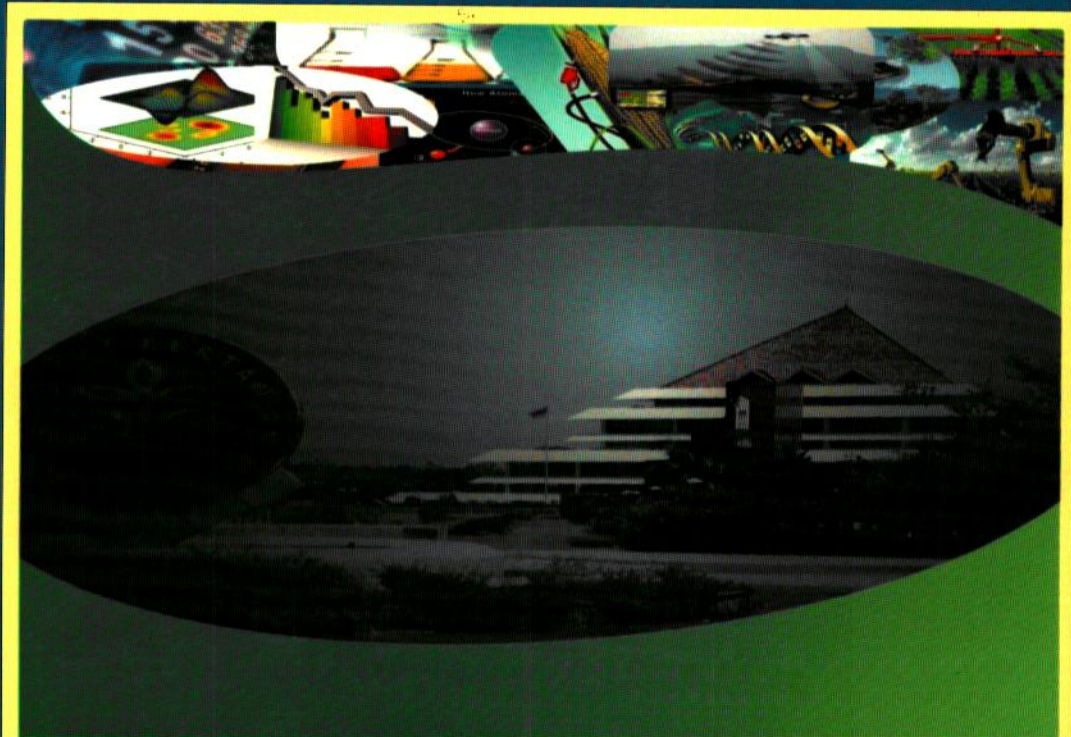


PROSIDING

Seminar Nasional Sains V

Sains Sebagai Landasan Inovasi dalam Bidang Energi, Lingkungan dan Pertanian Berkelanjutan



BUKU 2

Geofisika dan Meteorologi, Biologi, Kimia,
Biokimia

Diterbitkan Oleh :



Institut Pertanian Bogor
Fakultas Matematika dan
Ilmu Pengetahuan Alam

DAFTAR ISI BUKU 1

| | | | Hal |
|----------------------------|---|--|---------|
| | Kata Pengantar | | iv |
| | Daftar Isi | | v |
| <i>Bidang : Statistika</i> | | | |
| No. | Penulis | Judul | Hal |
| 1 | Andzar Syafa'atur Rahman, Hari Wijayanto, Noer Azam Achsan, La Ode Abdul Rahman | Penerapan <i>Fuzzy C-Regression</i> dalam Pendugaan Model Nilai Tanah (Studi Kasus : Lima Kecamatan Di Kota Bekasi) | 3-12 |
| 2 | I Dewa Gede Richard Alan Amory, Muhammad Nur Aidi, Etih Sudarnika | Penerapan Fungsi Diskriminan dalam Deteksi Dini Penentuan Status Mastitis Subklinis pada Sapi Perah (Studi Kasus : Kawasan Usaha Ternak Cibungbulang, Kabupaten Bogor Tahun 2010-2011) | 13-23 |
| 3 | Nurul Qomariasih, I Made Sumertajaya, Sutoro | Analisis Ragam Daya Gabung dan Resiprokal Bobot Biji Jagung dalam Persilangan Dialel Lengkap | 24-34 |
| 4 | Astri Fitriani, Yenni Angraini, Asep Saefuddin | Analisis Spasial Data Panel pada Pola Konsumsi per Kapita Propinsi Jawa Barat dengan Pendekatan Matriks <i>Queen Contiguity</i> dan Akses Jalan | 35-48 |
| 5 | Bimandra Adiputra Djaafara, Anik Djuraidah, Aji Hamim Wigena | Deteksi Gerombol dengan Metode K-Rataan Kernel Gauss | 49-62 |
| 6 | Dwi Haryo Ismunarti | Sudut Minimum Antar Sub Ruang Vektor untuk Memelajari Asal Sedimen Di Perairan Rebon Kabupaten Batang Jawa Tengah | 63-72 |
| 7 | Mia Amelia, Muhammad Nur Aidi, Dian Kusumaningrum | Penerapan Regresi Logistik Spasial untuk Data Penyakit Demam Berdarah Dengue (Dbd) Di Kota Bogor | 73-81 |
| 8 | Nuril Anwar, Anang Kurnia, Yenni Angraini | Pemodelan Tingkat Pengangguran Di Lima Negara Anggota Asean Dengan Regresi Data Panel dan <i>Generalized Estimating Equation</i> | 82-93 |
| 9 | Gusti N.A. Wibawa, Aunuddin, A.A. Mattjik, I M Sumertajaya | Pengaruh Ulangan Terhadap Dugaan Parameter Model Ammi dengan Komputasi Menggunakan Pendekatan Bayes | 94-106 |
| 10 | Didin Saepudin, Asep Saefuddin | Regresi Poisson Terboboti Geografis untuk Menganalisis Data Gizi Buruk (Studi Kasus: Pulau Jawa tahun 2008) | 107-121 |
| 11 | Mulya Sari, Hari wijayanto, Yenni | Pemodelan Produksi Cabe Di Kabupaten Majalengka dengan Regresi Polinom | 122-134 |

| | | | |
|----|---|--|---------|
| | Angraini | | |
| 12 | Anita Pratiwi, Anang Kurnia, La Ode Abdul Rahman | Pendugaan Total Populasi pada Peubah dengan Sebaran Lognormal (Studi Kasus: Data Susenas 2007 Pengeluaran Rumah Tangga Kota Bogor) | 135-149 |
| 13 | Anni Fithriyatul Mas'udah, Anang Kurnia, Dian Kusumaningrum | Metode Regresi <i>Least Trimmed Squares</i> pada Data yang Mengandung Pencilan | 150-161 |
| 14 | Mohammad Masjkur | Model Spasial Percobaan Pemupukan Padi Sawah | 162-170 |
| 15 | Nur Hikmah, Yenni Angraini, Asep Saefuddin | Pemodelan tingkat produk domestik regional bruto kabupaten/kota jawa barat dengan spasial data panel | 171-185 |

Bidang : Matematika

| No. | Penulis | Judul | Hal |
|-----|--|---|---------|
| 1 | Hamzah Upu | Proses Pengembangan Perangkat Pembelajaran Matematika Bertaraf Internasional | 189-203 |
| 2 | M. W. Talakua, F. Y. Rumlawang, F. Kondo Lembang dan G. Loupatty | Pereduksian dimensi data luaran gcm stasiun ambon dengan menggunakan metode <i>principal component analysis</i> (pca) | 204-212 |
| 3 | Nur Aprianti Dwiyatcita, Farida Hanum, Toni Bakhtiar | Penjadwalan Kereta Api Jalur Ganda: Model Job-Shop dan Aplikasinya | 213-223 |
| 4 | Nurus Sa'adah, Toni Bakhtiar, Farida Hanum | Penerapan Prinsip Maksimum Pontryagin pada Sistem Inventori-Produksi | 224-235 |
| 5 | Muhammad Ilyas, Mieko Yamada, Edy Tri Baskoro | Daftar Lengkap Katakode GEH dengan Bobot Lee Minimum atas Ring Galois | 236-245 |
| 6 | Embay Rohaeti, Jaharuddin, Ali Kusnanto | Penggunaan Metode Homotopi Pade' Untuk Menyelesaikan Masalah Lotka-Volterra Logistik | 246-257 |
| 7 | Dewi Senja Rahmahwati, Ali Kusnanto, Jaharuddin | Analisis Kestabilan Model Infeksi Virus Hepatitis B dengan Pertumbuhan Hepatosit yang Bersifat Logistik | 258-270 |
| 8 | Jacob Stevy Seleky, Endar H. Nugrahani, I Gusti Putu Purnaba | Pengaruh Dividen Terhadap Penentuan Nilai Opsi Saham Tipe <i>Up-and-Out Call</i> di Bursa Efek Indonesia | 271-282 |
| 9 | Nurul Khotimah, Farida Hanum, Toni Bakhtiar | Penerapan <i>fuzzy goal programming</i> dalam penentuan investasi bank | 283-292 |
| 10 | Maya Widyastiti, Farida Hanum, Toni Bakhtiar | Implementasi <i>fleet size and mix vehicle routing problem with time windows</i> pada pendistribusian koran | 293-302 |

| | | | |
|----|--|---|---------|
| 11 | Jose Bonatua Hasibuan, Endar H. Nugrahani, I Gusti Putu Purnaba | Modifikasi Model <i>Exponentially Weighted Moving Average</i> Untuk Menduga Volatilitas Saham Di Bursa Efek Indonesia | 304-314 |
| 12 | Endar H. Nugrahani | Penyelesaian masalah nilai batas pada model opsi <i>put</i> amerika dengan volatilitas stokastik | 315-322 |
| 13 | Bib Paruhum Silalahi | Batas Atas Iterasi metode titik Interior dengan Central Path dalam menyelesaikan masalah optimasi linear | 323-332 |

Bidang : Ilmu Komputer

| No. | Penulis | Judul | Hal |
|-----|--------------------------------|--|---------|
| 1 | I. Widyastuti, S. H. Wijaya | Penentuan Rute Optimum Dalam Supply Chain Network dengan Algoritma Ant Colony untuk Kota Dan Kabupaten Bogor | 336-345 |

Bidang : Fisika

| No. | Penulis | Judul | Hal |
|-----|--|---|---------|
| 1 | Novizal, Eva Ridiwati, Kemas A. Zaini Thosin | Analisis Hasil Pelapisan Coni Pada Subtrat Baja St 37 Dengan Kombinasi Metode Deposisi Elektroplating Menggunakan <i>Scanning Electron Microscope</i> (Sem) | 349-358 |
| 2 | M. N Indro, H. Wiranata, and S.G. Sukaryo | Hardness and Corrosion Rate of CoCrMo | 359-364 |
| 3 | M. Dirgantara, M. Saputra, P. Aulia, Z. Deofarana, B. Setiadi, H. Syafutra, A. Kartono | Simulasi sel surya model dioda dengan hambatan seri dan hambatan <i>shunt</i> berdasarkan variasi intensitas radiasi, temperatur, dan susunan modul | 365-374 |
| 4 | Faozan Ahmad, Zuliyatin, Husin Alatas | Dinamika soliton pada rantai protein alpha heliks berdasarkan ansatz ii model davydov | 375-384 |
| 5 | Elvan Yuniarti, Siti Ahmiatri Qolby Sabrina | Kajian sifat optik glukosa darah | 385-392 |
| 6 | Tony Sumaryada, Heriyanto Syafutra, Robi Sobirin, Ajeng Widya Roslia | Simulasi awal perancangan sel surya <i>double junction</i> gaas/ge | 393-403 |
| 7 | Ajeng Widya Roslia, Tony Sumaryada | Pengaruh <i>surface texturing</i> germanium (ge) dan silikon (si) pada disain sel surya menggunakan program pcid | 404-413 |
| 8 | Leni Marlina, Ida Sriyanti, Feri Iskandar dan Khairurrijal | Pengaruh waktu <i>hot-pressing</i> terhadap kekuatan tekan material nanokomposit | 414-424 |
| 9 | Ida Sriyanti | Pengembangan elektronik kamus untuk mata kuliah fisika dasar | 425-435 |

DAFTAR ISI BUKU 2

| | | | |
|--|-------------------|--|------------|
| | | | Hal |
| | Kata Pengantar | | iv |
| | Daftar Isi Buku 1 | | v |
| | Daftar Isi Buku 2 | | viii |

Bidang : Geofisika dan Meteorologi

| No. | Penulis | Judul | Hal |
|-----|--|--|---------|
| 1 | Sonni Setiawan dan Sandro Welyanto Lubis | Identifikasi Gelombang Kelvin Atmosfir Ekuatorial Di Indonesia Berbasis Data Ncep/Ncar Reanalysis I | 439-451 |
| 2 | Andi Syahid Muttaqin, Ahmad Bey | Potensi Pemanfaatan Keluaran Model NWP Untuk Prediksi Cuaca Jangka Pendek (Studi Kasus: Pontianak, Pekanbaru, Semarang, Surabaya Dan Palu) | 452-464 |
| 3 | Mirawati Zulaikha, Bregas Budianto | Analisis Data Hujan di Beberapa Wilayah Sungai Jawa Bagian Barat | 465-474 |
| 4 | Fella Fauziah Hermayana, Ahmad Bey | Kajian Atmosfer Bawah Wilayah Tropis Dan Subtropis | 475-484 |
| 5 | Tania June | Pendekatan mikrometeorologi untuk pendugaan neraca karbon hutan: sistem korelasi <i>eddy</i> | 485-492 |

Bidang : Biologi

| No. | Penulis | Judul | Hal |
|-----|--|---|---------|
| 1 | Wirdhatul Muslihatin, Ruspeni Daesus | Pengaruh Panjang Hari Penyinaran Terhadap Pertumbuhan Dan Pembungaan Rosela (<i>Hibiscus Sabdariffa</i> Linn.) | 495-503 |
| 2 | Rugayah dan Sugiatno | Upaya Peningkatan Keberhasilan Penyetekan Sirih Merah Melalui Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh dan Jumlah Buku pada Dua Jenis Media Tanam | 504-512 |
| 3 | Tri Dewi Andalasari, Y C Ginting, Sri Rama Diana, Nova Rina Firzayanti | Pengaruh Pembelahan Subang Terhadap Produksi Bunga Dan Subang Gladiol (<i>Gladiolus Hybridus</i> L.) Kultivar Holland Putih Dan Holland Pink | 513-521 |
| 4 | Mukh Syaifudin, Siti Nurhayati, Teja Kisananto dan Gideon Sirait | Studi transfer parasit rodensia <i>plasmodium berghei</i> iradiasi dari induk ke anak mencit <i>swiss webster</i> melalui penyusuan | 522-530 |
| 5 | Ence Darmo Jaya Supena, Ikra Nugraha, Dorly | Penggandaan Krom osom Jati (<i>Tectona grandis</i> L.) dengan Oryzalin dalam Kultur <i>In Vitro</i> dan Pendugaan Tingkat Ploidii | 531-540 |

Bidang : Kimia

| No. | Penulis | Judul | Hal |
|-----|----------------------------------|--|---------|
| 1 | Rania Vinata, Armi Wulanawati, M | Sintesis Dan Pencirian Ester Dari Asam Oleat Dan Polioliol Berbasis-Onggok | 543-552 |

| | Khotib | | |
|----|---|---|---------|
| 2 | Buhani, Narsito, Nuryono, dan Eko Sri Kunarti | Penerapan Desorpsi Sekuensial Pada Penentuan Interaksi Ion Cd(Ii) Dengan Adsorben Hibrida Amino-Silika Tercetak Ion | 553-561 |
| 3 | Dyah Iswantini, Bara Taufan S, Novik Nurhidayat, Trivadila | Biosensor Antioksidan Menggunakan Superoksidan Dismutase Secara Elektrokimia: Penentuan Linieritas dan Stabilitas | 562-571 |
| 4 | Rusnadi, Buchari, M. Bachri Amran | Kinetika Adsorpsi Ion Ce^{3+} dengan Mikrokapsul Kalsium Alginat Berisi 1-fenil-3-metil-4-benzoil-5-pirazon (HPMBP) | 572-580 |
| 5 | Euis Julaeha, Desak Made Malini, Ajeng Diantini | Pengaruh Pemberian Senyawa Antifertilitas C30 Sterol yang Diisolasi dari Daun <i>Clerodendron serratum</i> terhadap viabilitas sel murine RAW 265.7 | 581-586 |
| 6 | Evy Ernawati, Solihudin, Iman R, Rosiyyan | Pembuatan Membran Selulosa Asetat Dari Kayu Albasia | 587-592 |
| 7 | Zainuddin Muchtar, Arifista S.W. Harefa | Pembuatan Pulp Dari Tandan Kosong Kelapa Sawit Dengan Metode Organosolv | 593-607 |
| 8 | Muhammad Bachri Amran | <i>Palladium Imprinted Polymers</i> sebagai Material Fungsional untuk Pemungutan Palladium dari Biji Besi | 608-615 |
| 9 | Hasnah Natsir, Seniwati Dali, Mahdaliah, Nurlaeli Fattah, Muhammad Nadir | Produksi Protease dari <i>B. lichemiformis</i> HSA3-1a dan Aplikasinya dalam Isolasi Kitin dari Limbah Udang Secara Enzimatis | 616-624 |
| 10 | Henry Setiyanto, Vienna Saraswati, Rukman Hertadi, Indra Noviandri, Buchari Buchari | Studi Penentuan Reaktivitas Kimia Mekloretamin Menggunakan Metode Voltametri Siklik | 625-630 |
| 11 | Leny Heliawati, Tri Mayanti, Agus Kardinan, Rukmiati K Cokronegoro | Uji Toksisitas Ekstrak Buah Gwang (<i>Corypha utan Lamk.</i>) terhadap Larva Udang <i>Artemia salina</i> leach | 631-637 |
| 12 | Muhammad Ali Zulfikar, Novi Srawaili | Penggunaan Biji Kelor (<i>Moringa Oliefera</i>) Untuk Menurunkan Kadar Mangan Dalam Air | 638-644 |
| 13 | Charlena, Henny Purwaningsih, Rahmat Hafid | Fosfatasi Kalsium Karbonat Cangkang Telur Ayam Dan Kajiannya Pada Proses Adsorpsi Logam Timbal | 645-660 |
| 14 | Harjo Purwantiningsih Sugit and Zainal Alim Mas'ud | Sintesis Polioliol Sebagai Bahan Dasar Pembentuk Poliuretan Berbasis Minyak Jarak Pagar | 661-672 |
| 15 | Charlena, Zainal Alim, Abdul Haris, Fajar | Bioremediasi Senyawa Hidrokarbon Pada Tanah Tercemar Limbah Minyak Berat Menggunakan Teknik | 673-682 |

PRODUKSI PROTEASE DARI *B. LICHEMIFORMIS* HSA3-1A DAN APLIKASINYA DALAM ISOLASI KITIN DARI LIMBAH UDANG SECARA ENZIMATIS

Hasnah Natsir^{1*}, Seniwati Dali^{1*}, Mahdaljah^{1*},
Nurlaeli Fattah^{2*}, Muhammad Nadir^{2*}

^{1*} Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin,
Jl. Perintis Kemerdekaan Km 10 Tamalanrea, Makassar Sulawesi Selatan,
Indonesia 90245, *Email: hasnahnatsir@gmail.com*

^{2*} Politeknik Pertanian Negeri Pangkep, Jl. Poros Makassar-Pare,
Km. 83 Pangkep, Indonesia 90655

ABSTRAK

Protease merupakan enzim hidrolitik yang dapat menghidrolisis protein dari berbagai sumber. Protease yang telah diisolasi dalam penelitian ini bersumber dari *B. licheniformis* HSA3-1a akan diaplikasikan dalam mendeproteinasi limbah udang untuk menghasilkan kitin. Kemampuan protease ini dalam mendeproteinasi limbah udang untuk menghasilkan kitin ditunjukkan dengan hasil pengujian karakteristik kitin hasil isolasi secara enzimatis yang dibandingkan dengan kitin standar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim protease dari bakteri *B. licheniformis* HSA3-1a dapat diproduksi maksimum pada pada kondisi fermentasi: waktu fermentasi 60 jam, suhu 50°C dan pH medium 7,0 dengan konsentrasi kasein sebagai substrat 0,5%. Hasil pengujian enzim protease dari *B. licheniformis* HSA3-1a dalam isolasi kitin dari limbah udang menunjukkan bahwa protease tersebut dapat menghasilkan kitin dengan waktu inkubasi 1-3 jam pada suhu 50°C. Nilai karakteristik kitin hasil isolasi secara enzimatis termasuk dalam kisaran karakteristik kitin standar yaitu kadar N-total= 7,56%, kadar air= 2,95%; kadar abu= 0,96% dan tekstur/warna berupa serbuk berwarna putih serta nilai derajat deasetilase kitin 42,41%.

Kata kunci: *B. licheniformis*, Protease, Kitin, Limbah Udang

1 PENDAHULUAN

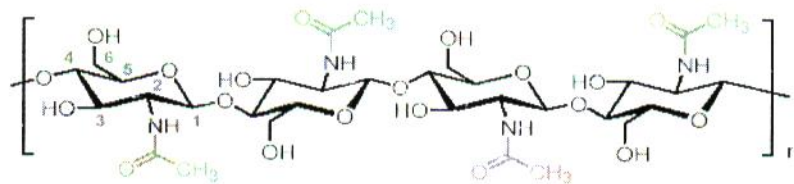
Protease merupakan enzim yang mempunyai daya katalitik terhadap ikatan peptida pada protein, dan hidrolisis sempurna protein akan menghasilkan monomer asam amino. Protease ini memiliki nilai ekonomi tinggi karena aplikasinya dalam industri yang sangat luas seperti: industri farmasi, deterjen, kulit, tekstil, makanan, hidrolisat protein, pengolahan susu dan pengolahan limbah. Kontribusi perdagangan enzim terbesar terdapat golongan proteolitik yaitu 60%, dan 40% dari total protease merupakan protease mikrobal [1].

Protease dalam bidang industri, lingkungan dan perikanan dapat digunakan dalam mendeproteinasi bahan yang mengandung protein seperti industri tekstil, penyamakan kulit, dan industri detergen yang dikenal nama Bio-40 [2], pengolahan

lateks [3] . Protease ini juga digunakan sebagai bahan pendeproteinasi pada limbah perikanan yang mengandung protein seperti kulit udang yang merupakan produk samping dari komoditas sektor perikanan[4].

Data dari Dinas Kelautan dan Perikanan Sulsel tentang ekspor udang tahun 2012, diperkirakan 30 ribu ton/tahun [5]. Hasil proses pembekuan, 40-50% dari berat udang menjadi limbah (kulit dan kepala) yang saat ini masyarakat hanya menggunakan sebagai bahan perasa pada pembuatan kerupuk dan terasi [6]. Oleh karena itu, limbah tersebut perlu penanganan yang serius terutama karena limbah ini mengandung senyawa kimia yang berpotensi menjadi bahan yang lebih bermanfaat yaitu kitin yang dapat dikonversi menjadi kitosan.

Kitin adalah polimer linier karbohidrat yang banyak terdapat pada limbah hasil laut golongan udang dan kepiting. Kandungan kitin dalam limbah udang sekitar 60–70% dan bila diproses menjadi kitosan menghasilkan 15–20% [7]. Kitin merupakan rantai panjang polimerik polisakarida dari beta-glukosa yang dibangun dari unit β -(1,4)-2-asetamida-2-deoxy-D-glukosa (Gambar 1).



Gambar 1. Struktur kitin [8]

Kitin pada limbah hasil laut umumnya masih terikat kalsium dan protein, oleh karena dalam isolasi kitin perlu demineralisasi dan deproteinasi sebelum dikonversi menjadi kitosan [9]. Kitin dapat dideproteinasi oleh enzim protease secara kimiawi maupun secara enzimatik. Hasil penelitian Rohyati [10] menunjukkan bahwa proses deproteinasi secara kimiawi memberikan hasil yang kurang maksimal. Oleh karena itu perlu dilakukan deproteinasi secara enzimatik dengan menggunakan enzim protease.

Berdasarkan hasil penelitian awal diperoleh bakteri termofil *B. licheniformis* HSA3-1a sebagai sumber daya hayati lokal Sulawesi Selatan [11]. Bakteri tersebut potensial menghasilkan enzim protease, dengan demikian dilakukan isolasi protease dari *B. licheniformis* HSA3-1a dan diaplikasikan dalam proses deproteinasi limbah udang untuk menghasilkan kitin secara enzimatik. Karakterisasi kitin hasil isolasi diuji kadar

air, kadar abu, kelarutan, analisis gugus fungsi dengan FTIR, serta analisis tekstur dan warna kitin.

2 METODE PENELITIAN

2.1 Penyiapan Inokulum

Stok kultur bakteri termofil *B. licheniformis* HSA3-1a dikultur dalam medium nutrisi agar+kasein 0,5% hingga diperoleh isolat segar. Selanjutnya dilakukan penyiapan inokulum dengan komposisi medium: amonium sulfat 0,7%, yeast ekstrak 0,05%, bakto tripton 0,1%, NaCl 0,1%, K₂HPO₄ 0,01%, CaCl₂ 0,015%, MgSO₄.7H₂O 0,01% dan kasein 0,5% [12].

2.2 Produksi Enzim Protease

Produksi protease dilakukan dalam erlenmeyer 500 mL yang berisi 200 mL medium produksi dimasukkan 20 mL spora biakan bakteri *B. licheniformis* HSA3-1a, (inokulum aktif), kemudian dishaker pada suhu 50°C selama 1-5 hari dengan kecepatan aerasi 180 rpm. Dari hasil optimasi ini diperoleh kondisi optimum produksi protease, sehingga diperoleh protease dengan aktivitas tertinggi untuk dilanjutkan pada tahap berikutnya. Uji aktivitas protease dengan metode Bollag and Edelstein [13] dan [14] serta analisis protein secara Lowry.

2.3 Uji aktivitas protease

Larutan bufer fosfat sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan enzim dan 0,5 mL kasein 1% b/v dan tirosin 0,1 mM digunakan sebagai larutan standar. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 50°C selama 10 menit. Reaksi hidrolisis dihentikan dengan cara penambahan 1 mL TCA 0,1M. Selanjutnya larutan diinkubasi kembali pada suhu 50°C selama 10 menit, dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya campuran enzim sebanyak 0,75 mL ditambah 2,5 mL Na₂CO₃ 0,4M kemudian ditambah 0,5 mL pereaksi folin Ciocalteau (1:2) dan diinkubasi pada 50°C, 20 menit. Hasil inkubasi diukur dengan spektrofotometer.

2.4 Isolasi Kitin dari Limbah Udang

Proses isolasi atau produksi kitin menurut Bastaman [15] dimodifikasi, isolasi kitin umumnya mempunyai prosedur yang sama yaitu tahap awal limbah yang berupa eksoskeleton dicuci, dikeringkan dan digiling (50-100 mesh). Kemudian proses selanjutnya dilakukan **dalam 3 tahapan** yaitu: **Tahap Demineralisasi**: 100 gr serbuk kulit udang dilarutkan dalam HCl 1,5 N suhu 75°C selama 1 jam, kemudian dicuci

hingga pH netral, dan dikeringkan selama 24 jam, suhu 80°C. **Tahap Deklorinasi**, hasil dari tahapan ke (1) dilarutkan kedalam larutan NaOCl 0,5% pada suhu kamar dan disaring kemudian dikeringkan. **Tahap Deproteinasi** menggunakan enzim protease perbandingan 1:2 (b/v) selama 1, 2, dan 3 jam pada suhu 50°C. Selanjutnya disaring dan dicuci hingga pH netral, kemudian dikeringkan selama 24 jam pada suhu 80°C. Kitin hasil isolasi diuji karakteristik sifat kitin.

2.5 Karakterisasi Kitin

Uji karakteristik kitin meliputi: kadar air, kadar abu, kelarutan, analisis gugus fungsi menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) untuk penentuan derajat deasetilasi kitin, serta analisis tekstur dan warna kitin.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

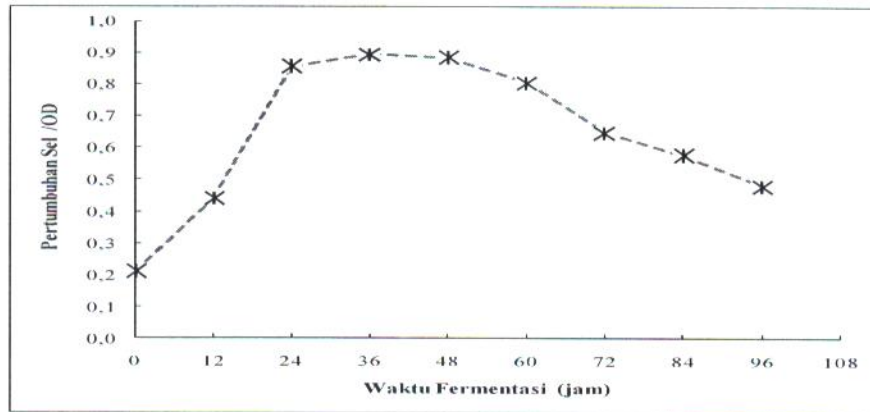
3.1 Produksi Protease dari *B. lichemiformis* HSA3-1a.

Variabel yang dianalisis pada penentuan kondisi optimum produksi protease adalah pengaruh waktu fermentasi terhadap produksi protease, kadar protein dan pertumbuhan sel *B.licheniformis* HSA3-1a. Hasil analisis variabel produksi protease terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis variabel terhadap produksi protease *B.licheniformis* HSA3-1a

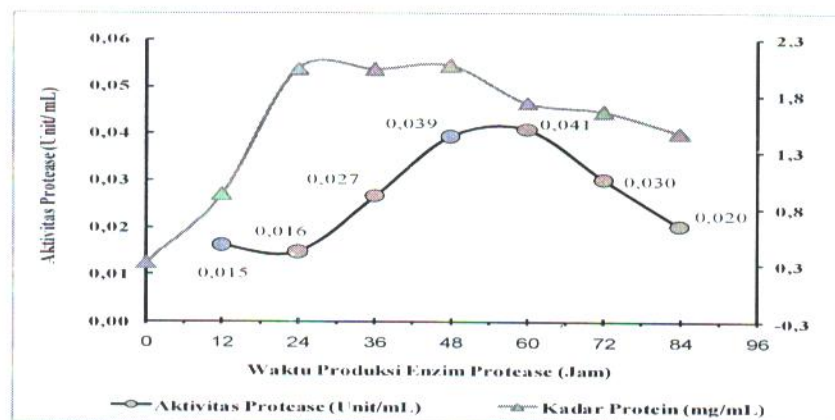
| Waktu Fermentasi (Jam) | Pertumbuhan Sel Bakteri (OD) | Kadar Protein (mg/mL) | Aktivitas Protease (Unit/mL) |
|------------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------------|
| 0 | 0,21 | 0,273 | |
| 12 | 0,442 | 0,879 | 0,0025 |
| 24 | 0,855 | 1,989 | 0,0166 |
| 36 | 0,895 | 1,984 | 0,0246 |
| 48 | 0,884 | 2,017 | 0,0625 |
| 60 | 0,805 | 1,885 | 0,0542 |
| 72 | 0,648 | 1,706 | 0,0236 |
| 84 | 0,576 | 1,417 | 0,0134 |
| 96 | 0,482 | 0,089 | 0,0097 |

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pertumbuhan bakteri *B. licheniformis* HSA3-1a mulai terjadi fase pertumbuhan pada jam ke-0 sampai jam ke-12 dan pada jam ke-24 meningkat tajam yakni terjadi fase logarimik dan selanjutnya terjadi fase pertumbuhan stasioner dari jam ke-24 sampai pada jam ke-60 kemudian pertumbuhan bakteri perlahan-lahan menurun dan terjadi fase kematian, terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan *B. licheniformis* HSA3-1a terhadap produksi protease pada kondisi: pH medium 7,0; suhu 50°C; dan kasein 0,5%.

Produksi protease mulai terjadi pada waktu fermentasi 12 jam kemudian mulai meningkat pada 24 jam menjadi 0,016 U/mL dan selanjutnya pada waktu produksi 48 jam protease disekresikan 0,039 U/mL hingga menjadi 0,041 U/mL pada jam ke-60 waktu produksi dan kemudian terjadi penurunan menjadi 0,030 Unit/mL pada jam ke-72 dan akhirnya terjadi penurunan lagi menjadi 0,02 Unit/mL pada jam ke-84 seperti terlihat pada Tabel 1 dan Gambar 3. Hal ini menunjukkan bahwa produksi protease dari bakteri *B. licheniformis* HSA3-1a secara maksimum terjadi pada akhir fase stasioner pertumbuhan bakteri tersebut yakni pada jam ke-60 waktu fermentasi yang terjadi pada kondisi fermentasi pH medium 7,0; suhu 50°C dan kecepatan aerasi 180 rpm.



Gambar 3. Kadar protein dan aktivitas protease dari *B. licheniformis* HSA3-1a selama waktu fermentasi pada kondisi: pH medium 7,0; suhu 50°C; dan kasein 0,5%.

3.2 Isolasi kitin dari limbah udang dengan protease dari *B. licheniformis* HSA3-1a.

Penggunaan enzim protease dalam isolasi kitin dari limbah udang dilakukan secara enzimatik yaitu dengan melakukan demineralisasi dan dekolourisasi terlebih dahulu sehingga diperoleh sampel kitin masih terikat protein. Hasil deproteinasi dengan enzim protease pada waktu inkubasi 1 jam, 2 jam, dan 3 jam yang dibandingkan dengan kitin deproteinasi secara kimiawi dan kitin standar protan laboratories terlihat pada Tabel 2.

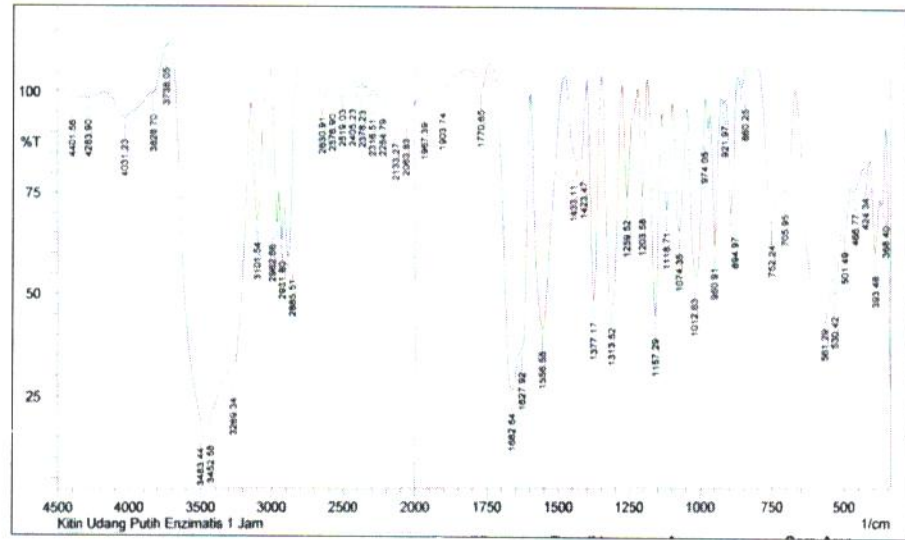
Tabel 2. Karakteristik kitin hasil deproteinasi secara enzimatik pada berbagai waktu inkubasi

| Sampel Kitin | K Air (%) | K Abu (%) | N-Total (%) | Derajat Deasetilasi (%) | Tekstur/Warna |
|--|-----------|-----------|-------------|-------------------------|---------------|
| Kitin (deproteinasi enzimatik 1 jam) | 2,95 | 0,96 | 7,56 | 42,41 | Serbuk/ Putih |
| Kitin (deproteinasi enzimatik 2 jam) | 2,95 | 0,55 | 7,77 | 42,42 | Serbuk/ Putih |
| Kitin (deproteinasi enzimatik 3 jam) | 2,70 | 0,34 | 7,63 | 42,48 | Serbuk/ Putih |
| Kitin (deproteinasi secara kimiawi, 1 jam) | 2,46 | 0,18 | 7,61 | 44,24 | Serbuk/ Putih |
| Kitin Standar Protan Laboratories | < 10 | < 2 | 6 - 8 | 15 - 60 | Serbuk/ Putih |

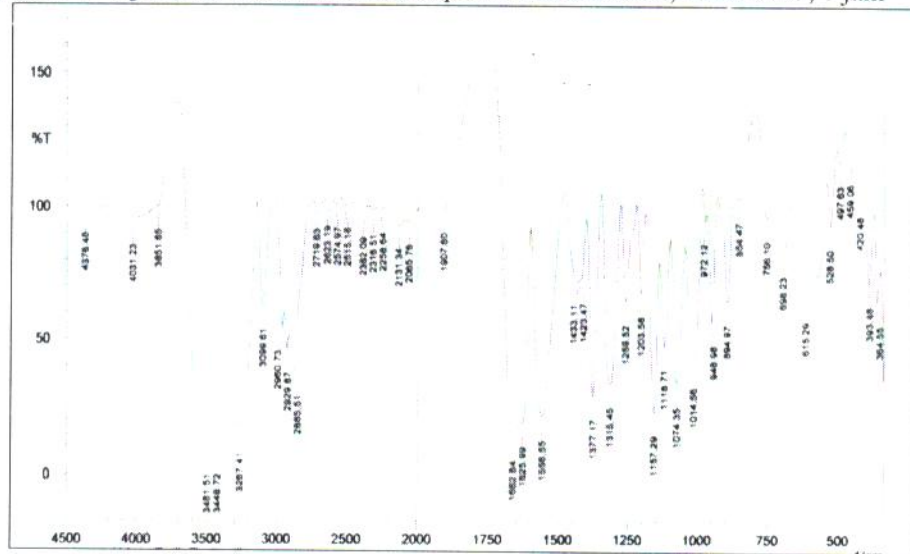
Hasil penelitian (Tabel 2) menunjukkan bahwa kitin hasil deproteinasi secara enzimatik selama waktu inkubasi 1-3 jam memiliki karakteristik yang termasuk pada kategori kitin standar. Menurut Protan Laboratories nilai karakteristik kitin standar yang beredar dipasaran sebaiknya mempunyai: kadar air <10%, kadar abu <2%, warna kitin putih dan memiliki derajat deasetilasi sekitar 15 - 60%. Dengan demikian bahwa proses deproteinasi secara enzimatik yang paling efektif adalah deproteinasi selama 1 jam dengan protease dari *B. licheniformis*, karena kitin yang dihasilkan memiliki nilai karakteristik yang relatif sama dengan waktu deproteinasi yang lebih lama yaitu 2-3 jam. Adapun kitin secara kimiawi jika dibandingkan dengan kitin secara enzimatik juga memiliki nilai karakteristik yang tidak berbeda jauh, namun proses enzimatik merupakan proses yang ramah lingkungan.

Identifikasi kitin dapat dilakukan dengan analisis spektrofotometer IR atau FTIR. Analisis FTIR ini digunakan untuk menentukan struktur khususnya gugus fungsi senyawa organik, metode ini dapat dilakukan dengan cara menghitung % transmittansi atau

absorbansi. Perhitungan derajat deasetilasi (DD%) dari spektrum infra merah kitin dapat dilakukan dengan metode *base line*. Cara membandingkan absorbansi pada bilangan gelombang untuk gugus amida $-NH$ ($1650 - 1500$) cm^{-1} (A_{1655}) dan absorbansi pada bilangan gelombang untuk gugus amina primer $-NH_2$ ($3500 - 3200$) cm^{-1} (A_{3450}) dengan nilai absorbansi 1,33 pada proses deasetilasi sempurna [16].



Gambar 4. Spektrum hasil FTIR kitin deproteinasi enzimatik, suhu 50°C, 1 jam



Gambar 5. Spektrum hasil FTIR kitin deproteinasi kimiawi, suhu 75°C, 1 jam

Hasil spektrum FTIR kitin enzimatik (Gambar 4) dan kitin kimiawi (Gambar 5) dengan perhitungan derajat deasetilasi kitin menunjukkan bahwa nilai DD% kitin enzimatik adalah rata 42% sedang untuk kitin secara kimiawi 44%, dimana menurut

Protan Laboratories, bahwa kitin yang memiliki standar mutu yang baik diharapkan memiliki derajat deasetilasi sekitar 15-60% (Tabel 2).

4 KESIMPULAN

Kesimpulan dari hasil penelitian yang telah dilakukan adalah bahwa enzim protease dari bakteri *B. licheniformis* HSA3-1a dapat produksi secara maksimum pada kondisi fermentasi: pH medium 7, suhu 50°C, kecepatan aerasi 180 rpm selama waktu fermentasi 60 jam. Enzim protease dari bakteri *B. licheniformis* HSA3-1a dapat digunakan dalam isolasi kitin dari limbah udang dengan mendeproteinasi selama 1 jam pada suhu 50°C. Nilai karakteristik kitin hasil isolasi secara enzimatik masuk dalam kisaran karakteristik kitin standar yaitu dengan nilai kadar N-total= 7,56%, kadar air= 2,95%; kadar abu= 0,96%, derajat deasetilasi= 42,41% dan tekstur/warna berupa serbuk berwarna putih.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Dirjen Dikti Kemdikbud atas bantuan Penelitian MP3EI-2012 dan Terima kasih pula kepada anggota peneliti di Lab Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Unhas dan Politani Pangkep serta Lab Biokimia UIN Makassar serta semua pihak yang terkait dengan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rao, M.M., A.M. Tanksale, M.S. Gatge, V.V. Desphande, 1998, **Molekular And Biotechnological Aspect Of Microbial Protease**, *Mikrobiol. And Mol. Biol. Rev.*, **62**(3):597-635.
2. Ward, O.P., 1985, *Proteolytic enzymes. In Young, M.M. (Ed.). Comprehensive Biotechnology: The principles, Applications, and Regulations of Biotechnology in Industry, Agriculture and Medicine*, Vol. 3, Pergamon Press, Oxford.
3. Siswanto, Suharyanto, Syamsu, Y., 2009, **Penggunaan Enzim Protease pada Pengolahan Lateks Pekat DPNR sebagai Bahan Pembn atan Sphgmomanometer**, Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Bogor. Bogor.
4. Abun, 2006, **Bioproses Limbah Udang Windu Melalui Tahapan Deproteinasi, Demineralisasi terhadap Protein dan Mineral Terlarut**, *Skripsi*, Fak. Peternakan Univ. Padjadjaran, Jatinangor, Bandung.
5. Departemen Kelautan dan Perikanan, 2012, Perimtaan Udang Sulawesi Selatan Capai 300 Ton, <http://www.antara-sulawesiselatan.com/berita/permintaan-udang-sulsel>, diakses: 29 Maret 2012.

6. Natsir, H., Dali, S., Jawahir, B. dan Aziz, F., 2007. Konversi Kitin dari Limbah Udang Api-api (*Metapenaeus monoceros*) Menjadi Senyawa Kitosan Secara Enzimatis. *J. Marina Chemica Acta*. Edisi Khusus Seminar Nasional FK3TI: 82–89.
7. Angka, S.L.dan M.T.Suhartono. 2000. **Bioteknologi Hasil Laut**. PKSPL-Institut Pertanian Bogor. Bogor.
8. Thate MR. 2004. *Synthesis and Antibacterial Assessment of Water-Soluble Hydrophobic Chitosan Derivatives Bearing Quaternary Ammonium Functionality*. Louisiana: Disertasi
9. Rukayadi, Y, 2003, **Kitin Deasetilase dan Pemanfaatannya**, Hayati, Vol.9 (4): 130-134.
10. Rokhati, N., 2006, Pengaruh Derajat Deasetilasi Kitosan dari Kulit Udang terhadap Aplikasinya sebagai Pengawet Makanan, *Reaktor*, Vol.10 (2): 54-58
11. Natsir, H., Patong, A.R., Suhartono, M.T. and Ahmad, A. 2010. Production and Characterization of Chitinase Enzymes from Hot Spring in South Sulawesi, *Bacillus* sp. HSA3-1a. *Indo. J. of Chem.* 10 (2): 256–260.
12. Natsir, H., D.Chandra, Y.Rukayadi, M.T. Suhartono, J.K. Hwang, and Y.R.Pyun, (2002), **Biochemical Characteristics of Chitinase Enzyme from *Bacillus* sp. of Kamojang Craater, Indonesia**. *Journal Of Biochem., Molecular Biology and Biophysics*
13. **Bollag, D.M. and Edelstein, S.J. 1991. Protein Methods. New York: Wiley-Less.**
14. Baehaki, A., Rinto, Budiman, A., 2001, **Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Tanah Rawa Indralaya**, *J. Teknol. dan Industri Pangan*, 22(1), 37 – 42.
15. 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.
16. Rizqiyah, D.N.R., 2010, **Isolasi dan Identifikasi Kitin dan Kitosan dari Cangkang Hewan Mimi (*Horseshoe Crab*) Menggunakan Spektrofotometri Infra Merah**, *Alchemy*, Vol.2 No. 1, hal. 104 – 157.