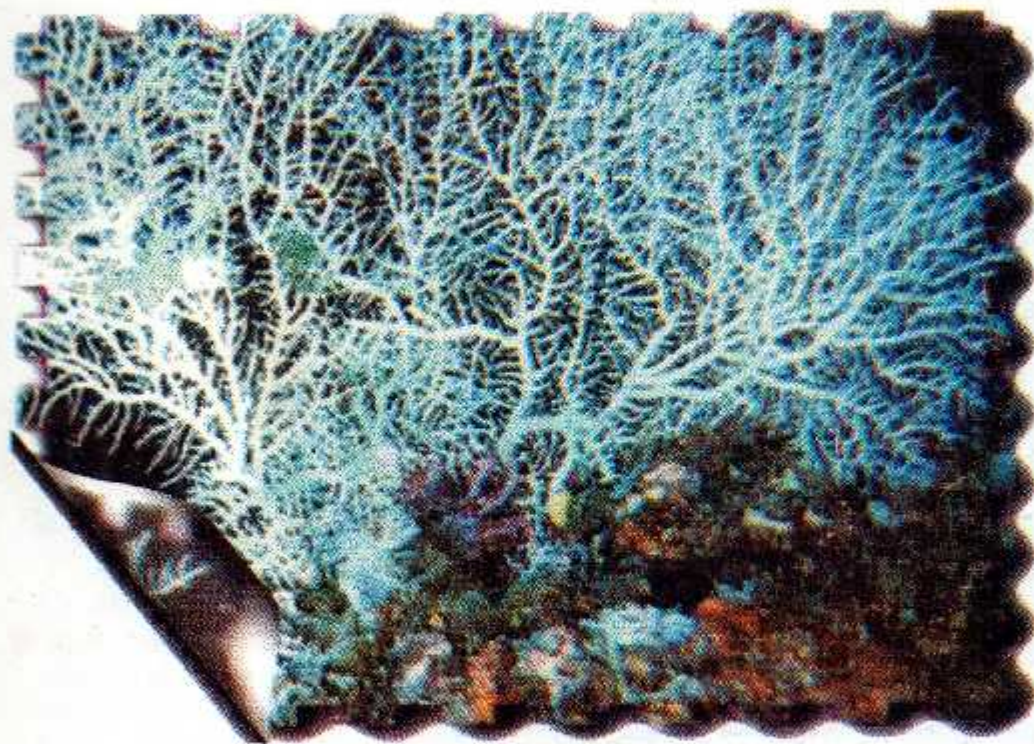


MARINA CHIMICA ACTA



*Jurnal tiga bahasa tentang kimia laut
Trilingual journal in marine chemistry
Revue trilingue en chimie marine*



JURUSAN KIMIA FMIPA
UNIVERSITAS HASANUDDIN



Jurnal Bisemester : April-Oktober
Jurnal Tiga Bahasa : Indonesia, Inggris dan Perancis
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin
Kampus Tamalanrea Makassar 90245 INDONESIA
Telp/Fax. 62-411-586498

Marina Chimica Acta merupakan jurnal internasional yang memuat karya orisinal hasil penelitian dan ulasan dalam segala aspek yang menyangkut bidang kimia laut. Jurnal Marina Chimica Acta terbit dua (2) kali setahun pada bulan April dan Oktober. Biaya berlangganan Rp 50.000,- per tahun ditambah dengan ongkos kirim (dalam negeri) Rp 5000,-

REDAKSI

Yusafir Haia
Paulina Taba
Hanapi Usman
Musa Ramang
Muhammad Zakir
Hasnah Natsir
Abdul Karim
Moh. Iqbal

EDITOR

Ketua

Alfian NOOR Indonesia

Anggota

Umar Ubbe Indonesia
Gilbert Mille France
Bert Hoeksema Netherlands

Nara Sumber

M. Noor Jalaluddin Indonesia
M. Syahrul Indonesia
Abd. Rauf Patong Indonesia
Prastawa Budi Indonesia
Ambo Upe Indonesia

Bendahara

Berendina S. K.

Distributor

Maming
Indah raya
Himpunan Mahasiswa Kimia Unhas

Ditebitkan Oleh

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin.

Alamat Redaksi

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin,
Jl. Perintis Kemerdekaan Km 10, Makassar 90245, INDONESIA. Telepon/Fax: 62-411-586498



Jurnal Bisemester : April-Oktober
Jurnal Tiga Bahasa : Indonesia, Inggris dan Perancis

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin
 Kampus Tamalanrea Makassar 90245 INDONESIA
 Telp/Fax.62-411-586498
 Email : kimiauh@indosat.net.id

DAFTAR ISI/TABLE OF CONTENT/TABLE DES MATIERES

Aplikasi Resin Khelat dalam Pemekatan Sampel Air Minum Kemasan Isi Ulang yang Beredar di Makassar untuk Menentukan Kadar Logam Pb dan Cd Kelumit	37-41
<i>A. Gessa Magfirah, Yusafir Hala, dan Syarifuddin Liong</i>	
Kajian Interaksi Ion Logam Pb, Cd, dan Zn dengan Fitoplankton <i>Nannochloropsis salina</i>	42-46
<i>Astina Tambung, Amalia Patabang, Astri, Yusafir Hala, dan Paulina Taba</i>	
Transpor Ion Cr^{3+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}, dan Ag^+ Melalui Membran Cair Ruah yang Mengandung <i>p-t</i>-Butilkaliks[4] Arena Sebagai Pengemban Ion	47-52
<i>Maming, Jumina, Dwi Siswanta, dan Hardjoro Sastrohamidjojo</i>	
Sintesis dan Karakterisasi Kobalt Oksida pada Pendukung MCM-41	53-59
<i>Rutiani dan Ratna Ediat</i>	
Sintesis Ligan Kelat 1-Fenil-3-metil-4-stearoil-5-pirazolon (HPMSP)	60-63
<i>Tri Santoso</i>	
Ekstraksi DNA Rumpun Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i> Dengan Metode Fenol Kloroform	64-68
<i>A. Tenriulo, Emma Suryati, Andi Parenrengi, dan Rosmiati</i>	
Penelusuran Protein Bioaktif dalam Makro Alga Sebagai Bahan Antibakteri dan Antijamur	69-76
<i>Arifudin, Rauf Patong, dan Ahyar Ahmad</i>	
Penanggulangan Penyakit Bakteri Pada Udang Windu (<i>Panaeus monodon</i>) Menggunakan Bioaktif Tanaman Mangrove <i>Avicenia alba</i>	77-81
<i>Emma Suryati, Rosmiati, dan A. Tenriulo</i>	
Konversi Kitin dari Limbah Udang Api-Api (<i>Metapanaeus monoceros</i>) Menjadi Senyawa Kitosan Secara Enzimatis	82-89
<i>Hasnah Natsir</i>	



KONVERSI KITIN DARI LIMBAH UDANG API-API (*Metapenaeus monoceros*) MENJADI SENYAWA KITOSAN SECARA ENZIMATIS

✓ Hasnah Natsir, Seniwati Dali, B. Jawahir dan Fitriia Azla
Jurusan Kimia FMIPA Unhas, Makassar

ABSTRAK

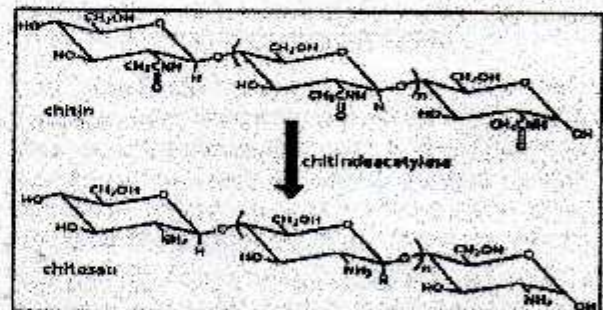
Isolasi kitin dari limbah udang api-api (*Metapenaeus monoceros*) telah dilakukan melalui tiga tahapan, yaitu : tahap deproteinasi menggunakan NaOH 0,5 M, suhu 75°C; tahap demineralisasi dengan HCl 1,5 M, 75°C dan tahap dekolourisasi dengan NaOCl 1,0%. Selanjutnya kitin hasil isolasi dikonversi menjadi kitosan secara enzimatik, proses konversi ini menggunakan kitin deasetilase dari *Bacillus sp* K-29 dengan melakukan variasi waktu inkubasi dan variasi konsentrasi substrat pada suhu 55°C, serta dilakukan analisis beberapa sifat fisika kimia kitin dan kitosan. Hasil analisis data menunjukkan bahwa, kitin hasil isolasi dari limbah udang api-api (*Metapenaeus monoceros*) memiliki nilai karakteristik sebagai berikut: kadar air = 3,9 %, kadar abu = 1,1 %, N-total = 6,0 %, dan derajat deasetilasi = 62,4 %. Dan hasil biokonversi kitin menjadi kitosan diperoleh waktu inkubasi optimum adalah 4 jam pada perbandingan konsentrasi substrat dan enzim = 1:10 dengan nilai karakteristik kitosan sebagai berikut : kadar air = 1,4 %, kadar abu = 0,8 %, N-total = 15,9 %, dan berdasarkan hasil analisis FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) diperoleh derajat deasetilasi kitosan 89,7 % serta warna kitosan putih kekuning-kuningan (putih pucat).

Kata Kunci: Kitin, Kitosan, *Metapenaeus monoceros*, Kitin deasetilase, *Bacillus sp*

PENDAHULUAN

Udang adalah komoditi andalan dari sektor perikanan yang umumnya diekspor dalam bentuk beku. Produk samping dari proses pembekuan udang tersebut, akan menimbulkan limbah berupa kulit dan kepala udang. Pada tahun 2004, diperkirakan limbah udang di Indonesia sebesar 510.266 ton yang dihasilkan dari proses pembekuan udang (Prasetyo, 2004). Sedangkan di Sulawesi Selatan, limbah udang diperkirakan sekitar 3.520 ton/tahun. Limbah udang pada masyarakat sampai saat ini hanya digunakan sebagai bahan perasa pada pembuatan kerupuk, pembuatan terasi dan sebagai pakan temak (*Tribun Timur*, 2004). Oleh karena itu, limbah udang (kulit dan kepala) perlu penanganan yang lebih serius terutama karena limbah ini mengandung senyawa kimia yang disebut kitin. Kitin ini jika dideasetilasi dapat menghasilkan senyawa kitosan. (Tsigos, *dkk*, 2000 dan Rukayadi, 2003).

Kitin merupakan polimer linier dari N-asetil D-glukosamin yang tersusun oleh 2000-3000 monomernya dengan ikatan β -1,4 glikosidik (Sakai, *dkk*, 1998 dan Wang, and Chang, 1997). Polimer ini banyak terdapat pada limbah hasil laut terutama golongan udang, kepiting dan kerang-kerangan. Kitin dapat mengalami proses deasetilasi secara kimiawi maupun secara enzimatik, yakni kitin jika dideasetilasi oleh enzim kitin deasetilase (EC.3.5.1.41) dapat menghasilkan senyawa kitosan seperti pada Gambar 1 (Christodoulidou, *dkk*, 1999 dan Rukayadi, 2003).



Gambar 1. Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan (Christodoulidou, *dkk*, 1999)

Proses deasetilasi kitin secara enzimatik (kitin deasetilase, EC.3.5.1.41) banyak digunakan karena menghasilkan produk dengan ukuran yang seragam. Hal ini bisa terjadi karena enzim tersebut dapat bekerja sangat spesifik sehingga diperoleh kitosan yang memiliki derajat deasetilasi yang tinggi yaitu sekitar 80-90% (Rukayadi, 2003).

Senyawa kitosan dan oligomernya mendapat perhatian khusus karena mempunyai kemampuan sebagai antitumor, antigestris dan antimikroba serta dapat merangsang pembentukan senyawa metabolit sekunder pada tanaman. (Rukayadi, 2003 dan Kuroiwa, *dkk*, 2003). Selain itu kitosan juga dapat digunakan sebagai bahan pengawet kayu karena terbukti efektif menghambat pertumbuhan jamur pelapuk kayu serta meningkatkan derajat proteksi kayu terhadap rayap (Prasetyo, 2004).

Dalam penelitian ini menggunakan limbah udang api-api (*Metapenaeus monoceros*) sebagai sampel dan kitin deasetilase dari mikroba termofilik *Bacillus sp K-29* sebagai enzimnya. Enzim dari isolat *Bacillus sp K-29* ini diketahui memiliki aktivitas 4,20 unit/mL enzim pada kondisi pH 7,0 dan suhu 55°C (Rahayu, dkk, 1999), dengan demikian enzim tersebut diharapkan dapat mengkonversi kitin dari limbah udang putih menjadi kitosan secara enzimatik. Enzim kitin deasetilase dari isolat *Bacillus sp K-29* ini diketahui belum dimanfaatkan dalam proses konversi kitin menjadi kitosan.

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui kondisi efektif proses isolasi kitin dari limbah udang api-api (*Metapenaeus monoceros*) dengan melakukan variasi konsentrasi NaOH dan suhu pemanasan pada proses deproteinasi. Selanjutnya mengkonversi kitin hasil isolasi menjadi kitosan secara enzimatik (kitin deasetilase dari *Bacillus sp K-29*) dengan melakukan variasi waktu inkubasi dan variasi konsentrasi substrat dan akhirnya kitosan hasil biokonversi dikarakterisasi untuk diketahui beberapa sifat fisika kimianya.

METODE PENELITIAN

Isolasi Kitin dari Kulit Udang (Bastaman, dkk, 1998): Proses isolasi atau produksi kitin umumnya mempunyai prosedur yang sama yaitu pada tahap awal limbah yang berupa eksoskeleton dicuci, dikeringkan dan digiling (100 mesh). Kemudian proses selanjutnya dilakukan 3 tahapan hingga diperoleh kitin murni yaitu:

a). **Tahap Deproteinasi** adalah proses penghilangan protein pada limbah kulit udang. Tahap ini dilakukan variasi konsentrasi larutan NaOH 0,25 M, 0,5 M, dan 0,75 M dan variasi suhu pemanasan (55 °C, 65 °C, 75 °C untuk mencari kondisi optimumnya. Perlakuan ini berdasarkan pada penelitian sebelumnya yang menggunakan konsentrasi NaOH yang lebih tinggi (1,5 M) dan suhu pemanasan juga lebih tinggi (80 °C) dengan hasil yang kurang bagus, dengan demikian dalam penelitian ini kami mencoba menggunakan suhu dan konsentrasi NaOH yang lebih rendah.

Perlakuan dalam tahap ini adalah : sebanyak 50 g serbuk kulit udang api-api (*Metapenaeus monoceros*) dilarutkan dalam NaOH pada konsentrasi yang berbeda yakni 0,25 M, 0,5 M, dan 0,75 M dengan perbandingan 1:10 (b/v), kemudian distirer selama 1 jam pada suhu bervariasi (55 °C, 65 °C, 75 °C). Selanjutnya dilakukan pencucian dengan aquades hingga pHnya netral, dikeringkan dalam oven suhu 80 °C selama 24 jam.

b). **Tahap Demineralisasi** yaitu proses yang bertujuan untuk menghilangkan senyawa anorganik seperti kalsium karbonat dengan melarutkan sampel hasil tahap deproteinasi kedalam larutan asam (HCl 1,5 N)

dengan perbandingan 1:10 (b/v), dipanaskan pada suhu 75°C selama 60 menit. Pencucian dilakukan hingga pH netral, kemudian dikeringkan dalam oven suhu 80 °C selama 24 jam.

c). **Tahap Dekolorisasi** yaitu tahap yang bertujuan untuk menghilangkan zat warna (pigmen) yang ada dalam kulit udang. Proses ini menggunakan larutan NaOCl 1,0 % 1:10 (b/v) selama 30 menit pada suhu kamar kemudian disaring dan dikeringkan pada suhu 60 °C selama 12 jam. Akhirnya diperoleh senyawa kitin yang akan diuji karakteristik dan di gunakan untuk produksi kitosan.

Pembuatan Koloidal Kitin (Natsir, at al., 2002): Sebanyak 20 gram kitin ditambahkan 400 ml HCl pekat kemudian ditutup rapat dan dibiarkan selama 24 jam pada suhu 4 °C. Tahapan berikutnya, perlakuan dalam suhu dingin. Selanjutnya disaring menggunakan *glasswool* dan filtrat yang diperoleh ditambahkan 200 ml air dingin kemudian pH larutan diatur menjadi 7,0 dengan penambahan NaOH 10 N dan disentrifugasi pada 3500 rpm, suhu 4 °C selama 30 menit. Filtrat dibuang dan pelet dicuci dengan air dingin kemudian disentrifugasi lagi. Endapan berupa pelet yang disebut sebagai koloidal kitin merupakan sustrat untuk produksi enzim.

Peremajaan Mikroba (Natsir, dkk, 1999): Sebelum dilakukan peremajaan mikroba (isolat *Bacillus sp K-29*) terlebih dahulu dilakukan penyiapan medium termus padat dengan komposisi: yeast ekstrak (0,5 %), tripton (0,1 %) dan NaCl (0,1 %), agar (1,5%) + koloidal kitin (2,0 %). Mikroba termofilik (isolat *Bacillus sp K-29*) dikulturkan dalam medium termus padat selama 24 jam dalam kondisi pH 7 dengan suhu 55 °C. Mikroba yang tumbuh dan memiliki indeks kitinolitik pada medium termus padat ini menunjukkan mikroba yang dapat mendegradasi kitin dengan baik, karena indeks kitinolitik sebagai parameter semi kuantitatif yang umum digunakan pada uji aktivitas mikroba pendegradasi kitin.

Produksi Enzim Kitin Deasetilase (Rahayu, dkk, 2004; Rohima, 2005): Inokulum dari *Bacillus sp K-29* sebanyak 10 % (v/v) dalam medium termus yang mengandung: (NH₄)₂SO₄ (0,7 %), K₂HPO₄ (0,1 %), NaCl (0,1 %), MgSO₄ 7H₂O (0,1 %), yeast ekstrak (0,05 %) dan koloidal kitin (0,5 %), diinokulasikan ke dalam medium fermentasi dan diinkubasi pada kondisi: suhu 55 °C, 170 rpm, selama 48 jam, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 30 menit. Filtrat hasil fermentasi merupakan enzim ekstrak kasar kitin deasetilase yang akan diuji lebih lanjut.

Pengujian Aktivitas Kitin Deasetilase (Tokuyasu, dkk, 1996): Campuran reaksi (50 µl. glikol kitin 0,1 % +

50 μL buffer fosfat pH 7,0 + 150 μL larutan enzim), divortex dan diinkubasi pada suhu 55 $^{\circ}\text{C}$, 140 rpm selama 30 menit. Kemudian + 200 μL asam asetat 33 % + 200 μL sodium nitrit 5 %. Kemudian divortex dan dibiarkan 10 menit pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan 200 μL amonium sulfamat 12,5 % dan diinkubasi pada suhu ruang, 140 rpm selama 30 menit. Selanjutnya ditambahkan 800 μL HCl 5% dan 100 μmL indole 1 % dalam alkohol dan dimasukkan dalam air mendidih selama 5 menit, kemudian diukur absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 492 nm. *Satu unit aktivitas enzim kitin deasetilase didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang menghasilkan satu μmol residu glukosamin per menit dengan pengukuran pada λ 492 nm.*

Penentuan Kadar Protein : Penentuan kadar protein dilakukan dengan Metode *Lowry* pada panjang gelombang maksimum (750 nm) dan menggunakan *bovine serum albumine (BSA)* sebagai larutan standar.

Konversi Kitin Menjadi Kitosan Secara Enzimatis (Rohima, 2005) : Serbuk kitin hasil isolasi dari limbah udang api-api (*Metapenaeus monoceros*) dikonversi menjadi kitosan oleh enzim kitin deasetilase dari *Bacillus sp K-29*. Proses deasetilasi tersebut dilakukan dengan cara mencampurkan enzim dengan substrat yang diinkubasi pada suhu 55 $^{\circ}\text{C}$ (waktu optimum enzim kitin deasetilase). Pada proses ini dilakukan variasi waktu inkubasi dan variasi konsentrasi substrat sebagai berikut:

a) **Biokonversi dengan variasi waktu inkubasi:** Enzim dan substrat dicampurkan dengan perbandingan $[E]:[S]=1:10$, diinkubasi pada suhu optimal enzim kitin deasetilase (55 $^{\circ}\text{C}$) selama waktu yang bervariasi yaitu: 2, 3, dan 4 jam, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan residu dengan filtrat, lalu dikeringkan dalam *freeze dryer*.

b) **Biokonversi dengan variasi Konsentrasi Substrat:** Enzim dan substrat dicampurkan dengan perbandingan $[E]:[S]$ bervariasi yaitu: a) 1:10, b) 1:7,5 c) 1:5 dan d) 1:2,5. Campuran enzim substrat tersebut diinkubasi pada suhu optimal enzim kitin deasetilase (55 $^{\circ}\text{C}$) selama waktu yang optimum yang diperoleh dari tahapan (a) di atas. Selanjutnya disentrifugasi untuk memisahkan residu dengan filtrat, lalu dikeringkan dalam *freeze dryer*. Kitosan yang diperoleh dari perlakuan (a dan b) disimpan dalam wadah kering untuk dianalisis: kadar air, kadar abu, N-total dan derajat deasetilasi yang dihitung

berdasarkan spektrum hasil FTIR dengan metode "*Base Line*".

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi Kitin dari Limbah Udang Putih (*Penaeus merguianis*)

Berdasarkan hasil isolasi kitin dari limbah udang udang api-api (*Metapenaeus monoceros*) diperoleh rendemen dan beberapa karakteristik kitin. Rendemen kitin, merupakan perhitungan persentase sampel berdasarkan perbandingan jumlah kitin hasil isolasi terhadap jumlah serbuk kulit udang kering sebelum dilakukan isolasi. Rendemen kitin yang dihasilkan dari proses isolasi tersebut terlihat pada Tabel 1 dan nilai karakteristik kitin hasil isolasi ada pada Tabel 2.

Tabel 1. Rendemen Kitin (%) Hasil Isolasi dari Limbah Udang Api-api

Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Persen kitin pada variasi konsentrasi NaOH		
	X (%)	Y (%)	Z (%)
55	22,0	20,5	21,5
65	22,5	23,0	21,0
75	32,5	33,6	30,0

Keterangan: X = konsentrasi NaOH 0,25 M, Y = NaOH 0,5 M, dan Z = NaOH 0,75 M pada proses deproteinasi kitin.

Persentase rendemen kitin hasil isolasi dalam Tabel 1 terlihat bahwa, rendemen kitin rata-rata pada konsentrasi NaOH (0,25 M; 0,5 M dan 0,75 M) untuk suhu 55 $^{\circ}\text{C}$ sebesar 21 %, suhu 65 $^{\circ}\text{C}$ sekitar 22 %, dan suhu 75 $^{\circ}\text{C}$ 32 %. Hasil pada suhu 55 $^{\circ}\text{C}$ dan 65 $^{\circ}\text{C}$ rata hanya berkisar 20-an persen, Dalam hal ini, belum dapat dikatakan bahwa perlakuan deproteinasi suhu 75 $^{\circ}\text{C}$ lebih baik dari suhu 55 $^{\circ}\text{C}$ dan 65 $^{\circ}\text{C}$, walaupun rendemen kitinnya paling tinggi. Oleh karena itu, untuk mengetahui lebih jelas kondisi efektif proses deproteinasi untuk isolasi kitin dari limbah udang putih (*Penaeus merguianis*) dapat dilakukan analisis beberapa karakteristik sifat kitin hasil isolasi tersebut (Tabel 2).

Berdasarkan data pada Tabel 2 terlihat bahwa, karakteristik kitin hasil isolasi yang mendekati nilai kitin standar adalah : kondisi dimana konsentrasi NaOH [0,5 M] dengan suhu 75 $^{\circ}\text{C}$. Kondisi ini merupakan kondisi yang paling efektif dalam proses deproteinasi pada isolasi kitin dari limbah udang putih. Nilai karakteristik kitin pada kondisi tersebut paling dekat dengan kitin standar, menurut Protan Laboratories (Tabel 3).

Tabel 2. Karakteristik Kitin Hasil Isolasi dari Limbah Udang Putih

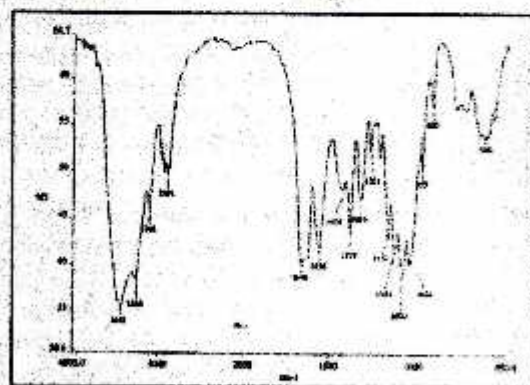
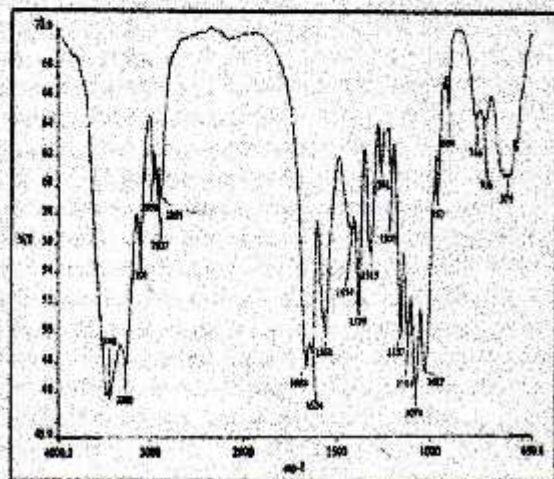
Suhu °C	Karakteristik Kitin Udang Putih								
	NaOH 0,25 M			NaOH 0,50 M			NaOH 0,75 M		
	Air (%)	Abu (%)	N-total (%)	Air (%)	Abu (%)	N-total (%)	Air (%)	Abu (%)	N-total (%)
55	9,8	1,9	5,21	10,5	3,2	5,24	10,4	3,0	5,25
65	9,5	1,6	5,25	9,6	1,8	5,20	9,5	1,9	5,30
75	9,4	0,3	5,13	7,5	0,3	5,13	8,8	0,7	5,17

Tabel 3. Karakteristik kitin hasil isolasi, kitin standar (Sigma) dan kitin standar

No.	Sampel	Air (%)	Abu (%)	N - Total (%)	Derajat Deasetilasi (%)	Warna Kitin
1	Kitin hasil isolasi (NaOH 0,5M ;75°C)	7,5	0,3	5,13	38,7	Putih
2	Kitin (Sigma)	8,2	2,0	5,12	54	Putih
3	Kitin Standar (Protan Laboratories.)*	<10	<2	6-7	>15	Putih

Keterangan : * nilai karakteristik kitin dari pustaka

Spektrum hasil FTIR dari kitin hasil isolasi dari udang putih (Gambar 2) memiliki kemiripan dengan kitin sigma sebagai kitin standar terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektrum FTIR kitin standar

Produksi Enzim Kitin Deasetilase dari *Bacillus sp* K-29

Menurut Rahayu, dkk, (2004), morfologi dan karakteristik enzim kitin deasetilase isolat *Bacillus sp* K-29 adalah: termasuk bakteri gram positif, berbentuk batang, berspora, dan bersifat motil. Kondisi optimum produksi enzim kitin deasetilase pada pH 7,0, suhu 55 °C dalam medium termus, dan

filtrat bebas selnya dipanen pada fase stasioner sekitar 28-36 jam masa inkubasi.

Analisis Kadar Protein dan Uji Aktivitas Enzim Kitin Deasetilase

Berdasarkan analisis kadar protein secara Lowry dengan menggunakan *Bovine Serum Albumine (BSA)*

Aktivitas kitin deasetilase (CDA) hasil isolasi dari isolat *Bacillus spK-29* dapat diketahui dengan mengacu pada kurva standar glukosamin, dari hasil perhitungan tersebut, maka diperoleh aktivitas enzim CDA ekstrak kasar adalah: 0,015 unit /mL, dengan kadar protein 0,169 mg/mL enzim ekstrak kasar (Tabel 4). Aktivitas enzim CDA dalam penelitian ini yaitu 0,015 unit/mL, lebih kecil jika dibandingkan dengan aktivitas CDA dari *C. Lindemutianum* sebesar 0,0195 unit/mL (Tokoyasu, dkk, 1996) dan dari *M.rouxii* sebesar 0,0305 unit/mL. Enzim CDA dari isolat *Bacillus spK-29* ini selanjutnya digunakan untuk mengkonversi kitin dari limbah udang putih (*Penaeus merguensis*) menjadi kitosan, dengan melakukan variasi waktu inkubasi (2 jam, 3 jam dan 4 jam), serta variasi konsentrasi substrat dengan menggunakan waktu inkubasi optimum yang telah diperoleh.

Tabel 4 Aktivitas Enzim Kitin Deasetilase dari *Bacillus sp K-29*

Enzim	Protein mg/mL	Aktivitas CDA unit/mL	Aktivitas Spesifik unit/mg
Crude Enzim	0,1694	0,0149	0,089

Konversi Kitin Menjadi Kitosan dengan Enzim Kitin Deasetilase

Kitin deasetilase (CDA) yang diisolasi dari *Bacillus sp K-29* digunakan dalam mengkonversi kitin menjadi kitosan dengan cara: a) variasi waktu inkubasi (2 jam, 3 jam dan 4 jam), b) variasi konsentrasi substrat. (S : E = 1:10, 1:7,5, 1:5, dan 1:2,5).

a) Biokonversi kitin menjadi kitosan dengan melakukan variasi waktu inkubasi

Data yang diperoleh berdasarkan hasil biokonversi kitin dari kulit udang putih dan udang api-api menjadi kitosan dengan variasi waktu inkubasi (2 jam, 3 jam dan 4 jam) dengan kondisi S:E = 1 : 10, 140 rpm, suhu 55 °C dan 75°C. Pada Tabel 5 terlihat

sebagai standar protein, dan dihasilkan kurva standar sebagai acuan dalam menghitung kadar protein enzim, akhirnya diperoleh kadar protein kitin deasetilase dari isolat *Bacillus spK-29* yaitu: 0,1694 mg/mL (Tabel 4).

bahwa, karakteristik kitosan hasil biokonversi pada berbagai waktu inkubasi diperoleh waktu inkubasi yang paling efektif adalah 3 jam, karena berdasarkan hasil pengukuran FTIR-nya perlakuan dengan waktu inkubasi 3 jam memiliki derajat deasetilasi paling tinggi yaitu 84,3 % dengan nilai kadar air paling kecil (2,4 %), kadar abu (1,0 %), dan tekstur kitin berupa serbuk berwarna putih (Tabel 5)

Menurut Protan Laboratories, kitosan yang berkualitas baik diharapkan mempunyai kadar air <10%, kadar abu ≤1%, warna kitin putih dan memiliki derajat deasetilasi >70%. Dengan demikian kondisi waktu inkubasi 3 jam ini merupakan kondisi yang optimum dalam proses biokonversi tersebut, dan kondisi waktu inkubasi inilah yang digunakan untuk proses lebih lanjut yaitu pada proses biokonversi dengan variasi konsentrasi substrat.

b) Biokonversi kitin menjadi kitosan berdasarkan variasi konsentrasi substrat

Data yang diperoleh berdasarkan hasil biokonversi kitin dari kulit udang putih menjadi kitosan dengan variasi konsentrasi substrat terlihat pada Tabel 6.

Berdasarkan spektrum hasil FTIR dari kitosan hasil biokonversi pada perlakuan variasi konsentrasi substrat (Tabel 7) terlihat bahwa pada perbandingan konsentrasi E:S = 1:10 diperoleh derajat deasetilasi paling tinggi yaitu 84,3 % dengan nilai kadar air paling kecil (2,4 %), kadar abu (1,0 %), dan tekstur kitin berupa serbuk berwarna putih. Hal ini menandakan bahwa kondisi tersebut yaitu waktu inkubasi 3 jam dengan perbandingan konsentrasi E:S = 1:10 merupakan kondisi efektif proses konversi kitin dari limbah udang menjadi kitosan, karena selain memiliki derajat deasetilasi paling tinggi (84,3 %) juga nilai karakteristik kitosan lainnya sangat mendekati nilai karakteristik kitosan standar.

Adapun spektrum FTIR kitosan hasil konversi dari kitin limbah udang putih. Dengan enzim kitin deasetilase dapat dilihat pada Gambar 4.

Tabel 5. Karakteristik kitosan hasil biokonversi pada berbagai waktu inkubasi

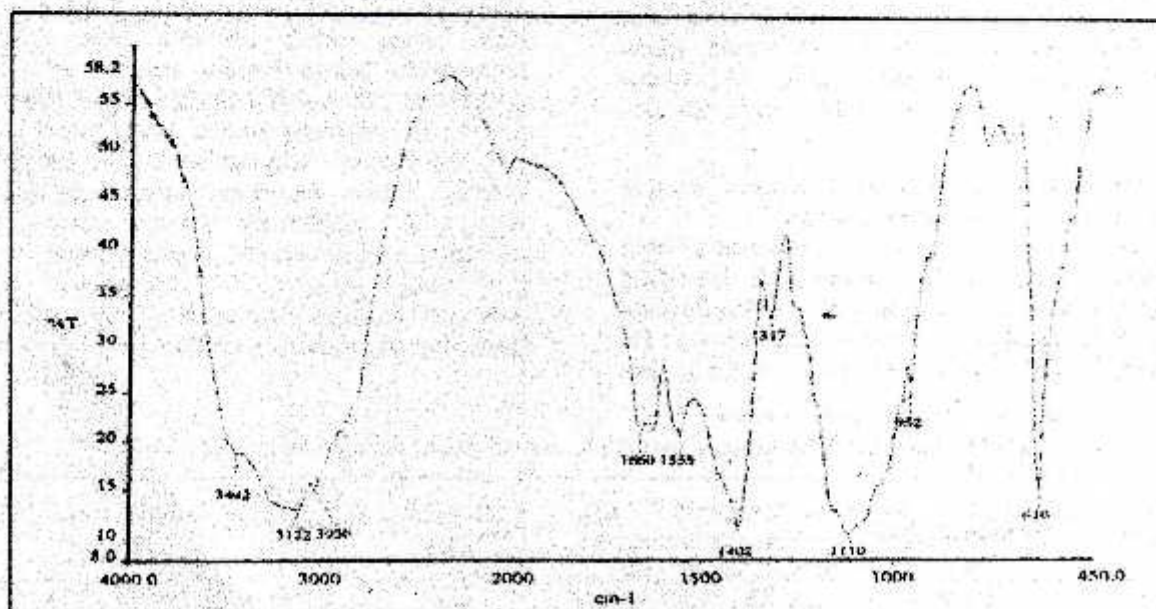
No.	Waktu Inkubasi	Air (%)	Abu (%)	N-Total (%)	Derajat Deasetilasi (%)	Tekstur/Warna
1	2 jam	2,8	0,8	15,9	79,6	Sebuk/ Putih
2	3 jam	2,4	1,0	15,7	84,3	Sebuk/ Putih
3	4 jam	2,8	0,9	15,9	83,1	Sebuk/ Putih

Tabel 6. Karakteristik kitosan pada perbandingan (E:S)= (1:10), (1:7,5), (1:5), dan (1:2,5), dengan waktu inkubasi optimum (3 jam):

No	Enzim : Substrat (E : S)	Air (%)	Abu (%)	N-Total (%)	Derajat Deasetilasi (%)	Tekstur/ Warna
1	1 : 10	2,4	1,0	11,9	84,3	Serbuk Putih
2	1 : 7,5	3,2	0,6	12,1	74,9	Serbuk Putih
3	1 : 5	3,1	0,6	10,5	70,6	Serbuk Putih
4	1 : 2,5	2,6	0,8	11,6	74,8	Serbuk Putih

Tabel 7. Karakteristik kitosan hasil blokonversi dan beberapa kitosan lainnya

No	Kitosan	Air (%)	Abu (%)	N-Total (%)	Derajat Deasetilasi (%)	Tekstur/ Warna
1	Kitosan udang putih (secara enzimatis)	2,4	1,0	11,9	84,3	Serbuk Putih
2	Kitosan udang putih (secara kimiawi)	8,2	1,4	6,0	61	Serbuk Putih
3	Kitosan standar	8,0	3,2	4,9	75	Serbuk Putih
4	Kitosan Standar (Protan Lab.) *	10	≤1	7-8,4	>70	Serpihan Putih



Gambar 4. Spektrum FTIR kitosan hasil konversi secara enzimatis.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Kondisi efektif deproteinasi pada proses isolasi kitin dari limbah udang api-api (*Metapenaeus monoceros*) adalah : konsentrasi NaOH 0,5 M, suhu 75 °C selama 1 jam dengan nilai karakteristik kitin : kadar air = 7,5 %; kadar abu = 0,3 % ; N-total = 5,13 % ; derajat deasetilasi = 38,7 %, dan tekstur berupa serbuk halus berwarna putih.
2. Kondisi efektif proses konversi kitin dari limbah udang api-api (*Metapenaeus monoceros*) menjadi kitosan dengan kitin deasetilase dari *Bacillus-sp K-29* adalah waktu inkubasi 4 jam, 55 °C dengan perbandingan konsentrasi E:S = 1:10

3. Kitosan hasil biokonversi memiliki nilai karakteristik : derajat deasetilasi = 89,7 % kadar air = 1,4 %; kadar abu = 0,8 %; N-total = 15,8 %; dan tekstur berupa serbuk halus berwarna putih agak kekuningan.

Saran

1. Perlu ditelusuri lebih lanjut tentang kandungan kitin dan kitosan limbah hasil laut lainnya, seperti kepiting, lobster dan cumi-cumi.
2. Kitosan yang diperoleh perlu diuji lebih lanjut tentang aplikasi kitosan dalam beberapa bidang khususnya bidang perikanan dan pertanian

DAFTAR PUSTAKA

- Bastaman, S., N. Aprianita dan Hendarti. 1998. Penelitian Limbah Udang sebagai Bahan Industri Kitin dan Kitosan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Industri Hasil Pertanian. Jakarta.
- Christodoulidou, A. 1999. Yeast Ascospore Wall Assembly Requires Two Chitin Deacetylase Isozymes. *FEBS Letters* 460 (1990) 275-279.
- Kuroiwa, T., S. Ichikawa, S. Sato, and S. Mukataka. 2003. Improvement of the Yield of Physiologically Active Oligosaccharides in Continuous Hydrolysis of Chitosan Using Immobilized Chitinase. *J. Biotech. and Bioeng* 84 (1) : 121-123
- Natsir, H. 2000. Karakterisasi dan Purifikasi Enzim Pendegradasi Kitin dari Mikroba Asidofilik Asal Kawah Kamojang. Tesis. Program Pasca-sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Natsir, H., D. Tjandra, M.T. Suhartono, J.K. HWANG, and Y.R. Pyun. 1999. Eksplorasi Mikroba Asidofilik Penghasil Enzim Kitinase Asal Indonesia. Prosiding II. Seminar Hasil-hasil Penelitian Bidang Ilmu Hayat. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Natsir, H., D. Tjandra, M.T. Suhartono, J.K. Hwang, and Y.R. Pyun. 2002. Biochemical Characteristic of Chitinase Enzyme from *Bacillus sp.* Of Kamojang Crater, Indonesia. *J. Biochem. Molecular and Biophysics* 6 (4) 729-282
- Prasetyo, K.W. 2004. Pemanfaatan Limbah Cangkang Udang. UPT. Balitbang Biomaterial LIPI. Cibinong. Bogor.
- Rahayu, S. 2000. Karakterisasi dan Purifikasi Enzim Kitinase dan Kitin Deasetilase Terostabil dari *Bacillus Sp. K29-14* Asal Kawah Kamojang, Jawa Barat. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rahayu, S., F. Tanuwijaya, M.T. Suhartono, J.K. Hwang, and Y.R. Pyun. 2004. Study of Thermostable Chitinase Enzymes from Indonesia *Bacillus K29-14*. *J. Microbiol. and Biotech.* 4 : 647 - 652.
- Rohima, E. 2005. Aplikasi Kitin Deasetilase Termostabil dari *Bacillus papandayan K29-14* Jawa Barat pada Pembuatan Kitosan. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Rukayadi, Y. 2003. Kitin Deasetilase dan Pemanfaatannya. *Hayati*, Vol.9 (4):130-134.
- Sakai, K., A. Yokota, H. Kurokawa, M. Wakayama, and M. Moriguchi. 1998. Purification and Characterization of Three Thermostable Endochitinases of a Noble *Bacillus sp.* Strain, MH-1 Isolated from Chitin-Containing Compost. *Appl. And Env. Microbiology* Vol. 64 (9): 3397 - 3402

- Tokuyasu, K, M. Ohnishi-Kameyama, and K. Hayashi. 1996. Purification and Characterization of Extracellular Chitin Deacetylase from *Colletotrichum lindemuthianum*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60 (10): 1598 – 1603.
- Tribun Timur, 2004. Sulawesi Selatan Sentra Produksi Udang Nasional. Berita 14 Juli 2004. hal. 3
- Tsigos, I, A.Martinou, D.Kafetzopoulos, and V.Bouriotis. 2000. Chitin Deacetylases. New, Versatile Tools in Biotechnology. *Tibtech*. 18: 305 – 312.
- Wang, S.L., and W.T.Chang. 1997. Purification and Characterization of Two Bifunctional Chitinases/ Lysozymes Extracellularly Produced by *Pseudo-monas aeruginosa* K-187 in a Shrimp and Crab Shell Powder Medium. *Appl. and Environmental Microbiology*, Vol. 63 (2): 38.