KARAKTERISTIK FISIK DAN KIMIA AGAR BAKTO DENGAN PENAMBAHAN KITOSAN

Physical And Chemical Characteristics of Agar Bacto with Addition Of Chitosan

Asadatun Abdullah*, **Pipih Suptijah, Ruddy Suwandi**

Departemen Teknologi Hasil PerairanFakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Institut Pertanian Bogor, Jl. Lingkar Akademik, Kampus IPB, Darmaga, Bogor 16680

Diterima April 2006/ Disetujui Februari 2008

Abstrak

Agar adalah bentuk koloid dari suatu polisakarida kompleks yang diekstrak dari beberapa kelompok alga merah (*Rhodophyceae*). Salah satu pemanfaatan dari agar adalah sebagai media untuk pertumbuhan mikroba. Agar bakto adalah salah satu medium kultur yang digunakan untuk membantu menggelifikasi berbagai jenis larutan medium atau larutan kaldu (*broth*). Penambahan kitosan sebagai absorben pada proses pemurnian agar diharapkan dapat menghasilkan agar yang murni (*refine agar*) yang dapat digunakan untuk agar bakto sebagai media pertumbuhan mikroba. Tujuan dari penelitian ini adalah memodifikasi berbagai konsentrasi kitosan dan waktu proses absorbsi dalam pembuatan agar bakto sebagai media pertumbuhan mikroba. Penelitian dibagi menjadi dua tahap, yang pertama adalah tahapan proses isolasi kitin dan deasetilasi kitin menjadi 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. dan agar batang. Perlakuan kedua yang diberikan yaitu waktu proses absorbsi setelah dilakukan penambahan kitosan. Proses absorbsi yang dipilih 0 menit, 15 menit, 30 menit, dan 45 menit. Kombinasi perlakuan paling optimum untuk agar bakto berbahan baku *Gracilaria s*p. adalah pada konsentrasi kitosan 1 % dengan lama pemanasan lanjutan ekstraksi selama 45 menit. Kombinasi perlakuan paling optimum untuk agar bakto berbahan baku agar batang adalah pada konsentrasi kitosan 0,5 % dengan tanpa pemanasan lanjutan.

Kata kunci: agar bakto, *Gracilaria* sp. , kitosan

PENDAHULUAN

Makroalga laut atau yang sering disebut sebagai rumput laut merupakan salah satu komoditi 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 makrolaga laut digunakan sebagai bahan tambahan makanan, industri obat-obatan, kosmetika dan sebagai bahan baku pembuatan agar.

Agar adalah bentuk koloid dari suatu polisakarida kompleks yang diekstrak dari beberapa kelompok alga merah (*Rhodophyceae*). Polisakarida kompleks tersebut berupa suatu asam sulfonik (ester dari galaktosa linier) yang berbentuk gel (Afrianto dan Liviawati 1993).

* Korespondensi: telp/fax (022) 91574358, E-mail: sasa@yahoo.com

Salah satu pemanfaatan dari agar adalah sebagai media untuk pertumbuhan mikroba. Penggunaan agar pada media mikrob yang semula diusulkan oleh laboratorium Koch pada awal 1880-an tetap digunakan secara luas sampai kini (Pelczar dan Chan, 1986). Agar bakto adalah salah satu medium kultur yang digunakan untuk membantu menggelifikasi berbagai jenis larutan medium atau larutan kaldu (*broth*).

Agar yang digunakan untuk kebutuhan bakteriologis merupakan bagian penting dalam industri penghasil koloid dari alga merah. Namun pemanfaatan agar bakto dalam bidang mikrobiologis tidak sebanding dengan produksinya di dalam negeri. Salah satu solusi yang digunakan adalah membuat agar bakto produksi dalam negeri dengan karakteristik mutu yang diharapkan sama dengan agar bakto impor.

Kitosan merupakan salah satu contoh produk hasil pemanfaatan limbah udang yang merupakan hasil deasetilasi dari kitin. Kitosan mempunyai manfaat yang cukup banyak dalam berbagai bidang kehidupan. Contohnya, adalah kitosan dapat menghilangkan kontaminan, memisahkan petroleum dari air limbah, pelapis benih yang akan ditanam (pertanian), bahan anti kolesterol, anti koagulan dalam darah, absorben logam berat (Afrianto dan Liviawati 1993) dan pembentuk gel yang baik dalam pembuatan bakso (Nurimala *et al.* 2007).

Dalam penelitian ini media agar atau kultur media yang dibuat adalah agar bakto yang secara umum memiliki karakteristik mutu yang setara dengan agar bakto impor. Untuk mendapatkan agar bakto dengan kandungan NaCl, pigmen, dan komponen-komponen pengotor yang rendah diperlukan adanya suatu perlakuan khusus. Penambahan kitosan sebagai absorben pada proses pemurnian agar diharapkan dapat menghasilkan agar yang murni (*refine agar*) yang dapat digunakan untuk agar bakto sebagai media pertumbuhan mikroba. Tujuan dari penelitian ini adalah memodifikasi berbagai konsentrasi kitosan dan waktu proses absorbsi dalam pembuatan agar bakto sebagai media pertumbuhan mikroba.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, wadah, timbangan, desikator, cawan porselin, destilator, erlenmeyer, kertas saring, pemanas listrik, oven, cawan petri, inkubator, dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga laut *Gracilaria* sp., agar batang, kulit udang, bahan-bahan kimia untuk analisis kadar sulfat, kadar garam, dan TPC. Analisis mutu yang dilakukan meliputi kadar air, abu, garam, nilai pH, sulfat, kekuatan gel, dan uji total bakteri (*total plate count*).

Metode Penelitian

Penelitian dibagi menjadi dua tahap, pertama adalah proses isolasi kitin dan deasetilasi kitin menjadi 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. dan agar batang. Perlakuan kedua yang diberikan yaitu waktu proses absorbsi setelah dilakukan penambahan kitosan. Waktu proses absorbsi yang dipilih 0 menit, 15 menit, 30 menit, dan 45 menit. Agar bakto hasil penelitian yang terpilih adalah yang paling mendekati karakteristik mutu agar bakto komersial.

Pembuatan kitosan

Tahapan penelitian pendahuluan adalah proses isolasi kitin dan deasetilasi kitin menjadi kitosan dengan menggunakan metode yang telah dilakukan oleh Suptijah *et al.*(1992).

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 %, sedangkan untuk proses lanjutannya dilakukan pemanasan kembali pada larutan agar-agar yang telah ditambah kitosan yaitu selama 0 menit, 15 menit, 30 menit, dan 45 menit.

Bahan agar batang dimasak atau dipanaskan dalam panci masak dengan kisaran suhu 90-100 ºC sampai agar batang tersebut menjadi lumer menggunakan air aquades perbandingan 1:30 (aquades terhadap berat kering agar-agar batang). Setelah proses pemasakan selesai dapat dilakukan proses pemurnian agar dengan menambahkan kitosan dengan konsentrasi 0,5 %, 1 %, dan 1,5 %, dengan suhu pemasakan 90-92ºC dengan dua kali pengamatan atau dua kali ulangan perlakuan. Waktu proses absorbsi dilakukan untuk melihat pengaruh kitosan sebagai absorben terhadap logam yang menempel di alga laut dan zat-zat pengotor lainnya selama 0 menit, 15 menit, 30 menit, dan 45 menit pada setiap perlakuan dan ulangan perlakuan atau ulangan pengamatan. Selanjutnya agar batang dan kitosan disaring untuk dapat memisahkan agar murni dengan serbuk kitosan. Kemudian dilakukan penjedalan agar yang telah dimurnikan dengan suhu rendah pada *freezer* (alat pembeku), agar ditempatkan dalam pan pencetak (loyang). *Thawing* atau pencairan kembali dan pengeringan dengan menggunakan oven.

Makroalga laut (*Gracilaria* sp) kering dibersihkan dan disortir dari kotoran-kotoran yang menempel, (contohnya 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. Penetralan dilakukan selanjutnya dengan mencuci di air mengalir sampai pH netral (pH = 7). Pra perlakuan 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). Tahapan proses selanjutnya sama dengan pada bahan baku agar batang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Kitosan

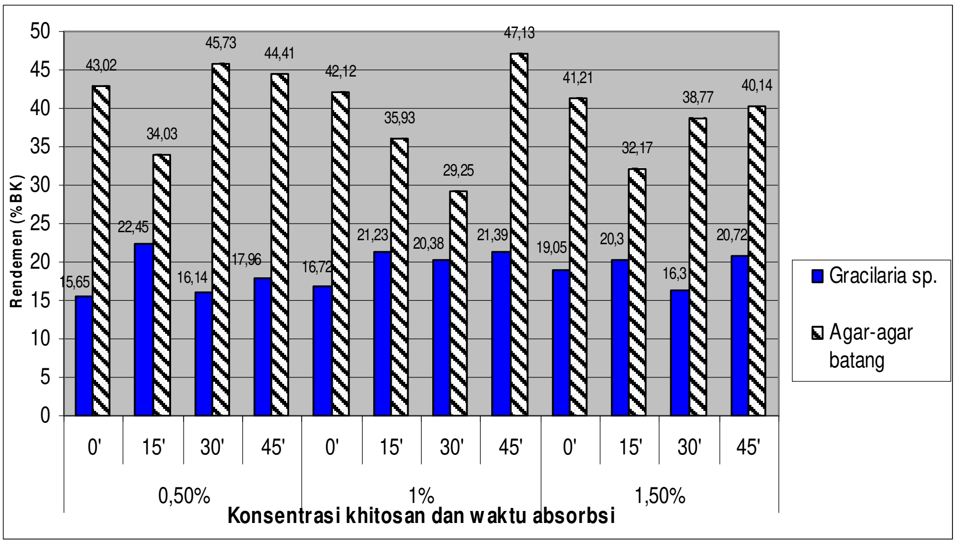
Hasil analisis yang didapatkan terhadap produk kitosan dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa hasil analisis kadar air kitosan adalah 8,4 % lebih rendah apabila dibandingkan dengan standar mutu kitosan yaitu ≤ 10 %.

Tabel 1. Hasil uji karakteristik mutu kitosan

Parameter	Hasil
Ukuran Partikel	Butiran/bubuk
Kadar air (% berat basah)	8,40 %
Kadar abu (% berat kering)	0,08 %
Derajat deasetilasi (%)	82,60 %
Viskositas	1400 cps
Warna larutan	Jernih

Rendemen agar bakto

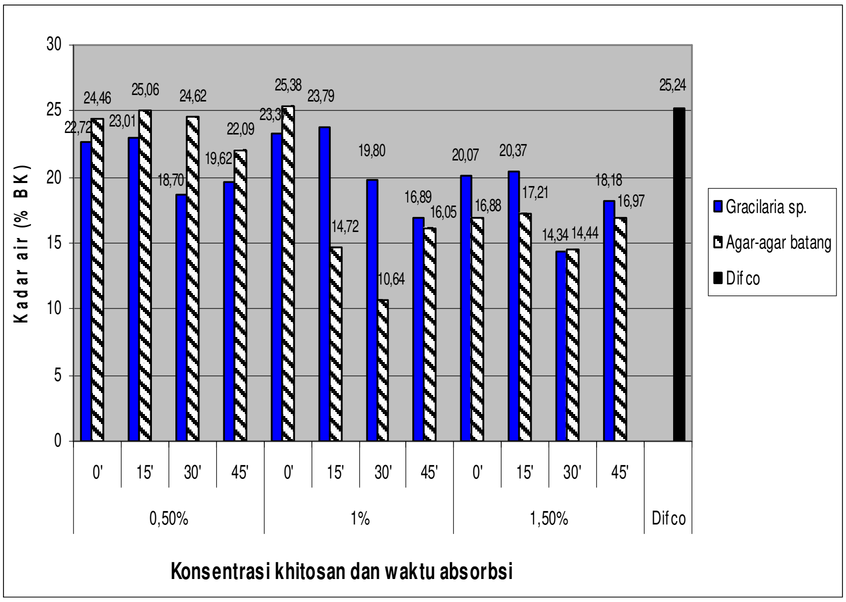
Nilai rata-rata rendemen yang diperoleh pada agar bakto dari *Gracilaria* sp. berkisar antara 15,65 % sampai dengan 22,45 %. Nilai rata-rata rendemen pada agar bakto dari agar batang berkisar antara 29,25 %y sampai dengan 47,13 %, apabila dilihat secara visual maka rendemen tertinggi 47,13 %. Rendemen agar selain dipengaruhi oleh cara ekstraksi, dipengaruhi pula oleh spesies makroalga laut, iklim, waktu pemanenan, dan lokasi budidayanya (Chapman dan Chapman, 1980). Perbandingan nilai rata-rata rendemen berdasarkan berat kering pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh penambahan kitosan dan waktu proses absorbsi terhadap rendemen agar bakto dari *Gracilaria* sp dan agar-agar batang

Kadar air agar bakto

Perbandingan nilai rata-rata kadar air berdasarkan berat kering pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2. Analisis ragam yang dilakukan pada agar bakto dari *Gracilaria* sp. menunjukkan bahwa hanya perlakuan pemanasan kembali yang memberikan pengaruh nyata terhadap kadar air agar bakto yang dihasilkan, sedangkan diantara kedua faktor perlakuan tidak ditemukan adanya pengaruh interaksi yang nyata. Uji lanjut *Duncan's multiple range test* pada perlakuan waktu proses absorbsi selama 15 menit dan tanpa waktu absorbsi tidak ditemukan adanya pengaruh yang nyata untuk pasangan perlakuan tersebut. Pada perlakuan pemanasan kembali selama 30 menit dan 45 menit juga tidak ditemukan adanya pengaruh yang nyata terhadap kadar air agar bakto yang dihasilkan dari *Gracilaria* sp.

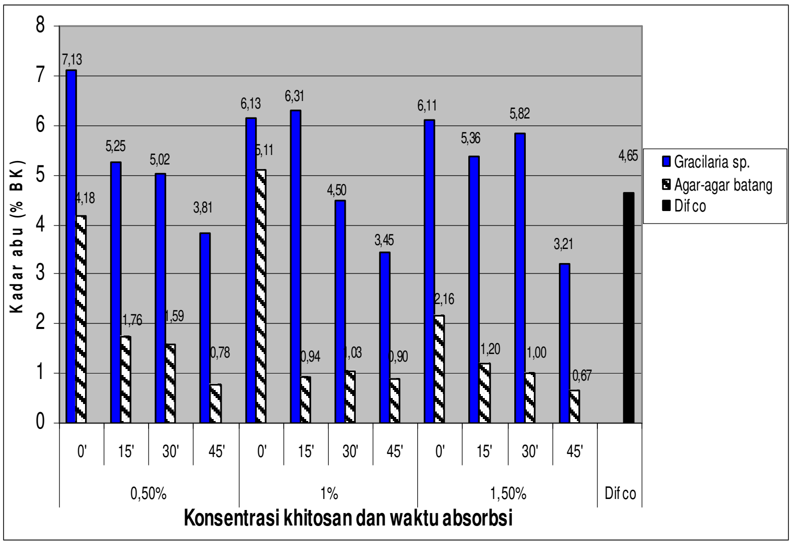


Gambar 2. Pengaruh penambahan kitosan dan waktu proses absorbsi terhadap kadar air agar bakto dari *Gracilaria* sp. dan agar-agar batang

Hasil analisis ragam yang dilakukan pada agar bakto dari agar batang menunjukkan bahwa ke dua belas perlakuan penambahan berbagai konsentrasi kitosan dan waktu proses absorbsi memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kadar air agar bakto dari agar batang. Apabila dilihat dari hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* pada perlakuan berbagai waktu proses absorbsi menyatakan bahwa hanya kombinasi perlakuan waktu proses absorbsi 15 menit dan 45 menit yang tidak berbeda nyata.

Kadar abu agar bakto

Perbandingan nilai rata-rata kadar abu berdasarkan berat kering pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3. Analisis ragam menunjukkan bahwa kedua belas perlakuan yang diterapkan pada pembuatan agar bakto dari *Gracilaria* sp. baik pada penambahan berbagai konsentrasi kitosan maupun pada berbagai waktu proses absorbsi memberikan hasil yang berbeda nyata. Pada uji lanjut *Duncan's multiple range test* untuk perlakuan waktu proses absorbsi ditemukan seluruh kombinasi perlakuan memberikan hasil yang berbeda nyata antar perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa seluruh waktu proses absorbsi yang digunakan memberikan pengaruh terhadap nilai kadar abu dari agar bakto yang dihasilkan dari *Gracilaria* sp.

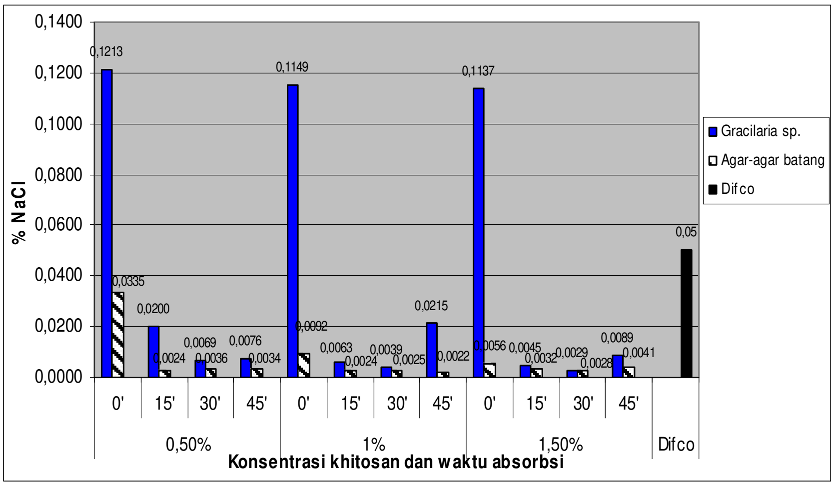


Gambar 3. Pengaruh penambahan kitosan dan waktu proses absorbsi terhadap kadar abu agar bakto dari *Gracilaria* sp. dan agar-agar batang

Analisis ragam menunjukkan bahwa ke dua belas perlakuan penambahan berbagai konsentrasi kitosan dan waktu proses absorbsi memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kadar abu agar bakto dari agar batang. Hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* menunjukkan hanya perlakuan waktu absorbsi 15 menit dan waktu absorbsi 30 menit tidak memberikan pengaruh yang nyata untuk kombinasi kedua perlakuan tersebut. Sedangkan pada perlakuan penambahan berbagai konsentrasi kitosan, terdapat perbedaan yang nyata untuk konsentrasi kitosan sebesar 0,5 % dan 1 % yang digunakan.

Kadar Garam (NaCl) agar bakto

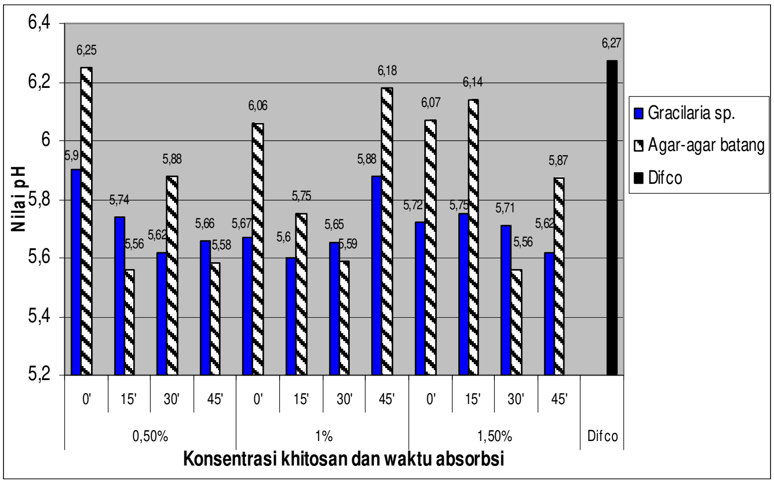
Perbandingan nilai rata-rata kadar garam (NaCl) berdasarkan berat kering pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4. Menurut Harrigan (1998), kadar garam yang dikondisikan sebagai NaCl pada agar bakto atau agar media bakteriologis maksimum adalah 0,05 %, dengan demikian kadar garam agar bakto yang dihasilkan pada penelitian ini masuk dalam standar maksimum kadar garam yang diperbolehkan.



Gambar 4. Pengaruh penambahan kitosan dan waktu proses absorbsi terhadap kadar garam agar bakto dari *Gracilaria* sp. dan agar-agar batang

Nilai pH agar bakto

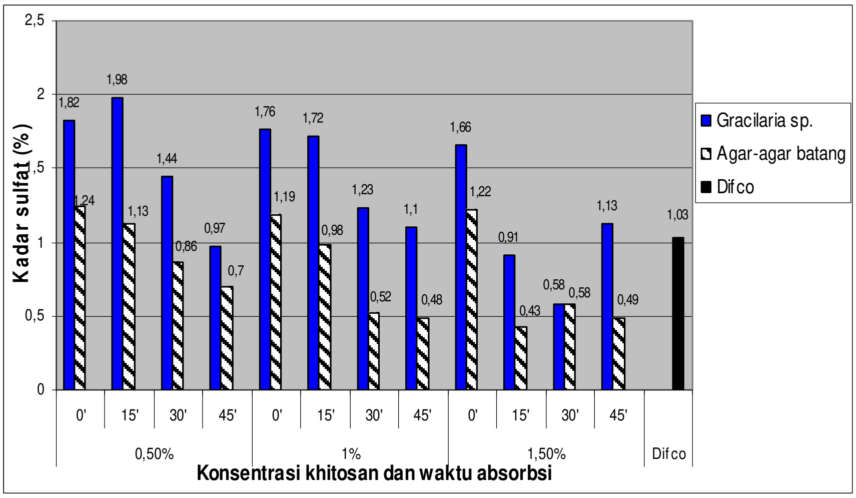
Nilai pH medium pertumbuhan mikroorganisme sangat mempengaruhi jasad renik yang dapat tumbuh. Perbandingan nilai rata-rata pH berdasarkan berat kering pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pengaruh penambahan kitosan dan waktu proses absorbsi terhadap nilai pH agar bakto dari *Gracilaria* sp. dan agar-agar batang

Kadar Sulfat agar bakto

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). Perbandingan nilai rata-rata kadar sulfat berdasarkan berat kering pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Pengaruh penambahan kitosan dan waktu proses absorbsi terhadap kadar sulfat agar bakto dari *Gracilaria* sp. dan agar-agar batang

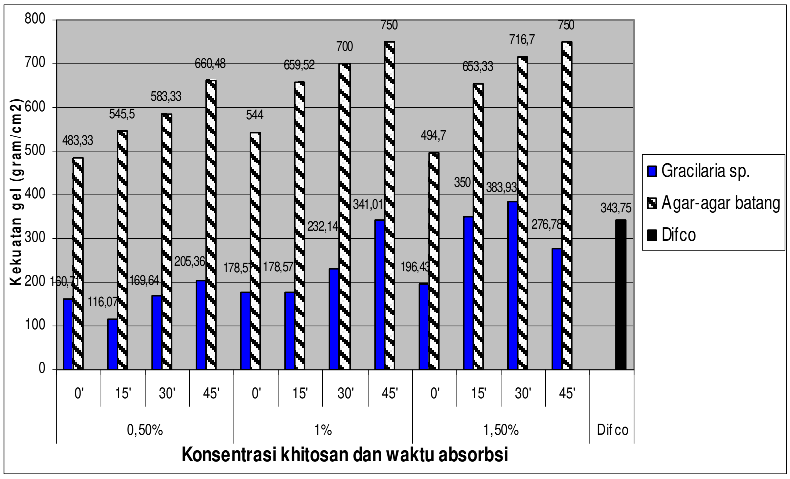
Berdasarkan grafik batang di atas dapat terlihat bahwa secara umum nilai kadar sulfat yang didapatkan mengalami penurunan untuk setiap kenaikan konsentrasi kitosan yang ditambahkan dalam proses pembuatan agar bakto. Adapun peningkatan nilai kadar sulfat yang tidak relevan dengan kenaikan konsentrasi kitosan dapat disebabkan oleh kesalahan yang dilakukan pada saat melakukan pengendapan sulfat dari agar bakto yang tidak sempurna, sehingga nilai sulfat pada konsentrasi kitosan yang lebih tinggi menjadi semakin meningkat.

Analisis ragam yang dilakukan menunjukkan bahwa ke dua belas perlakuan penambahan berbagai konsentrasi kitosan dan waktu proses absorbsi memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kadar sulfat agar bakto dari *Gracilaria* sp. Sedangkan antara dua faktor perlakuan ditemukan adanya pengaruh interaksi yang nyata. Uji lanjut *Duncan's multiple range test* hanya pada waktu proses absorbsi 30 menit dan 45 menit tidak ditemukan adanya suatu pengaruh perlakuan yang berbeda nyata.

Analisis ragam yang dilakukan menunjukkan bahwa ke dua belas perlakuan penambahan berbagai konsentrasi kitosan dan waktu proses absorbsi memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kadar sulfat agar bakto yang dibuat agar batang. Sedangkan antara dua faktor perlakuan ditemukan adanya pengaruh interaksi yang nyata. Dari hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* pada seluruh kombinasi perlakuan berbagai waktu proses absorbsi dan penambahan berbagai konsentrasi kitosan, terdapat perbedaan yang nyata.

Kekuatan gel agar bakto

Kekuatan gel merupakan beban maksimum yang dibutuhkan untuk memecahkan matriks polimer pada daerah yang dibebani, dan dapat dinyatakan sebagai "breaking force". Perbandingan nilai rata-rata kekuatan gel berdasarkan berat kering pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Pengaruh penambahan kitosan dan waktu proses absorbsi terhadap kekuatan gel agar bakto dari *Gracilaria* sp. dan agar-agar batang

Analisis ragam yang dilakukan menunjukkan bahwa ke dua belas perlakuan penambahan berbagai konsentrasi kitosan dan lama pemanasan yang berbeda-beda memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kekuatan gel agar bakto dari *Gracilaria* sp. Sedangkan antara dua faktor perlakuan ditemukan adanya pengaruh interaksi yang nyata. Hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* hanya pada pemanasan kembali 30 menit dan 45 menit tidak ditemukan adanya suatu pengaruh perlakuan yang berbeda nyata. Sedangkan pada seluruh kombinasi perlakuan penambahan berbagai konsentrasi kitosan, terdapat perbedaan yang nyata. Analisis ragam yang dilakukan menunjukkan bahwa ke dua belas perlakuan penambahan berbagai konsentrasi kitosan dan lama pemanasan yang berbeda-beda memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kekuatan gel agar bakto dari agar batang. Sedangkan antara dua faktor perlakuan ditemukan adanya pengaruh interaksi yang nyata. Dari hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* seluruh perlakuan pada pemanasan kembali ditemukan adanya suatu pengaruh perlakuan yang berbeda nyata.