai pada jam ke 36 dan menghasilkan pH yang cukup rendah pada keempat medium yaitu antara 3,25 – 2,73. Penurunan pH pada diantara ke empat medium perbedaannya tidak terlalu jauh. pH akhir pada jam ke 36 dari medium B₀, C₀ dan D₀ terlihat sama, meskipun kadar asam laktat yang terukur berbeda (Tabel.1 dan Gambar 20.)

5.3 **Demineralisasi kulit udang menggunakan sel amobil *Lactobacillus acidophilus* FNCC116.**

5.3.1 Pengaruh Konsentrasi Kulit Udang terhadap pH, Konsentrasi Asam Laktat dan Kadar Abu pada Konsentrasi Sel Amobil 30%.

Dari pengamatan pH pada medium A, B dan C terlihat adanya penurunan pH sampai pada jam ke 24 kemudian naik sedikit sampai pada jam ke 48 (Tabel 2 Gambar 21). Kondisi pH pada demineralisasi kulit udang juga dipengaruhi oleh terbentuknya kalsium laktat yang terbentuk dari reaksi asam laktat dengan kalsium karbonat yang terdapat pada kulit udang. Kalsium laktat yang terbentuk akan menyebabkan naiknya pH medium (Rao dan Stevens, 2005) sehingga pH pada demineralisasi kulit udang tidak sampai serendah pada fermentasi tanpa kulit udang. Jika dibandingkan pH antara medium A B dan C terlihat bahwa pH pada medium C sedikit lebih tinggi dari medium B dan A (Tabel.2 Gambar 21). Hal ini terjadi karena perbedaan konsentrasi kulit udang. Dari pengamatan ini dapat dilihat bahwa konsentrasi kulit udang ternyata mempengaruhi pH medium.

Konsentrasi asam laktat tertinggi pada medium A dicapai pada jam ke 36 sebesar 1,86% kemudian turun lagi sampai pada jam 48 sebesar 1,66%. Pada medium B konsentrasi asam laktat masih terus meningkat sampai didapatkan konsentrasi tertinggi pada jam ke 42 sebesar 2,17%. Hal yang sama terjadi pada medium C dimana asam laktat tertinggi dihasilkan pada jam ke 36 sebesar 2,24%. Dari hasil ini terlihat bahwa konsentrasi kulit udang dalam medium mempengaruhi konsentrasi asam laktat yang dihasilkan sel amobil meskipun perbedaannya tidak terlalu besar pada medium B dan C (Tabel 2, Gambar 21).

Pengukuran kadar abu kulit udang pada medium A B dan C menunjukkan bahwa konsentrasi kulit udang 10% (medium A) menghasilkan penurunan yang lebih besar dari pada medium B dan C akan tetapi jika dilihat dari selisihnya tidak terlalu besar. Konsentrasi udang 20% dan 30% menghasilkan produk fermentasi yang lebih banyak meskipun kadar abu sedikit lebih tinggi. Penurunan yang lebih besar dengan hasil yang banyak bisa jadi dicapai dengan menambah waktu fermentasi mengganti medium pada waktu tertentu.

5.3.2 Pengaruh Konsentrasi Kulit Udang terhadap pH, Konsentrasi Asam Laktat dan Kadar Abu pada Konsentrasi Sel Amobil 20%.

Dari pengamatan pH medium E, F dan G terlihat sama dimana terjadi penurunan pH sampai jam ke 24 dan pH mengalami kenaikan lagi sampai pada jam ke 48. pH terendah yang dicapai hampir sama yaitu 3,01 3,2 dan 2,9.

Pengamatan konsentrasi asam laktat pada medium E, F dan G menunjukkan bahwa asam laktat tertinggi dapat dihasilkan pada jam ke 42. Medium E menghasilkan asam laktat tertinggi sebesar 1,89%, medium F sebesar 2,17% dan medium G 2,18%. Dari hasil ini terlihat bahwa adanya pengaruh konsentrasi kulit udang pada demineralisasi ini walaupun perbedaannya tidak terlalu besar antara medium F dan G.

Pengukuran kadar abu kulit udang pada medium E, F dan G menunjukkan penurunan yang paling besar terjadi pada medium E dimana didapatkan kadar abu yang cukup kecil yaitu 1,2%. Perbedaannya cukup jauh dengan medium F dan G

dengan kadar abu yang hampir sama yaitu 2,2 % dan 2,1%. Dari hasil ini dapat dilihat bahwa perbedaan konsentrasi kulit udang dalam medium memberikan pengaruh yang berarti pada konsentrasi 10%, sedangkan pada konsentrasi 20% dan 30% pengaruhnya tidak begitu besar. Pada demineralisasi menggunakan sel amobil 20% ini penurunan kadar abu yang lebih besar dengan hasil produksi yang lebih banyak juga dapat diupayakan dengan menambah waktu fermentasi.

Dari data pada Tabel.2 dapat dilihat bagaimana pengaruh perbedaan konsentrasi sel 20% dan 30% terhadap pH, konsentrasi asam laktat dan kadar abu kulit udang. Pengaruh pH tidak terlalu besar dapat dilihat pada Gambar 25 bahwa tidak terlihat perbedaan pH yang terlalu besar pada semua medium.

Pengaruh konsentrasi sel pada demineralisasi dengan konsentrasi udang 10% , 20% dan 30% dapat dilihat pada Gambar 26, 27 dan 28, dimana konsentrasi sel yang lebih besar menghasilkan konsentrasi asam laktat yang lebih besar sampai jam ke 24 dan hampir sama setelah itu. Dari pengamatan ini dapat dikatakan bahwa perbedaan konsentrasi sel amobil menyebabkan perbedaan waktu pencapaian konsentrasi maksimum asam laktat dan tidak berpengaruh besar pada konsentrasi maksimum yang dapat dihasilkan.

Perbedaan kadar abu medium A dibandingkan dengan medium E juga tidak terlalu besar, yaitu 1,18% dan 1,2%. Pada medium B dan F dengan kadar abu 1,4% dan 2,2% dan medium C dan G dengan kadar abu 1,4% dan 2,1% bisa dikatakan bahwa perbedaan konsentrasi sel amobil mempunyai pengaruh cukup besar (Tabel.3).

5.4 Amobilisasi Sel *Bacillus licheniformis* F11.4

Dari hasil foto SEM perbesaran 50 kali dapat dilihat bahwa butiran sel amobil (Gambar.8) permukaannya juga lebih halus dari pada butiran alginat kosong yang terlihat beralur kasar (Gambar.4).

Pada foto SEM butiran gel alginat kosong dengan perbesaran 500 kali terlihat banyak pori (Gambar 5). Hasil foto SEM sel amobil *Bacillus licheniformis* F11.4 (Gambar.9) terlihat pori yang jauh lebih halus. Pori yang lebih kecil ini menunjukkan bahwa sebagian pori gel alginat telah diisi oleh sel *Bacillus licheniformis* F11.4 telah terjepit dalam pori-pori dari gel alginat.

5.5 Pengaruh Konsentrasi Sel terhadap Aktivitas Protease pada Fermentasi Sel Amobil *Bacillus licheniformis* F11.4.

Dari hasil ini dapat dilihat bahwa konsentrasi sel amobil sebesar 30% menghasilkan aktivitas protease yang paling tinggi. Pada medium A dengan jumlah sel amobil 10%, aktivitas enzim tertinggi baru dapat dicapai setelah 48 jam, hasil ini lebih lama dari medium B dan C yang sudah mencapai aktivitas enzim tertingginya pada jam ke 18. Dari hasil ini dapat dikatakan bahwa untuk mendapatkan aktivitas enzim yang lebih cepat dan lebih besar dapat dilakukan dengan menggunakan jumlah sel amobil 20% atau 30% (Tabel.4 Gambar.29)

Aktivitas suatu enzim dalam fermentasi juga ditentukan oleh konsentrasi enzim yang dihasilkan oleh sel. Sel yang lebih banyak akan menghasilkan enzim yang lebih banyak. Waktu fermentasi yang semakin lama juga menurunkan aktivitas enzim protease di ketiga medium. Pada pengamatan 6 jam setelah aktivitas tertingginya medium B aktivitas enzimnya turun jadi 15,79 U/ml sedangkan medium C aktivitasnya turun menjadi 15,53 U/ml. Penurunan ini bisa jadi disebabkan oleh zat lain yang berasal dari *Bacillus licheniformis* F11.4 atau bakteri lain yang mengganggu atau merusak enzim protease itu sendiri.

Enzim protease yang dihasilkan dari fermentasi sel amobil *Bacillus licheniformis* F11.4 ini akan dimanfaatkan untuk mendegradasi protein atau deproteinasi kulit udang sehingga kadar protein dalam kulit udang akan berkurang. (Waldeck, dkk 2006).

Aktivitas protease sel amobil yang belum dicampur dengan kulit udang lebih kecil dari pada aktivitas protease sel amobil setelah dicampur dengan kulit udang. Hal ini disebabkan karena aktivitas enzim dipengaruhi oleh substrat yaitu protein yang terdapat dalam kulit udang.

5.6 Deproteinasi Kulit Udang Menggunakan Sel Amobil *Bacillus licheniformis F11.4*

5.6.1 Pengaruh Temperatur terhadap Aktivitas Protease dan Kadar Protein pada Kulit Udang.

Pada deproteinasi dengan temperatur berbeda dapat dilihat bahwa temperatur 40°C memberikan aktivitas protease yang lebih besar dan penurunan kadar protein yang lebih besar juga sehingga temperatur ini selanjutnya dapat digunakan untuk deproteinasi kulit udang menggunakan sel amobil karena pada temperatur ini protease bekerja lebih baik dibandingkan pada temperatur 55°C dan 37°C (Gambar.30).

Perbedaan temperatur juga berpengaruh terhadap kadar protein kulit udang dimana kadar protein terendah dihasilkan dari deproteinasi pada temperatur 40°C. (Tabel.10).

Suhu campuran reaksi berpengaruh terhadap aktivitas enzimatik. Jika reaksi enzim dengan substrat dilakukan dalam berbagai suhu, maka akan diketahui suhu optimum dimana aktivitas enzim tersebut maksimal. Makin besar perbedaan suhu reaksi dengan suhu optimum, makin rendah aktivitas enzim tersebut. (Sadikin.M, 2002).

Pada suhu yang lebih rendah terjadi penurunan laju reaksi enzimatik karena turunnya gerak termodinamik, yang menyebabkan berkurangnya tumbukan antara molekul enzim dengan substrat. Jika kontak antara enzim dan substrat tidak terjadi, maka tidak akan terbentuk kompleks enzim dengan substrat. Peningkatan temperatur di atas temperatur optimum, akan meningkatkan gerak termodinamik

dan ada kemungkinan akan menyebabkan enzim terdenaturasi akibatnya kompleks enzim dan substrat sulit terbentuk sehingga produk akhir makin sedikit atau dalam penelitian ini protein yang terhidrolisis makin sedikit.

5.6.2 Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Sel Terhadap Aktivitas Protease dan Kadar Protein.

Dari hasil pengamatan aktivitas enzim protease yang dihasilkan pada fermentasi deproteinasi sel amobil *Bacillus licheniformis* F11.4 menunjukkan bahwa pada medium dengan jumlah sel amobil 20%, menunjukkan aktivitas enzim paling terbesar 45,18 U/ml pada jam ke 52. Jika dibandingkan dengan aktivitas enzim pada medium dengan jumlah sel 30%, aktivitasnya lebih besar yaitu 50,61 U/ml. Ini berarti bahwa ada pengaruh konsentrasi sel amobil terhadap aktivitas protease pada fermentasi yang dilakukan (Gambar.31).

Dari pengukuran kadar protein kulit udang hasil fermentasi juga diketahui bahwa dengan jumlah sel 30% dapat menurunkan protein sampai 3,16% ini lebih kecil dibandingkan dengan jumlah sel 20% yang kadar protein kulit udang akhir adalah 3,34% meskipun perbedaannya tidak sebanding dengan perbedaan jumlah selnya. Dari hasil ini dapat dikatakan perbedaan konsentrasi sel 20% dan 30% ternyata tidak memberikan pengaruh yang cukup besar terhadap penurunan kadar protein kulit udang tapi mempunyai pengaruh terhadap aktivitas protease. (Tabel.11).

Secara teoritis konsentrasi sel amobil dalam medium ini akan mempengaruhi konsentrasi enzim yang dihasilkan sel. Makin besar konsentrasi enzim dalam medium akan semakin banyak pula substrat yang dapat bereaksi dengan enzim. Konsentrasi enzim ini berbanding lurus dengan laju reaksi enzim dengan substrat. Dapat dikatakan, pada konsentrasi enzim yang besar peluang untuk substrat diolah oleh enzim menjadi makin besar. Kadang-kadang dapat terjadi penyimpangan hal ini. Biasanya, penyimpangan ini terjadi jika enzim tidak berada dalam keadaan murni, sehingga mungkin terdapat senyawa-senyawa penghambat reaksi dalam jumlah yang sangat kecil. Sebaliknya penyimpangan

juga dapat terjadi dalam kondisi enzim dengan kemurnian yang tinggi disebabkan oleh senyawa pengaktif (*activator*). (Sadikin.M, 2002)

5.6.3 Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Kulit Udang terhadap Aktivitas Protease dan Kadar Protein

Dari hasil fermentasi dengan perbedaan jumlah kulit udang, didapatkan bahwa konsentrasi kulit udang 20% menghasilkan aktivitas protease yang lebih kecil dari pada 30% karena aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh jumlah substrat yang terdapat didalam medium (Gambar.31). Pada deproteinasi dengan konsentrasi kulit udang 20% dihasilkan aktivitas paling tinggi 34,21 U/ml pada jam ke 72 (Tabel.9) sedangkan konsentrasi 30% menghasilkan aktivitas tertinggi sebesar 50,61 U/ml (Tabel.6)

Pengaruh jumlah kulit udang berbanding terbalik terhadap kadar protein akhir dalam kulit udang. Dimana jumlah kulit udang 20% menghasilkan penurunan yang lebih besar dari pada jumlah kulit udang 30% (Tabel.12). Upaya yang perlu dilakukan untuk optimalisasi hasil adalah bagaimana supaya dengan jumlah kulit udang yang lebih banyak dapat dihasilkan penurunan yang maksimum.

Pada penelitian ini digunakan jenis medium yang sama dengan medium yang digunakan pada sel bebas, karena belum ditentukan jenis medium yang paling baik untuk produksi protease oleh sel amobil *Bacillus licheniformis F11.4*. Pada penelitian ini juga belum dilakukan pengamatan terhadap pengaruh pengaturan pH medium terhadap aktivitas protease dan kadar protein kulit udang hasil fermentasi. Nilai pH medium juga akan sangat mempengaruhi aktivitas enzim karena setiap enzim mempunyai pH optimum dimana enzim tersebut aktivitasnya maksimal. Nilai pH optimum ini bisa jadi pada satu titik tertentu atau pada rentang pH tertentu. (Sadikin.M, 2002).



BAB VI.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan *Bacillus licheniformis* F11.4 dapat diamobilisasi menggunakan gel alginat pada konsentrasi natrium alginat 2%.
2. Sel amobil *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dengan konsentrasi 30%, berhasil digunakan pada demineralisasi dengan konsentrasi kulit udang 10% dan dapat menurunkan kadar abu kulit udang sampai 1,18%
3. Sel amobil *Bacillus licheniformis* F11.4, dengan konsentrasi 30% berhasil digunakan pada deproteinasi dengan konsentrasi kulit udang 20% dan mampu menurunkan kadar protein dalam kulit udang sampai 2,73%.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan kondisi optimasi proses demineralisasi dan deproteinasi kulit udang.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan waktu optimum sel amobil *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan *Bacillus licheniformis* F11.4, untuk digunakan pada demineralisasi dan deproteinasi kulit udang.

DAFTAR REFERENSI