

Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi Kitosan terhadap Mutu Agar Bakto *Gracilaria* sp.

(The Effect of Various Concentration Chitosan Adding on the Quality of Bacto Agar *Gracilaria* sp.)

ASADATUN ABDULLAH¹⁾, DAN PIPIH SUPTIJAH¹⁾

¹⁾ Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Kampus IPB Darmaga Bogor

ABSTRACT

*Bacto agar was a purified agar supports the general microbial growth. Chitosan is a long-chain glucose amine that able to absorb metal ions and impurities. Chitosan may use to make bacto agar as an absorbent. The objective of the research was to know the effect of bacto agar addition to *Gracilaria* sp. bacto agar. Raw material used in this research was marine algae *Gracilaria* sp. Treatment combination used was 0.5, 1.0 and 1.5 % of chitosan added in dry weight. In general the quality of bacto agar in this research is in a range of commercial bacto agar. The addition of various concentration of chitosan enhances the quality of bacto agar from *Gracilaria* sp.*

Keywords: bacto agar, chitosan, *Gracilaria* sp.

PENDAHULUAN

Makroalga laut atau yang sering disebut sebagai rumput laut merupakan salah satu komoditas hasil kekayaan laut Indonesia yang banyak dijumpai di seluruh perairan wilayah Nusantara. Makroalga laut mengandung karbohidrat dalam jumlah yang besar, protein sedikit, dan berbagai vitamin. Di Indonesia makroalga laut digunakan sebagai bahan tambahan makanan, industri obat-obatan dan kosmetika. Selain itu makroalga laut juga digunakan sebagai bahan baku pembuatan agar.

Agar merupakan bahan penting dalam industri penghasil koloid. Salah satu manfaat agar adalah sebagai media pertumbuhan mikroba. Penggunaan agar pada media mikrobiologi diusulkan pertama kali oleh R. Koch pada tahun 1882, dan tetap digunakan secara luas sampai kini (Phillips dan Williams, 2000). Agar bakto (*bacto agar*) adalah agar yang telah dimurnikan dengan mereduksi kandungan pigmen-pigmen,

kandungan garam, dan kandungan bahan-bahan asing (*extraneous matter*) terutama untuk mendukung pertumbuhan mikroba.

Tingkat kebutuhan agar bakto sangat besar tetapi selama ini hanya dapat dipenuhi oleh produk impor. Pengembangan produk agar bakto sangat penting dalam rangka pengembangan substitusi impor terutama di bidang mikrobiologi dan bioteknologi (Suptijah, 2002).

Kitosan merupakan salah satu contoh produk hasil pemanfaatan limbah udang yaitu hasil deasetilasi dari kitin. Penambahan kitosan sebagai absorben pada proses pemurnian agar bakto diharapkan dapat menghasilkan agar dengan kemurnian yang tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai media pertumbuhan mikroba.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah : (1) memodifikasi berbagai konsentrasi kitosan sebagai absorben dalam pembuatan agar bakto *Gracilaria* sp. sebagai media pertumbuhan mikroba, dan (2) membandingkan karakteristik hasil yang optimum sesuai dengan agar bakto komersial.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua macam, yaitu bahan utama dan bahan kimia. Bahan utama yang digunakan adalah alga laut *Gracilaria* sp. dan kulit udang yang telah dikeringkan. Sedangkan bahan-bahan kimia yang digunakan adalah larutan CH_3COOH 0,5 %, NaOH 50 %, HCl 1 N, akuades, asam borat 4 % dalam larutan indikator merah metil, H_2SO_4 pekat, HCl 0.1 N, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_4$ (kalium kromat), AgNO_3 (perak nitrat) 0,1N, kalium bromida (KBr), barium klorida (BaCl_2), HCl 0,2 N, H_2O_2 10 %, alkali- NaOH (35-40) %.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat pengolahan dan alat laboratorium. Alat pengolahan adalah panci, pengaduk, pan pencetak (loyang), alat pembeku (*freezer*), botol film bekas, dan kompor listrik. Sedangkan untuk alat laboratorium yang digunakan adalah tanur (550-600) °C, cawan pengabuan, termometer, tabung erlenmeyer, gelas piala, batang pengaduk, gelas ukur, labu ukur, kertas saring bebas abu (*whatman*) no 42, oven, neraca analitik, alat penangas air, kondensor (*ball condensor*), alat untuk merefluks, alat pengukur kekuatan gel (*curd meter*), pipet volumetrik, bulb, alat pengukur viskositas, alat pengukur pH (*pH meter*), buret, dan spektrofotometer yang digunakan untuk mengukur derajat deasetilasi FTIR (*Fourier Transform Infra Red Spectrophotometry*).

Metode Penelitian

Penelitian dibagi menjadi dua tahapan, yaitu pertama adalah tahapan proses isolasi kitosan dan penelitian utama yang dilakukan yaitu pembuatan agar bakto dengan menambahkan berbagai konsentrasi kitosan (0,5; 1; 1,5 %) sebagai absorben terhadap agar yang dihasilkan dari *Gracilaria* sp.

Pembuatan Kitosan

Tahapan penelitian yang pertama adalah proses isolasi kitin dan deasetilasi kitin menjadi kitosan dengan menggunakan metode yang telah dilakukan oleh Suptijah *et al.* (1992). Tahapan pertama dari pembuatan kitosan yaitu proses demineralisasi limbah udang. Sebelum proses kimiawi dilakukan, kulit udang dicuci dan dibersihkan terlebih dahulu kemudian dikeringkan dan dihancurkan dengan *blender*. Demineralisasi dilakukan dengan melarutkan limbah udang dalam larutan HCl 1 N dengan perbandingan 1:7 pada suhu 90 °C selama 1 jam.

Tahap selanjutnya adalah proses deproteinasi yang dilakukan dengan menggunakan larutan NaOH 3,5 N dengan perbandingan 1:10 pada suhu 90 °C selama 1 jam. Dari proses deproteinasi ini akan dihasilkan kitin.

Kitosan dihasilkan melalui proses deasetilasi kitin dengan menggunakan larutan NaOH 50 % dengan perbandingan 1:10 pada suhu 140°C selama 1 jam (Suptijah *et al.*, 1992). Selanjutnya kitosan dari proses deasetilasi disaring, dicuci, dan dikeringkan.

Pembuatan Agar Bakto

Proses pembuatan agar bakto bertujuan untuk membuat agar bakto dan membandingkan pengaruh penambahan berbagai konsentrasi kitosan sebagai absorben. Kitosan yang ditambahkan memiliki tiga kombinasi perlakuan yaitu pada konsentrasi 0,5; 1; dan 1,5 %.

Makroalga laut (*Gracilaria* sp.) kering dibersihkan dan disortir dari kotoran-kotoran yang menempel, seperti pecahan-pecahan karang, pasir laut, spesies lainnya dan teritip, dan dicuci berulang-ulang sampai benar-benar bersih. Selanjutnya *Gracilaria* direndam dan dipucatkan dengan menggunakan CaO 0,5 %, selama kurang lebih 5 menit. Penetralkan dilakukan dengan mencuci di air mengalir sampai pH netral (pH = 7). Praperlakuan asam dilakukan dengan merendam *Gracilaria* sp. dengan

menggunakan asam asetat 1 % selama 1 jam. Selanjutnya *Gracilaria* dicuci bersih sampai pH netral dan dihancurkan dengan blender sampai cukup homogen untuk memudahkan proses pengekstraksian makroalga laut (*Gracilaria* sp).

Proses ekstraksi dilakukan dengan suhu 90-95 °C selama 45 menit dengan perbandingan antara air panas mendidih dan berat kering dari *Gracilaria* adalah 30:1. Setelah proses ekstraksi selesai dapat dilakukan proses pemurnian agar dengan menambahkan kitosan dengan konsentrasi 0,5; 1; dan 1,5 %, pada suhu pemasakan 90-92 °C dengan dua kali pengamatan atau dua kali ulangan perlakuan.

Selanjutnya dilakukan pengujian terhadap mutu dari agar yaitu uji kadar air, kadar abu, kekuatan gel, kadar garam (% NaCl), kadar sulfat, nilai pH, dan rendemen dari agar-agar murni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian tahap pertama, hasil uji mutu kitosan penelitian menunjukkan nilai derajat deasetilasi 82,60 %. Nilai derajat deasetilasi tersebut telah sesuai dengan standar mutu *protan laboratories* yaitu ≥ 70 % (Suptijah *et al.*, 1992). Hal ini berarti kitosan hasil penelitian tahap pertama dapat digunakan untuk tahap penelitian selanjutnya yaitu pembuatan agar bakto.

Karakteristik mutu agar bakto yang dihasilkan dapat dilihat dari kadar air, kadar abu, kadar garam, nilai pH, kadar sulfat, dan kekuatan gel. Perbandingan nilai rata-rata hasil uji karakteristik mutu fisik dan kimia terhadap standar agar bakto komersial dapat dilihat pada Tabel 1.

Kadar air mempengaruhi daya tahan suatu bahan dan menunjukkan kestabilan serta indeks mutu bahan pangan, bahan pangan dengan kadar air tinggi akan lebih mudah rusak dibandingkan dengan yang memiliki kadar air rendah (Winarno, 1991).

Berdasarkan Tabel 1 secara umum nilai kadar air agar bakto dari *Gracilaria* sp. menunjukkan nilai yang lebih rendah daripada nilai standar komersial. Agar dengan tingkat kemurnian yang tinggi akan memiliki nilai kadar air yang semakin rendah karena pada rongga struktur molekul agar terdapat komponen-komponen pengotor (*impurities*) yang dapat mengikat air, pada agar murni *impurities* telah direduksi sehingga kadar air pada agar murni rendah (Phillips dan Williams, 2000).

Tabel 1. Hasil uji mutu fisik, kimia, dan mikrobiologi agar bakto penelitian

Karakteristik mutu	Jenis Agar Bakto	
	<i>Gracilaria</i> sp.	Komersial ¹⁾
1. Fisik		
a. Kadar air (% bk)	18,70-23,01	20 (maks)
b. Nilai pH	5,62-5,74	6,27
c. Kekuatan gel (g/cm ²)	160,71-205,36	343,75
2. Kimia		
a. Kadar abu (% bk)	3,81-5,25	4,65 (maks)
b. Kadar garam (%)	0,0069-0,0200	0,005 (maks)
c. Kadar sulfat (%)	0,97-1,82	1,03

¹⁾ Sumber: Gelrite® (2003).

Nilai pH medium pertumbuhan mikroorganisme sangat mempengaruhi jasad renik yang dapat tumbuh. Jasad renik pada umumnya dapat tumbuh pada kisaran pH 3-6 unit dan mendekati netral. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata pH (derajat keasaman) agar bakto yang dihasilkan dari *Gracilaria* sp. berkisar antara 5,62-5,74. Rata-rata nilai pH dari agar bakto yang dihasilkan berada di bawah nilai standar Komersial, namun hal tersebut tidak berpengaruh pada penggunaan agar bakto sebagai media kultur. Karena pada saat pembuatan media, nilai pH dapat diatur dengan penambahan larutan basa.

Nilai kekuatan gel agar bakto *Gracilaria* sp menunjukkan nilai yang jauh lebih rendah daripada agar bakto komersial. Sifat gel agar sangat dipengaruhi oleh suhu, konsentrasi, pH, kandungan gula dan ester sulfat (Selby dan Wyne, 1973). Penurunan pH akan menyebabkan kekuatan gel semakin berkurang. Nilai pH pada media agar juga dapat mempengaruhi kualitas kekuatan gel dari media agar. Agar bakto dari *Gracilaria* sp memiliki kekuatan gel yang rendah dapat disebabkan karena nilai pH agar bakto yang sedikit asam (rendah). Agar bakto dari *Gracilaria* sp. dengan kekuatan gel yang rendah dapat ditingkatkan kekuatan gelnya dengan menambah konsentrasi agar bakto dalam pembuatan media agar untuk kultur mikroba.

Abu atau mineral merupakan komponen yang tidak mudah menguap pada waktu pembakaran dan pemijaran senyawa organik atau bahan alam. Sedangkan kadar abu dalam bahan pangan ditetapkan dengan

menimbang sisa mineral sebagai hasil pembakaran bahan organik (Fardiaz, 1986). Nilai rata-rata kadar abu dari agar bakto hasil penelitian masih ada yang lebih tinggi daripada kadar abu maksimum agar bakto komersial, namun secara umum nilai kadar abu agar bakto penelitian berada pada selang nilai standar. Kadar abu dari agar bakto tidak terlalu banyak mempengaruhi pertumbuhan mikroba.

Kadar garam dari produk rumput laut atau agar-agar dipengaruhi oleh karakteristik fisik dan kimiawi makroalga laut itu sendiri juga termasuk sumber makroalga laut yang digunakan untuk pembuatan agar bakto. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar garam agar bakto yang dihasilkan dari *Gracilaria* sp. berkisar antara 0,0069-0,0200 %. Namun nilai kadar garam dari agar bakto hasil penelitian menunjukkan nilai yang cenderung lebih tinggi sedikit daripada nilai standar. Hal ini berarti hanya perlakuan dengan penambahan konsentrasi kitosan 1 % dan 1,5 % saja yang dapat digunakan untuk pembuatan agar bakto. Kadar garam (NaCl) sangat mempengaruhi mutu agar bakto dalam pertumbuhan mikroba. Kadar garam (NaCl) yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan dari mikroba (Gelrite®, 2003).

Kadar sulfat dalam agar dapat dipengaruhi oleh perbedaan jenis dan asal rumput laut, metode ekstraksi, serta umur panen. Peningkatan umur panen dapat memberi respon terhadap penurunan kandungan sulfat (Suryaningrum, 1988). Sulfat atau gugus sulfat pada alga penghasil agar terakumulasi pada dinding sel dari alga. Sulfat terikat bersama-sama dengan agar (agarosa dan agaropektin) dan gugus sulfat disekresikan oleh badan golgi dari sel alga penghasil agar (Phillips dan William, 2000). Analisis kadar sulfat menunjukkan bahwa agar bakto hasil penelitian masih mempunyai nilai kadar sulfat yang melebihi nilai standar komersial. Hal tersebut memiliki implikasi pada nilai kekuatan gel agar bakto yang rendah.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Secara umum kualitas agar bakto berdasarkan mutu fisik dan kimia pada penelitian ini berada pada kisaran nilai standar mutu untuk agar bakto komersial. Penambahan berbagai konsentrasi kitosan ternyata mampu meningkatkan mutu agar bakto. Pemberian konsentrasi kitosan sebanyak 1,5 % memberikan hasil yang paling optimum untuk agar bakto dari *Gracilaria* sp. Penambahan kitosan dengan konsentrasi 1,5 %

memiliki nilai kadar garam 0,0076 %, kadar abu 3,81 %, kadar air 19,62 %, kekuatan gel 205,36 gram/cm², dan nilai pH sebesar 5,66. Dengan demikian metode pembuatan agar bakto pada penelitian ini dapat mengurangi nilai kadar sulfat, kadar garam dan kadar abu serta meningkatkan kekuatan gel agar bakto *Gracilaria* sp. daripada yang tanpa penambahan kitosan.

Saran

Penelitian ini perlu dilanjutkan dengan melakukan kajian terhadap pembuatan agar bakto dari jenis alga laut yang berbeda dan menggunakan metode ekstraksi agar dari alga laut yang lainnya. Selanjutnya juga perlu dilakukan analisis kemampuan agar bakto dalam menumbuhkan mikroorganisme pada berbagai agar media dalam bidang mikrobiologi, serta mengkaji aspek ekonomis dari proses yang dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Fardiaz D, Apriyantono A, Budiyanto S, Puspitasari NL. 1986. *Penuntun Praktikum Analisa Pangan*. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 212 hal.
- Phillips GO, Williams PA. 2000. *Handbook of Hidrocolloids*. CRC Press. Wood Head Publishing Limited. Cambridge. England.
- Gelrite®. 2003. Gellan-Gum. Kelco Division. USA.
- Selby HH, Wyne WH. 1973. Agar. Di dalam *Industrial Gums*. Whistler RL, Be Miller JM (eds.). Academic Press. New York. 807p.
- Suptijah P, Salamah E, Sumaryanto H, Purwaningsih S, Santoso J. 1992. Pengaruh berbagai metode isolasi kitin kulit udang terhadap kadar dan mutunya. Laporan Akhir Penelitian. Fakultas Perikanan IPB.
- Suptijah P. 2002. Rumput laut prospek dan tantangannya. Makalah Pengantar Falsafah Sains. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Suryaningrum TD. 1988. Kajian sifat-sifat mutu komoditi rumput laut budidaya jenis *Euchema cottonii* dan *Euchema spinosum* [tesis]. Fakultas Pasca Sarjana, IPB, Bogor.
- Winarno FG. 1991. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.