

## Pembuatan N-Asetilglukosamin dari Limbah Udang (*Penaeus monodon*) dengan Bantuan Kapang *Beauveria bassiana*

N-Acetylglucosamine Production from Shrimp Shell Waste  
(*Penaeus monodon*) using *Beauveria bassiana*

Ratna Handayani\* dan Fabiola

Teknologi Pangan Universitas Pelita Harapan Karawaci  
Jl. M. H. Thamrin Boulevard 00 Lippo Karawaci, Tangerang  
\*e-mail: ratna.handayani@uph.edu

### ABSTRAK

Udang windu (*Penaeus monodon*) merupakan jenis udang yang paling banyak diekspor oleh Indonesia, sehingga limbah yang berupa kulit, kepala, dan ekor mengalami peningkatan. Di dalam kulit udang, terkandung 15-20% kitin. Kitin dapat dihidrolisis menggunakan enzim kitinase untuk menghasilkan N-asetilglukosamin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui suhu optimum, pH optimum dan waktu fermentasi optimum dalam pembuatan N-asetilglukosamin dari limbah kulit udang dengan bantuan kapang *Beauveria bassiana*. Kitin dibuat dengan terlebih dahulu melakukan demineralisasi dan deproteinasi terhadap serbuk kulit udang. Produksi N-asetilglukosamin menggunakan fermentasi substrat padat, dengan kitin sebagai substrat padat. Dari penelitian ini, kondisi optimum yang dipilih dalam produksi N-asetilglukosamin dengan bantuan kapang *Beauveria bassiana* ialah pada suhu 25°C, pH 7, dan waktu fermentasi pada hari ke-7.

**Kata Kunci:** *Beauveria bassiana*, Kitin, N-asetilglukosamin

### Pendahuluan

Indonesia adalah negara kepulauan terbesar di dunia dengan jumlah pulau sebanyak 13.466, luas daratan sebesar 1922570 km<sup>2</sup> dan luas perairan sebesar 3257483 km<sup>2</sup> (BIG, 2017). Produk perikanan yang menjadi salah satu komoditas unggulan dalam peningkatan ekonomi negara Indonesia ialah udang.

Meningkatnya kegiatan ekspor udang di Indonesia setiap tahunnya, meningkatkan pula limbah padat udang berupa kepala, kulit, kaki dan ekor udang. Limbah padat udang ini mudah sekali mengalami pembusukan sehingga dapat menimbulkan pencemaran lingkungan. Indonesia telah memanfaatkan limbah padat udang sebagai bahan campuran pakan ternak, pupuk, bahan campuran dalam pembuatan terasi, petis dan kerupuk udang yang memiliki nilai ekonomis rendah.

Kitin merupakan homopolimer dari  $\beta$ -1,4 N-asetil-D-glukosamina (GlcNAc) dan polimer terbanyak kedua di alam setelah selulosa. Kitin dapat didegradasi menjadi monomernya yaitu N-asetilglukosamin (GlcNAc), yang dapat dimanfaatkan sebagai antipenuaan, pengawet, dan antibiotik (Gohel, *et al.*, 2006). Proses pembuatan kitin dari kulit udang terdiri dari dua proses utama yaitu demineralisasi dan deproteinasi. Proses demineralisasi bertujuan untuk mengurangi kadar mineral (CaCO<sub>3</sub>) padat limbah udang, sedangkan deproteinasi bertujuan untuk melepaskan kandungan protein pada kitin kasar hasil demineralisasi (Arif, *et al.*, 2013).

Metode baru yang telah ditemukan dalam memproduksi N-asetilglukosamin yakni secara enzimatik menggunakan enzim kitinase yang dihasilkan secara mikrobiologi oleh mikroorganisme penghasil enzim kitinolitik (Wulandari, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum, meliputi pH, suhu

dan waktu fermentasi, dalam pembuatan N-asetilglukosamin dengan bantuan kapang *Beauveria bassiana* dengan metode fermentasi substrat padat, berupa kitin yang dibuat dari limbah padat udang.

## **Metode Penelitian**

### *Bahan dan Alat*

Bahan utama yang digunakan pada penelitian yang dilakukan adalah limbah padat udang yang diperoleh dari PT. Lola Mina (Muara Baru), kultur kapang *Beauveria bassiana* yang diperoleh dari PT. Embrio Biotekindo (Bogor), standar N-asetilglukosamin dari *Sigma-Aldrich Pte Ltd*, larutan NaOH, larutan HCl, media PDA (*Potato Dextrose Agar*), media PDB (*Potato Dextrose Broth*), larutan ninhidrin 0.8 %, indikator BCP (*Brom Cresol Purple*), *coomasie brilliant blue*, etanol, BSA (*Bovine Serum Albumin*), *methylene blue*, dan larutan buffer (pH 5, pH 6, pH 7, dan pH 8).

Alat yang digunakan pada penelitian yang dilakukan adalah *waterbath*, spektrofotometer UV-VIS, *dry blender*, *cabinet drier*, corong *Buchner*, pompa vakum, kertas indikator pH (0-14), *laminar air-flow*, *heater*, inkubator, tanur, autoklaf, *rotary shaker*, mikroskop, dan *Haemacytometer Neubauer Improved*.

### *Pembuatan Kitin*

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mempersiapkan kitin sebagai bahan dasar dalam penelitian ini. Metode pembuatan kitin dari limbah padat udang dilakukan berdasarkan penelitian dari Arif, *et al.* (2013) dengan modifikasi. Limbah padat udang pertama dibersihkan terlebih dahulu kemudian dikeringkan. Selanjutnya limbah padat udang kering diperkecil ukurannya sehingga didapatkan serbuk kulit udang. Serbuk kulit udang kemudian didemineralisasi dan dideproteinasi sehingga menghasilkan kitin. Serbuk kulit udang dan serbuk kitin kemudian dilakukan analisis rendemen (Komariah, 2013), kadar air (AOAC, 2005), kadar abu (AOAC, 2005), kadar protein (Nielsen, 2009), dan analisis derajat deasetilasi untuk serbuk kitin.

### *Penentuan Suhu Optimum Fermentasi*

Penelitian tahap satu dilakukan untuk mengetahui suhu optimum selama fermentasi dalam memproduksi N-asetilglukosamin dengan bantuan kapang *Beauveria bassiana*. Metode fermentasi yang digunakan ialah fermentasi substrat padat, berupa serbuk kitin. Variasi suhu yang digunakan dalam penelitian tahap satu ialah suhu 18°C, 25°C, dan 30°C. Penentuan

suhu optimum dalam pembuatan N-asetilglukosamin dapat ditentukan dengan perhitungan antara absorbansi yang terdeteksi pada spektrofotometer UV-VIS dari sampel dengan kurva standarnya.

### *Penentuan pH dan Waktu Fermentasi*

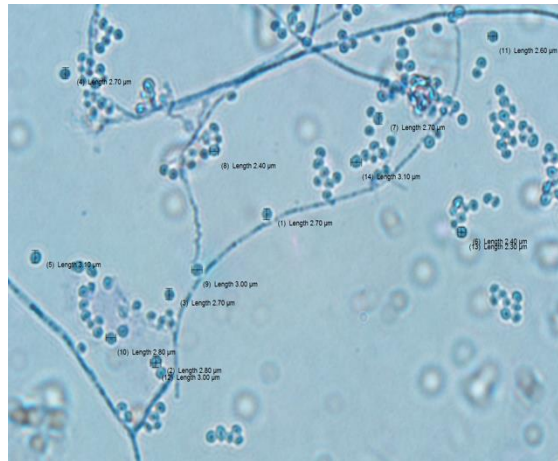
Variasi waktu fermentasi yang digunakan dalam penelitian tahap satu ialah 5 hari, 7 hari dan 9 hari. Sementara variasi pH yang digunakan ialah pH 5, 6, 7,

dan 8. Penentuan pH dan waktu fermentasi optimum dalam pembuatan N-asetilglukosamin dapat ditentukan dengan perhitungan antara absorbansi yang terdeteksi pada spektrofotometer UV-VIS dari sampel dengan kurva standarnya.

## Hasil dan Pembahasan

### *Identifikasi Morfologi Beauveria bassiana*

Hasil pengamatan morfologi *B.bassiana* isolat Embrio disajikan pada Gambar 1.



Keterangan: A. Hifa, B. Konidiofor, C. Konidia  
Gambar 1. Morfologi *Beauveria bassiana*

Secara makroskopik, biakan *B.bassiana* yang ditumbuhkan pada media PDA mempunyai koloni berwarna putih. Konidia *B.bassiana* strain Embrio berbentuk bulat berukuran 2.4-3.1 µm x 2.3-3.1 µm.

### *Penentuan Aktivitas Kitinolitik Beauveria bassiana*

Penentuan aktivitas kitinolitik kapang *B.bassiana* menggunakan uji zona bening dengan menggunakan metode sumur dan indikator pewarna BCP (Bromocresol Purple). Zona bening ditunjukkan dengan adanya perubahan warna di sekitar koloni pada medium agar kitin dari warna kuning menjadi ungu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *B.bassiana* strain Embrio memiliki indeks kitinolitik sebesar 0.834, sedangkan *B.bassiana* isolat BB200109 memiliki indeks kitinolitik sebesar 1.035 yang diteliti oleh Suryadi, *et al.* (2013). Pradani dan Widawati (2015) juga meneliti isolat *B.bassiana* strain Balitro, dengan indeks kitinolitik sebesar 1.67. Dari ketiga sumber isolat *B.bassiana*, ketiganya memiliki indeks kitinolitik yang berbeda-beda

### *Perhitungan Jumlah Spora Beauveria bassiana*

Dalam penelitian ini didapatkan hasil jumlah kerapatan spora *B.bassiana* setelah dihitung dengan haemocytometer ialah sebesar  $6.06 \times 10^7$  cfu/ml. Jumlah spora *B.bassiana* sudah memenuhi 107 cfu/ml, sehingga kultur starter *B.bassiana* sudah siap digunakan sebagai inokulum dalam memproduksi N-asetilglukosamin menggunakan substrat kitin.

### Analisis Karakteristik Serbuk Kulit Udang dan Kitin

Analisis karakteristik serbuk kulit udang dan kitin meliputi uji kadar air, kadar abu dan kadar protein. Hasil analisis karakteristik serbuk kulit udang dan kitin dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis karakteristik serbuk kulit udang dan kitin

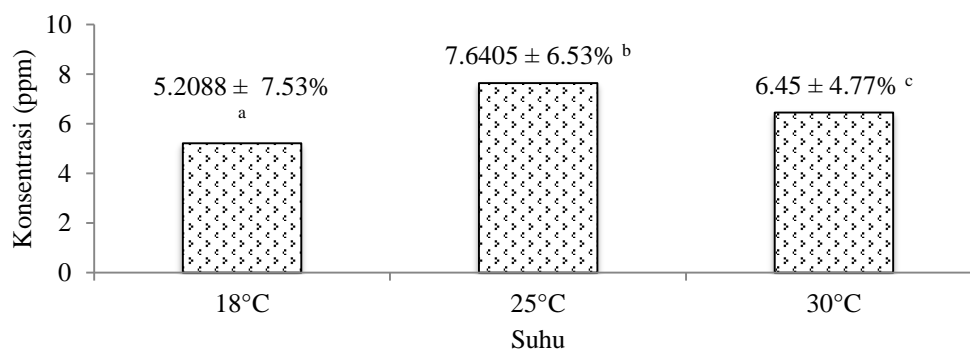
Keterangan	Serbuk Kulit Udang (%)	Kitin (%)
Kadar Air	8.55 ± 0.35	5.29 ± 0.11
Kadar Protein	30.67 ± 0.12	2.17 ± 0.02
Kadar Abu	40.76 ± 0.54	0.67 ± 0.18

### Derajat Deasetilasi

Hasil penelitian menunjukkan derajat deasetilasi kitin sebesar 39.62%, yang sudah sesuai dengan standar Protan *Laboratories* dalam Arif, *et al.* (2013), yang menyatakan bahwa derajat deasetilasi kitin berada pada rentang 15-70%. Puspawati dan Simpen (2010), juga menyatakan bahwa kitin merupakan suatu polimer N-asetilglukosamin yang sedikit terdeasetilasi yaitu lebih besar dari 25% dan lebih kecil dari 70%.

### Penentuan Suhu Optimum Fermentasi

Berdasarkan uji statistik, perlakuan suhu memiliki perbedaan nyata ( $p < 0.05$ ) terhadap jumlah N-asetilglukosamin yang dihasilkan. Rata-rata tingkat konsentrasi N-asetilglukosamin yang didapat, berkisar antara 4.9005 ppm sampai 8.2431 ppm.



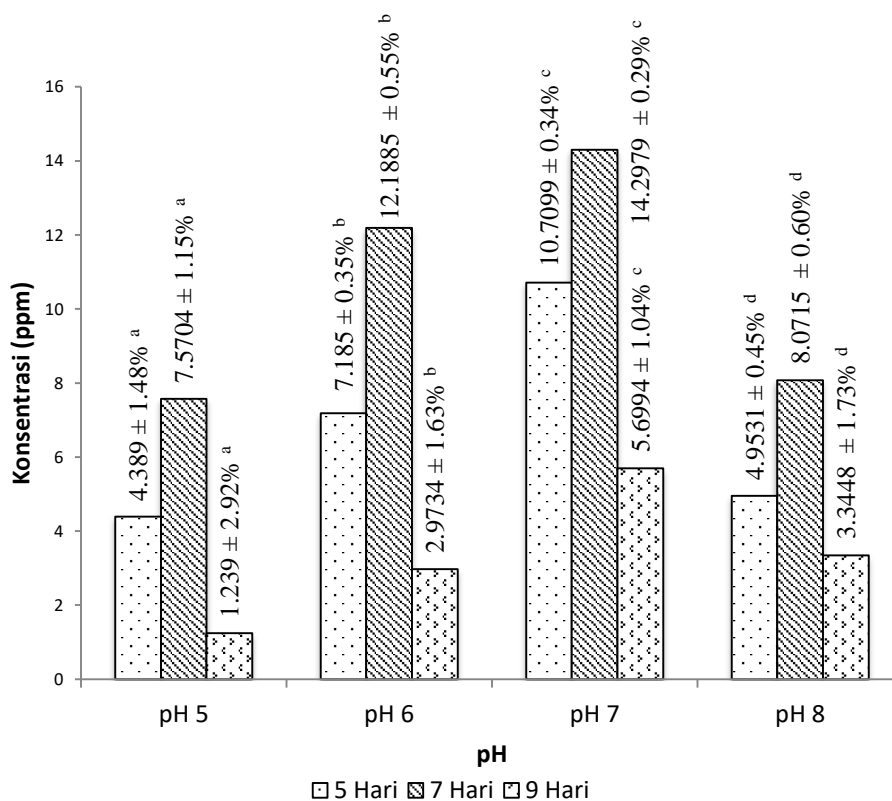
Gambar 2. Pengaruh suhu terhadap produksi N-asetilglukosa

### Penentuan pH dan Waktu Fermentasi

Berdasarkan uji statistik, perlakuan pH memiliki perbedaan nyata ( $p < 0.05$ ) terhadap jumlah N-asetilglukosamin. Perlakuan waktu fermentasi juga memiliki perbedaan nyata ( $p < 0.05$ ) terhadap jumlah N-asetilglukosamin yang dihasilkan. Interaksi antara kedua perlakuan, pH dan waktu fermentasi juga berbeda nyata ( $p < 0.05$ ) terhadap jumlah N-asetilglukosamin yang dihasilkan.

Berdasarkan Gambar 3, dapat dilihat bahwa optimum waktu fermentasi berada pada hari ke-7 dengan hasil yang sangat tinggi pada seluruh tingkat perlakuan pH. Waktu fermentasi *Beauveria bassiana* dalam menghasilkan enzim

kitinase mulai meningkat pada hari ke-3 waktu fermentasi namun pada hari ke-10 mengalami fase stasionernya.



Gambar 3. Grafik pengaruh pH dan waktu fermentasi terhadap produksi N-asetilglukosamin

## Kesimpulan

Pembuatan N-asetilglukosamin dengan bantuan kapang *B.bassiana* dilakukan dengan fermentasi substrat padat, berupa kitin. Kondisi optimum pada penelitian ini dalam memproduksi N-asetilglukosamin menggunakan bantuan kapang *B.bassiana* pada suhu inkubasi 25°C, pH 7, dan waktu inkubasi selama 7 hari.

## Daftar Pustaka

- Arif, A.R., Ischaidar, Natsir, Hasnah., Dali, Seniwati. 2013. Isolasi Kitin dari Limbah Udang putih (*Penaeus merguensis*) Secara Enzimatis. Seminar Nasional Kimia: Peran Sains dan Teknologi Dalam mendukung Ketahanan Pangan dan Energi Nasional. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 2005. "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist". Virginia USA: Association of Official Analytical Chemist Inc, Washington.
- Badan Informasi Geospasial (BIG). 2017. BIG Serahkan Peta NKRI Kepada Kemenkokesra. Homepage online. Available from: <http://www.bakosurtanal.go.id/berita-surta/show/big-serahkan-peta-nkri-kepada-kemenkokesra>. Internet accessed 17 Juni 2017.

- Gohel, V., Singh, A., Vimal, M., Ashwini, P., dan Chhatpar, HS. 2006. "Bioprospecting and Antifungal Potential of Chitinolytic Microorganism". African Journal of Biotechnology 5(2), 54-72.
- Komariah. 2013. Karakterisasi Kitin dan Kitosan yang Terkandung dalam Eksoskeleton Kutu Beras (*Sitophilus oryzae*). Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS. Universitas Trisakti, Jakarta.
- Nielsen, S.S. 2009. "Food Analysis" 4<sup>th</sup> ed. S.Suzane Nielsen, Springer, USA.
- Pradani, F. Y., dan Widawati, M. 2015. Mortalitas *Aedes albopictus* akibat infeksi horizontal *Beauveria bassiana* dan aktivitas enzim Kitinase *B.bassiana*. Aspirator, 7(2), 2015, pp. 66-73
- Puspawati, N.M., dan Simpen, I.N. 2010. Optimasi Deasetilasi Khitin dari Kulit Udang dan Cangkang Kepiting Limbah Restoran Seafood menjadi Khitosan melalui Variasi Konsentrasi NaOH. Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. Jurnal Kimia 4 (1), Januari 2010: 79-90.
- Suryadi, Y., Priyatno, T.P., Samudra, I.M., Susilowati, D.N., Lawati, N., dan Kustaman, E. 2013. Permunian Parsial dan Karakterisasi Kitinase Asal Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana* Isolat BB200109. Jurnal AgroBiogen 9(2):77-84.
- Wulandari, F. 2009. Optimasi Produksi N-Asetilglukosamina dari Kitin Melalui Fermentasi oleh *Aspergillus rugulosus* 505. Institut Pertanian Bogor, Jawa Barat.