

**Penentuan Kondisi Optimum Untuk Produksi Glukosamin Kasar  
dari Kulit Udang Windu (*Penaeus Monodon* Fabr.)  
oleh *Aeromonas hydrophila***

Determination of Optimum Conditions for Crude Glucosamine Production  
from Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabr.) Shell  
by *Aeromonas hydrophila*

Yuniwaty Halim\* dan Febrico

Jurusan Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan  
Jl. M.H. Thamrin Boulevard, Tangerang 15810, Banten  
\*e-mail: yuniwaty.halim@uph.edu

### ABSTRAK

Kulit udang windu (*Penaeus monodon* Fabricius) merupakan salah satu sumber kitin. Kitin merupakan polisakarida yang dapat dihidrolisis lebih lanjut menjadi kitosan dan glukosamin. Senyawa N-asetil glukosamin hasil hidrolisis kitin sering digunakan dalam pengobatan osteoarthritis dan juga sebagai suplemen makanan. Salah satu metode untuk menghasilkan N-asetil glukosamin dari kitin adalah melalui fermentasi menggunakan kapang atau bakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kondisi optimum (suhu, pH, dan lama fermentasi) untuk memproduksi N-asetil glukosamin dari kulit udang windu melalui fermentasi cair menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penentuan suhu optimum dilakukan dengan fermentasi cair terhadap isolate kitin pada tiga suhu fermentasi yang berbeda, yaitu 18oC, 28oC, dan 37oC. Suhu terbaik yang diperoleh kemudian digunakan untuk menentukan pH (6,0; 7,0; 8,0) dan lama fermentasi (1, 2, 3 hari) yang optimum untuk produksi N-asetil glukosamin. Konsentrasi N-asetil glukosamin tertinggi dihasilkan melalui fermentasi pada suhu 37oC, dengan kondisi pH 8,0 dan lama fermentasi 2 hari, yaitu sebesar 36.955,00 ±333,17 mg/L.

**Kata kunci:** kitin, *Aeromonas hydrophila*, N-asetil glukosamin, kulit udang windu.

### Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara maritim yang sangat potensial sebagai penghasil ikan dan hewan laut lainnya, seperti udang. Pada saat ini, budidaya udang berkembang sangat pesat sehingga udang telah menjadi komoditas ekspor non-migas yang dianggap potensial dan memiliki nilai ekonomis tinggi. Di Indonesia, udang biasanya diekspor setelah bagian kepala, ekor, dan kulitnya dipisahkan, padahal limbah ini memiliki nilai ekonomis yang tinggi karena komponen utama penyusun kulit udang adalah kitin, yang merupakan polisakarida alami yang memiliki banyak fungsi, antar lain sebagai chelating agent, emulsifier, dan adsorben (No, 2000).

Salah satu monomer penyusun kitin adalah glukosamin. Glukosamin dalam bentuk glukosamin sulfat, glukosamin HCl atau N-asetil Glukosamin telah digunakan secara luas sebagai suplemen untuk menyembuhkan penyakit osteoarthritis, nyeri pada lutut dan punggung. Glukosamin dinyatakan aman untuk dikonsumsi dan tidak mempengaruhi metabolisme glukosa (Shantosh et al., 2007).

Hidrolisis kitin untuk menghasilkan glukosamin dengan menggunakan metode kimiawi akan menghasilkan limbah asam yang tidak ramah lingkungan. Degradasi kitin menggunakan enzim sangat mahal, sehingga metode alternatif yang dapat digunakan adalah menggunakan bakteri kitinolitik untuk

memfermentasi kitin menjadi glukosamin. Salah satu mikroorganisme yang diketahui memiliki aktivitas kitinolitik adalah bakteri. Akan tetapi, untuk menghasilkan aktivitas kitinolitik yang tinggi, kondisi fermentasi harus dijaga pada kondisi yang optimum untuk pertumbuhan bakteri tersebut. Penelitian sebelumnya oleh Saima et al. (2013) menyatakan bahwa *Aeromonas hydrophila* yang diisolasi dari tanah memiliki aktivitas kitinolitik yang tinggi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum, yaitu suhu, pH, dan lama fermentasi untuk memproduksi N-asetil glukosamin dari kulit udang windu dengan menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

## **Metode Penelitian**

### *Proses Pembuatan Isolat Kitin*

Kulit udang windu (*Penaeus monodon* Fabricius) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari daerah Muara Baru, Jakarta Utara. Kulit udang yang diperoleh dicuci dengan air bersih dan dikeringkan menggunakan sinar matahari selama 2 hari. Setelah itu, kulit udang yang telah kering dikecilkan ukurannya menggunakan dry blender dan diayak menggunakan sieve shaker hingga mencapai ukuran 35 mesh, untuk menghasilkan tepung kulit udang yang halus.

Tepung kulit udang kemudian melalui proses demineralisasi dan deproteinasi sesuai metode Rahmawati et al. (2012) dengan modifikasi. Sebanyak 100 gram tepung kulit udang dicampurkan dengan larutan asam (HCl 1 M) dengan rasio 1:10 (b/v), kemudian dipanaskan dan diaduk menggunakan magnetic stirrer pada suhu 75oC selama 2 jam. Hasilnya kemudian disaring. Endapan yang diperoleh kemudian dicuci dengan air hingga mencapai pH netral dan dikeringkan pada oven bersuhu 60oC selama 20 jam.

Proses deproteinasi dilakukan setelah proses demineralisasi selesai. Kitin yang sudah mengalami demineralisasi direndam dalam larutan NaOH 3,5% dengan rasio 1:10 (b/v). Campuran ini kemudian dipanaskan dan diaduk menggunakan magnetic stirrer pada suhu 75oC selama 2 jam. Hasil yang didapatkan kemudian disaring. Endapan yang diperoleh kemudian dicuci dengan air hingga mencapai pH netral dan dikeringkan pada oven bersuhu 60oC selama 20 jam. Hasil yang diperoleh setelah pengeringan ini adalah isolat kitin. Tepung kulit udang dan isolat kitin kemudian diuji rendemennya, kadar air menggunakan metode oven (AOAC, 1999), kadar protein menggunakan metode Bradford (Kruger, 2009 dengan modifikasi), dan kadar abu dengan metode pengabuan kering (AOAC, 1992).

### *Proses Pembuatan Kultur Kerja*

Kultur murni *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari LIPI. Kultur stok dibuat dengan cara memindahkan kultur murni ke agar miring kemudian diinkubasi pada suhu 37oC selama 24 jam. Kultur kerja dipersiapkan dengan cara 1 ose kultur stok diambil dan dipindahkan ke agar miring yang baru, kemudian diinkubasi pada suhu 37oC selama 24 jam. Setelah 24 jam, kultur ini disimpan pada suhu 4oC di

dalam kulkas. Apabila kultur ini akan digunakan untuk fermentasi, maka 1 ose kultur diambil dan dipindahkan ke dalam media Nutrient Broth 10 ml dan diinkubasi (Haedar et al., 2017).

#### *Proses Pembuatan Kitin Koloidal*

Sebanyak 10 gram isolat kitin dicampurkan dengan 100 ml asam klorida pekat dan diaduk selama 2-3 jam menggunakan magnetic stirrer untuk melarutkan kitin. Campuran ini kemudian ditambahkan dengan 500 ml etanol dingin dan endapan yang terbentuk kemudian dipisahkan melalui penyaringan. Larutan NaOH pekat ditambahkan ke endapan hingga endapan mencapai pH 5,5. Endapan yang terbentuk kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan endapan dari supernatan. Endapan yang terbentuk merupakan kitin koloidal yang akan digunakan dalam fermentasi (Setia, 2015).

#### *Metode Uji Aktivitas Kitinolitik*

Media selektif disiapkan menurut metode Setia (2015) dengan modifikasi. Formulasi media yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1. Metode uji aktivitas kitinolitik bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dilakukan adalah metode paper disc diffusion dengan menggunakan indikator BCP (Bromcresol Purple).

Table 1 Formulasi media selektif untuk uji aktivitas kitinolitik

Komponen	Jumlah (g/L)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.3
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.7
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.5
Kitin koloidal	5.0
<i>Nutrient agar</i>	20.0
BCP 0.01%	0.1

Sumber: Setia (2015)

Kertas cakram yang sebelumnya dicelupkan ke dalam suspensi bakteri (kultur kerja) kemudian diletakkan di permukaan media agar selektif, kemudian cawan diinkubasi selama 22, 44, dan 66 jam pada suhu 37°C. Mikroorganisme kitinolitik yang dapat melakukan pemecahan kitin menjadi N-asetilglukosamin ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terbentuk disertai dengan perubahan pH, yaitu warna indikator BCP akan berubah dari warna kuning (pH asam) menjadi warna ungu (pH basa). Dengan kata lain, aktivitas kitinolitik ditunjukkan dengan pembentukan zona berwarna ungu (Kamel dan El-Moenim, 2013). Diameter zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong (Tangapo, 2005). Hasil diameter zona bening yang terbentuk digunakan untuk menentukan indeks kitinolitik, dengan menggunakan metode Suryadi, et al. (2013).

#### *Pembuatan Kurva Standar N-asetil Glukosamin*

Kadar N-asetil Glukosamin ditentukan dengan menggunakan metode Wu, et al. (2005) dengan modifikasi. Sebelumnya kurva standar N-asetil Glukosamin

disiapkan dengan cara melarutkan 0,05 gram glukosamin standar dengan 50 ml air untuk menghasilkan konsentrasi N-asetil Glukosamin sebesar 10.000 mg/L. Setelah itu, standar glukosamin ini dilarutkan dengan air untuk mendapatkan konsentrasi sebesar 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, dan 7000 mg/L. Dari masing-masing konsentrasi, sebanyak 4 ml larutan diambil dan ditambahkan dengan 0,5 ml larutan ninhydrin 0,8% dan 0,5 ml larutan buffer pH 7. Larutan kemudian dipanaskan pada suhu 95oC di dalam waterbath selama 15 menit. Larutan yang terbentuk akan berwarna ungu yang kemudian akan dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS (Hitachi U-2000) pada panjang gelombang 324 nm.

#### *Penentuan Suhu Fermentasi Optimum*

Suhu fermentasi optimum ditentukan dengan cara melakukan fermentasi cair pada berbagai variasi suhu, yaitu 18°C, 28°C, dan 37°C. Media yang digunakan pada fermentasi cair ini adalah sebanyak 50 ml dengan formulasi media yang dapat dilihat pada Tabel 2. Jumlah kultur yang ditambahkan ke dalam media adalah sebanyak 1 ml.

Table 2 Formulasi media untuk fermentasi cair

Komponen	Persentase (w/v)
Kitin koloidal	2%
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O	0,1%
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,05%
Sumber nitrogen	0,1%
Glukosa	2%
Aquadest	hingga 50 ml

Sumber: Saskiawan dan Handayani (2011)

Fermentasi pada berbagai suhu ini dilakukan selama 2 hari pada pH netral. Setelah proses fermentasi selesai, media beserta kultur kemudian dipanaskan di dalam waterbath pada suhu 70oC untuk menginaktivasi bakteri. Filtrasi kemudian dilakukan dan filtrat yang diperoleh merupakan N-asetil Glukosamin yang dihasilkan dari proses fermentasi. Filtrat diencerkan dengan perbandingan 1:5. Sebanyak 4 ml filtrat diambil lalu ditambahkan dengan 0,5 ml ninhydrin dan 0,5 ml buffer pH 7. Kadar N-asetil Glukosamin kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-VIS (Hitachi U-2000) pada panjang gelombang 324 nm. Absorbansi yang terbaca kemudian diubah menjadi kadar N-asetil Glukosamin dengan cara membandingkan dengan kurva standar. Rancangan percobaan yang digunakan merupakan rancangan acak lengkap 1 faktor, dengan suhu sebagai faktornya. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS versi 22.0.

#### *Penentuan pH dan Lama Fermentasi Optimum*

Suhu optimum yang diperoleh dari percobaan sebelumnya kemudian digunakan untuk menentukan pH dan lama fermentasi optimum oleh *Aeromonas hydrophila* untuk menghasilkan N-asetil Glukosamin yang optimum. Kombinasi pH yang digunakan adalah 7,0; 8,0; dan 9,0, sedangkan lama fermentasi yang digunakan adalah selama 1, 2, dan 3 hari. pH media disesuaikan dengan

menggunakan larutan HCl 1 M atau NaOH 1 M. hasil fermentasi yang diperoleh kemudian diukur kadar N-asetil Glukosamin dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS (Hitachi U-2000) pada panjang gelombang 324 nm. Rancangan percobaan yang digunakan merupakan rancangan acak lengkap 2 faktor dengan 3 replikasi, dengan pH dan lama fermentasi sebagai faktor-faktornya. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS versi 22.0.

## Hasil dan Pembahasan

### *Karakteristik Tepung Kulit Udang*

Tepung kulit udang yang diperoleh setelah proses pengeringan dan pengecilan ukuran dianalisis untuk kadar air, kadar abu, dan kadar protein. Hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 3.

Table 3 Komposisi kimia tepung kulit udang

Parameter	Persentase (%)
Kadar air (basis basah)	8,55 ± 0,35
Kadar abu (basis basah)	40,76 ± 0,54
Kadar protein	29,12 ± 0,10

Kadar air tepung kulit udang dianalisis untuk memastikan bahwa proses pengeringan telah berlangsung dengan efektif. Kadar air yang diperoleh adalah sebesar (8,55 ± 0,35)%. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Manurung (2011), yang menyatakan bahwa kadar air dari tepung kulit udang adalah sebesar 8,50-8,81%. Hasil ini menunjukkan bahwa pengeringan di bawah sinar matahari selama 2 hari telah cukup efektif untuk mengeringkan kulit udang. Kadar abu dan protein pada tepung kulit udang diukur untuk mengetahui kadar abu dan kadar protein awal. Kedua parameter ini penting untuk nantinya mengetahui efektivitas proses demineralisasi dan deproteinasi yang dilakukan untuk memperoleh isolat kitin. Kadar abu yang diperoleh dalam penelitian ini adalah sebesar (40,76 ± 0,54)%, sedangkan kadar proteinnya adalah sebesar (29,12 ± 0,10)%. Hasil ini sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Sanusi (2004), yang menyatakan bahwa tepung kulit udang mengandung kadar abu sebesar 27,09% dan kadar protein sebesar 23,94%. Perbedaan hasil ini dapat disebabkan oleh perbedaan jenis udang, jenis pakan yang diberikan, dan kondisi lingkungan tempat pembudidayaan udang.

### *Karakteristik Isolat Kitin*

Isolat kitin yang diperoleh dianalisis kadar air, kadar abu, kadar protein, rendemen, dan derajat asetilasi. Hal ini dilakukan untuk mengetahui komposisi kimia dari isolate kitin yang

Table 4. Chemical composition, degree of acetylation and yield of isolated chitin

Parameter	Persentase (%)
Kadar air (basis basah)	5,29 ± 0,11
Kadar abu (basis basah)	0,67 ± 0,18
Kadar protein	2,16 ± 0,01
Rendemen	16,04 ± 0,25
Derajat asetilasi	92,24

Kadar air pada isolat kitin diukur untuk memastikan kadar air kitin yang diperoleh adalah di bawah 10%, sesuai dengan standar yang dinyatakan dalam penelitian Purwatiningsih et al. (2009). Kadar air dari isolat kitin yang diperoleh pada penelitian ini adalah sebesar  $(5,29 \pm 0,11)\%$ . Penurunan kadar air ini jika dibandingkan dengan tepung kulit udang dapat terjadi karena adanya proses pengeringan lebih lanjut pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 20 jam setelah proses demineralisasi dan deproteinasi. Hasil kadar air yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Qin et al. (2010), yang menyatakan bahwa kadar air dari tepung kitin adalah sebesar 5,5%.

Kadar abu diukur untuk mengetahui keberhasilan proses demineralisasi. Pada penelitian ini, kadar abu yang diperoleh pada isolat kitin adalah sebesar  $(0,67 \pm 0,18)\%$ , sedikit lebih rendah dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Liu et al. (2013), yang memperoleh kitin dengan kadar abu sebesar 1,59%. Kadar abu yang lebih tinggi dari penelitian sebelumnya kemungkinan disebabkan oleh lama proses demineralisasi yang berbeda, yaitu pada penelitian oleh Liu et al. (2013), proses demineralisasi hanya dilakukan selama 30 menit pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$ .

Kadar protein pada isolat kitin diukur menggunakan metode Bradford, dengan hasil kadar protein yang diperoleh adalah sebesar  $(2,16 \pm 0,01)\%$ . Hasil ini berbeda dengan penelitian sebelumnya oleh Sahidi et al. (1999), yang menyatakan bahwa kadar protein setelah proses deproteinasi adalah sebesar 0,5%. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh perbedaan konsentrasi asam dan basa yang digunakan dalam proses demineralisasi dan deproteinasi.

Rendemen dari isolat kitin yang diperoleh adalah sebesar  $(16,04 \pm 0,25)\%$ , yang sedikit lebih rendah dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Minda et al. (2010), yang menyatakan bahwa rendemen kitin yang diperoleh adalah sebesar 20,72%. Hal ini dapat terjadi karena adanya perbedaan prosedur yang digunakan untuk proses demineralisasi. Pada penelitian Minda et al. (2010), tidak dilakukan pemanasan pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  setelah proses perendaman dengan larutan HCl 1M. Proses pemanasan dapat melarutkan komponen-komponen seperti protein, lemak, fosfor, besi, dan magnesium, sehingga rendemen akhir yang didapatkan lebih rendah.

Derajat asetilasi diukur untuk memastikan bahwa padatan yang diperoleh dari akhir proses demineralisasi dan deproteinasi adalah kitin, dan bukan kitosan. Isolat kitin yang memiliki derajat asetilasi di bawah 50% adalah kitosan, sedangkan apabila derajat asetilasi di atas 50% adalah kitin (Younes dan Rinaudo, 2015). Pada penelitian ini isolat kitin yang diperoleh memiliki derajat asetilasi sebesar 92,24%, yang berarti hasil yang diperoleh dari proses demineralisasi dan deproteinasi adalah kitin. Hasil ini juga sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Wu dan Zivanovic (2008), yang menyatakan bahwa kitin memiliki derajat asetilasi antara 70-95%.

### *Uji Aktivitas Kitinolitik*

Uji aktivitas kitinolitik dilakukan pada penelitian ini untuk memastikan bahwa *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri kitinolitik yang dapat memecah kitin menjadi glukosamin. Hasilnya dinyatakan dalam indeks kitinolitik yang dihitung berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk karena aktivitas bakteri, dibandingkan dengan diameter koloni yang terbentuk. Untuk memperjelas zona bening yang terbentuk, indikator BCP ditambahkan ke dalam media. Indeks kitinolitik bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 5.

Table 5. Pengaruh lama inkubasi terhadap indeks kitinolitik bakteri *Aeromonas hydrophila*

Lama inkubasi (jam)	Indeks kitinolitik
22	2,59 ± 0,26
44	1,27 ± 0,07
66	1,28 ± 0,42

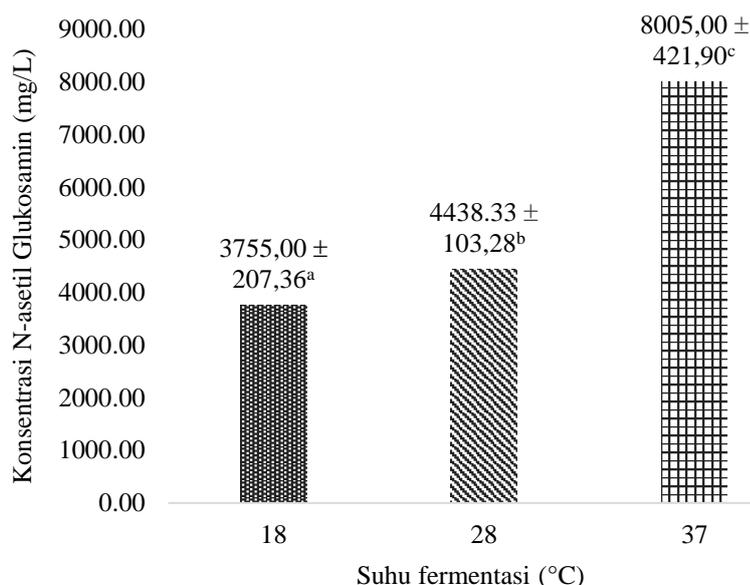
Tabel 5 menunjukkan bahwa indeks kitinolitik terbesar diperoleh setelah inkubasi selama 22 jam. Hal ini sesuai dengan teori oleh Widanarni (2008), yang menyatakan bahwa fase eksponensial *Aeromonas hydrophila* adalah pada inkubasi selama 16-22 jam, sehingga produksi kitinase terbesar ada pada rentang waktu tersebut.

### *Pengaruh Suhu Fermentasi terhadap Produksi N-asetil Glukosamin*

Untuk mengetahui suhu fermentasi optimum oleh *Aeromonas hydrophila*, maka proses fermentasi dilakukan pada 3 suhu yang berbeda, yaitu suhu 18°C, 28°C, dan 37°C selama 2 hari, dengan pH media fermentasi 8,0. Fermentasi yang dilakukan merupakan fermentasi cair (submerged fermentation) dengan total bakteri yang ditambahkan ke dalam media fermentasi adalah sebesar 1 ml. Hal ini karena berdasarkan hasil perhitungan jumlah sel bakteri dengan menggunakan hemasitometer, jumlah sel bakteri yang diperoleh adalah sebesar  $1,5 \times 10^7$  CFU/ml. Hasil perhitungan sel bakteri ini sesuai dengan teori oleh Ibrahim (2015), yang menyatakan bahwa standar penambahan kultur bakteri pada fermentasi cair adalah sebesar  $1 \times 10^7$  CFU/ml.

Pemilihan suhu fermentasi didasarkan pada penelitian oleh Narayana et al. (2007) yang menyatakan bahwa *A. hydrophila* tumbuh pada suhu 18-55oC. Selain itu, Saima et al. (2002) menyatakan bahwa produksi kitinase maksimum oleh bakteri terjadi pada suhu fermentasi 37oC pada pH media 8,0, dan lama fermentasi 24-48 jam.

Analisis statistik pada penelitian ini menunjukkan bahwa ada pengaruh signifikan dari suhu fermentasi terhadap konsentrasi N-asetil Glukosamin yang dihasilkan. Hasil ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Keterangan: notasi yang berbeda menyatakan adanya perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ )

Gambar 1. Pengaruh suhu fermentasi terhadap konsentrasi N-asetil glukosamin

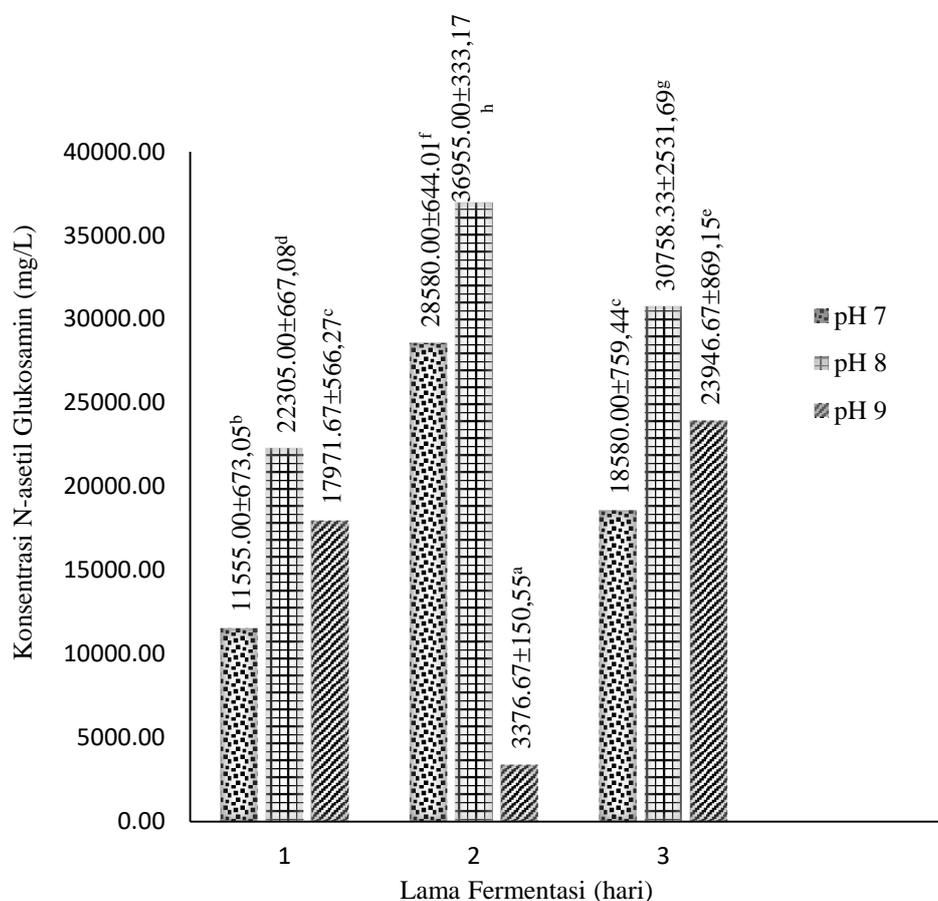
Gambar 1 menunjukkan bahwa produksi N-asetil Glukosamin tertinggi diperoleh pada suhu fermentasi 37°C, yaitu sebesar (8005,00 ± 424,90) mg/L, sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Saima et al. (2013). Produksi kitinase yang maksimal pada suhu 37°C menyebabkan banyaknya komponen kitin yang dihidrolisis menjadi N-asetil Glukosamin. Hasil ini juga menunjukkan bahwa suhu memegang peranan penting dalam pertumbuhan mikroorganisme dan reaksi-reaksi yang terjadi di dalam sel. Elias et al. (2014) menyatakan bahwa suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan mikroorganisme, yang kemudian juga mempengaruhi laju reaksi kimia dan stabilitas struktur molekul protein. Reaksi kimia akan meningkat seiring meningkatnya suhu, karena suhu yang meningkat menyebabkan energi kinetik dari reaktan juga meningkat.

#### *Pengaruh pH dan Lama Fermentasi terhadap Produksi N-asetil Glukosamin*

Untuk mengetahui pH dan lama fermentasi oleh *A. hydrophila* yang dapat menghasilkan N-asetil Glukosamin dengan maksimum, maka proses fermentasi dilakukan pada pH media yang berbeda-beda, yaitu 7,0; 8,0; dan 9,0 dan lama fermentasi yang berbeda-beda, yaitu 1, 2, dan 3 hari. Suhu fermentasi yang digunakan adalah 37°C, berdasarkan hasil penelitian pada tahap sebelumnya. Pemilihan kombinasi pH dan lama fermentasi didasarkan pada penelitian sebelumnya oleh Saima et al. (2013) yang menyatakan bahwa *Aeromonas hydrophila* dapat tumbuh pada rentang pH 5-8, dan pH optimum untuk aktivitas kitinase terjadi pada pH 8 dengan lama inkubasi 24-48 jam.

Analisis statistik pada penelitian ini menunjukkan bahwa ada pengaruh signifikan dari interaksi antara pH dan lama fermentasi terhadap produksi N-asetil Glukosamin. Masing-masing faktor, yaitu pH dan lama fermentasi juga

memberikan pengaruh signifikan terhadap produksi N-asetil Glukosamin. Hasil ini dapat dilihat pada Gambar 2.



Keterangan: notasi yang berbeda menyatakan adanya perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ )

Gambar 2. Pengaruh pH dan lama fermentasi terhadap konsentrasi N-asetil glukosamin

Xie et al. (2004) menyatakan perbedaan pH fermentasi yang disebabkan oleh penggunaan buffer pH yang berbeda, dapat menyebabkan perubahan warna pada media, sehingga pada analisis dengan menggunakan spektrofotometer, terdapat hasil pembacaan absorbansi yang bervariasi, sehingga kadar N-asetil Glukosamin yang dihitung juga dapat berbeda-beda.

Produksi N-asetil Glukosamin tertinggi didapatkan pada fermentasi selama 2 hari pada media dengan pH 8,0, yaitu sebesar (36955,00 ± 333,17) mg/L. Saima et al. (2002) menyatakan bahwa produksi maksimum kitinase terjadi pada pH 8,0 setelah inkubasi 24-48 jam. Pada penelitian ini, produksi kitinase sepertinya menurun pada lama fermentasi 3 hari, ditunjukkan dengan konsentrasi N-asetil Glukosamin yang dihasilkan juga menurun.

Penelitian sebelumnya oleh Deng et al. (2005) dengan menggunakan *E. coli* menghasilkan kadar N-asetil Glukosamin yang lebih tinggi, yaitu sebesar 110 g/L. Akan tetapi, penelitian tersebut menggunakan *E. coli* yang sudah dimodifikasi gennya sehingga dapat mensintesis glukosamin secara langsung dengan menggunakan fermentasi cair. Walaupun N-asetil Glukosamin yang dihasilkan pada penelitian ini lebih rendah, akan tetapi produksi N-asetil Glukosamin sudah

cukup maksimal, karena rendemen N-asetil Glukosamin adalah sebesar kurang lebih 60% dari berat kering isolat kitin. Bhargav et al. (2008) juga menambahkan bahwa konsentrasi maksimum N-asetil Glukosamin yang dihasilkan dari hidrolisis udang dapat bervariasi karena dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu jenis udang, suhu inkubasi, dan komposisi media yang digunakan untuk fermentasi.

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Kulit udang windu (*Penaeus monodon* Fabricius) mengandung kadar air ( $8,55 \pm 0,35$ ), kadar abu sebesar ( $40,76 \pm 0,54$ )% dan kadar protein sebesar ( $29,12 \pm 0,10$ )%.
2. Isolat kitin yang diperoleh mengandung kadar air ( $5,29 \pm 0,11$ )%, kadar abu sebesar ( $0,67 \pm 0,18$ )%, kadar protein sebesar ( $2,16 \pm 0,01$ )%, dan derajat asetilasi sebesar 92,24%.
3. Rendemen isolat kitin yang dihasilkan dari tepung kulit udang windu adalah sebesar ( $16,04 \pm 0,25$ )%.
4. Indeks kitinolitik bakteri *Aeromonas hydrophila* yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar  $2,59 \pm 0,26$ .
5. Produksi maksimum N-asetil Glukosamin dari kitin oleh *Aeromonas hydrophila* didapatkan pada kondisi fermentasi pada suhu 37°C dengan pH media 8,0 dan lama fermentasi 2 hari, yaitu sebesar ( $36955,00 \pm 333,17$ ) mg/L.

## Daftar Pustaka

- Association of Official Analytical Chemistry. 1992. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. AOAC Int. Maryland.
- Association of Official Analytical Chemistry. 1999. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. AOAC Int. Maryland.
- Bhargav, S., Panda, B. P., Ali, M. dan Javed, S. 2008. Solid-state fermentation: an overview. *Chemical Biochemical Engineering Q* 22: 49-70.
- Deng, M. D., Wassink, S., dan Grund, A. D. 2006. Engineering a new pathway for N-acetyl Glucosamine production: Coupling a catabolic enzyme, GlcN-6-phosphate deaminase, with a biosynthetic enzyme, GlcN-6-phosphate N-acetyltransferase. *Enzyme Microbial Technology*. 39: 828-834.
- Elias M., Wiczorek, G., Rosenne, S., dan Tawfik, D.S. 2014. The universality of enzymatic rate-temperature dependency. *Trends Biochem Sci*. 39(1):1-7.
- Haedar, N., Hasnah N., Fahrudin, dan Wilda A. 2017. Produksi dan Karakterisasi Enzim Kitinase dari Bakteri Kitinolitik Asal Kerang *Anadara granosa*. *Jurnal Alam dan Lingkungan*. 8: 19-28
- Ibrahim, D. 2015. Effect of agitation speed on the morphology of *Aspergillus niger* HFD5A-1 hyphae and its pectinase production in submerged fermentation. *World Journal of Biological Chemistry*. 6(3), 265.
- Kamel, Z., dan El-Moniem, N.H.A. 2013. Potential of Antagonistic Yeast Strains as Biocontrol Agents Against Root Rot Disease in Tomato. *International Journal of Advanced Research*. 1(9): 372-390.
- Kruger, N.J. 2009. *The Protein Protocols Handbook* 2nd ed. Humana Press, Inc. Totowa.

- Liu, L., Yanfeng, L., Hyun-Dong, S., Rachel, C., Jianghua, L., Guocheng, D., dan Jian, C. 2013. Microbial production of glucosamine and N-acetylglucosamine: advances and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 97(14): 149-158.
- Manurung, M. 2014. Potensi Kitin/Kitosan dari Kulit Udang sebagai Biokoagulan Penjernih Air. *J. Kimia*. 5(2): 182 – 188.
- Minda, A., Jon, E., Erda, S., Rahmi, M.L., dan Novalina, S. 2010. Pengaruh konsentrasi NaOH dan KOH terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang. *Eksakta*. 1(11): 1-8.
- Narayana, K.J.P., Prabhakar, P., Vijayalakshmi, M., Vekateswarlu, Y., dan Krishna, P.S.J. 2007. Biological activity of phenylpropionic acid from a terrestrial *Streptomyces*. *Polish J. Microbiol.* 56:191–197.
- No, H.K. dan Meyers, S.P. 2000. Preparation of chitin and chitosan. In: Muzzarelli, R.A.A., M.G. Peter. (Eds). *Chitin hand book*. European Chitin Society. Grottammare. pp. 475-489.
- Purwatiningsih, S., Wukirsari, T. Sjahriza, A., dan Wahyono, D. 2009. *Kitosan Sumber Biomaterial Masa Depan*. IPB Press. Bogor.
- Qin, Y., Lu, X., Sun, N., dan Rogers, R. D. (2010). Dissolution or extraction of crustacean shells using ionic liquids to obtain high molecular weight purified chitin and direct production of chitin films and fibers. *Green Chemistry*. 12(6), 968.
- Rahmawati, W., Dian, H. dan Husniati. 2012. *Produksi Kitosan Dari Bahan Baku Cangkang Udang Menggunakan Metode Kimia dan Enzimatis dengan Enzim Kitin Deasetilase*. Skripsi. Universitas Lampung.
- Saima, M.K. and Roohi, I.Z.A. 2013. Isolation of novel chitinolytic bacteria and production optimization of extracellular chitinase. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 11(1): 39-46.
- Sanusi, M. 2004. Transformasi Kitin dari Hasil Isolasi Limbah Industri Udang Beku Menjadi Kitosan. *Mar. Chim Acta*. 5(2): 28-32.
- Saskiawan, I. dan Handayani, R. 2011. Production of N-Acetyl-D-glucosamine by submerged fermentation from chitin. *Berita Biologi* 10, no.6.
- Setia, I. N. 2015. Chinolytic Assay and Identification of Bacteria Isolated from Shrimp Waste Based on 16S rDNA Sequences. *Advances in Microbiology*. 5: 541-548.
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V., Jeon, Y.J. 1999. Food Applications of Chitin and Chitosans. *Trends in Food Sci and Technol*. 10: 37-51.
- Shantosh, S. dan Mathew, P.T. 2007. Preparation of glucosamine and carboxymethylchitin from shrimp shell. *Journal of Applied Polymer Science*. 107: 280-285.
- Suryadi, Y., Priyatno, T.P., Samudra, I.M., Susilowati, D.N., Lawati, N., dan Kustaman, E. 2013. Pemurnian parsial dan karakterisasi kitinase asal jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* isolat BB200109. *Jurnal AgroBiogen*. 9(2 : 77-84.
- Tangapo, A. M. 2005. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Daun Sendok (*Plantago major*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Universitas Sam Ratulangi.
- Widanarni, E. D.T., Soelityowati, dan Suwanto A. 2008. Pemberian Bakteri Probiotik SKT-b Pada Larva Udang Windu (*Penaeus monodon*) Melalui Pengkayaan *Artemia*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 7:129-137.
- Wu, T. dan Zivanovic, S. 2008. Determination of the degree of acetylation (DA) of chitin and chitosan by an improved first derivative UV method. *Carbohydr Polym*. 73: 248-253.
- Xie, Y., Lan-szu, C., Cutler, A., Weimer, B. 2004. DNA Macroarray Profiling of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IL1403 Gene Expression During Environmental Stresses. *Appl. Environ Microbiol*. 70: 6738-6747.

