

C/PHP  
2005  
1010

**PEMBUATAN AGAR BAKTO DARI *Gracilaria verucosa*  
DENGAN MENGGUNAKAN KITIN SEBAGAI ABSORBEN**

**MOHAMAD RIFA'I**



**DEPARTEMEN TEKNOLOGI HASIL PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2005**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## RINGKASAN

MOHAMAD RIFA'I. C03400063. Pembuatan Agar Bakto dari *Gracillaria verucosa* dengan Menggunakan Kitin sebagai Absorben. Dibawah bimbingan PIPIH SUPTIJAH dan WINARTI ZAHIRUDDIN.

Agar bakto merupakan agar yang telah dimurnikan dengan mereduksi kandungan pigmen-pigmen pengotor, kandungan garam (NaCl), dan kandungan bahan-bahan asing (organik dan inorganik) serendah mungkin sehingga dapat mendukung pertumbuhan mikroba secara umum (Gelrite®, 2003). Kitin merupakan biopolimer polisakarida dengan rantai lurus yang tersusun dari 2000 sampai 3000 monomer N-asetil\_D-glukosamin, monomer-monomer tersebut tersusun dengan ikatan glikosidik  $\beta$ -1-4 (Bough, 1975), yang mampu mengabsorpsi ion-ion metal, dan komponen-komponen pengotor (*impurities*) pada agar, sehingga dapat digunakan dalam pembuatan agar bakto sebagai absorben.

Penelitian ini terdiri dari dua tahap penelitian. Penelitian tahap pertama bertujuan untuk memperoleh kitin yang mempunyai derajat deasetilasi yang baik untuk digunakan pada penelitian tahap kedua. Penelitian tahap kedua bertujuan untuk mempelajari pengaruh penambahan berbagai konsentrasi kitin sebagai absorben dan waktu proses absorpsi dalam pembuatan agar bakto sebagai media pertumbuhan mikroba. Bahan yang digunakan untuk penelitian tahap kedua adalah *Gracilaria verrucosa* dengan penambahan berbagai konsentrasi kitin dengan perbandingan berat kering 0,5 %, 1 %, dan 1,5 % pada jangka waktu absorpsi selama 0 menit, 15 menit, 30 menit dan 45 menit. Prosedur pengamatan meliputi analisis kadar air, kadar abu, kadar garam (dikondisikan sebagai NaCl), pengukuran nilai pH, kadar sulfat, kekuatan gel, dan rendemen, sedangkan uji kualitatif total bakteri dilakukan pada hasil optimum yang terpilih berdasarkan pengujian fisik dan kimianya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah agar ditambahkan dengan menggunakan kitin, nilai rata-rata kadar sulfat agar bakto berkurang dari 4,68 % menjadi 2,22 % - 4,57 % dari *Gracilaria verrucosa*. Nilai rata-rata kadar abu agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* berkurang dari 8,63 % menjadi 3,21 % - 6,37 %, sedangkan nilai rata-rata kekuatan gel agar bakto *Gracilaria verrucosa* meningkat dari 88,88 gram/cm<sup>2</sup> menjadi 375,835 gram/cm<sup>2</sup>.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan pemberian kitin 1,5 % dengan waktu proses absorpsi 45 menit menghasilkan agar bakto yang paling optimum (mendekati standar *difco bacto agar* dan *agar serva*) yaitu dengan parameter sebagai berikut : kadar air 21.11 %, kadar abu 3.21 %, kadar garam 0.0282 %, kadar sulfat 2,545 %, kekuatan gel 375.835 gram/cm<sup>2</sup>, dan nilai pH sebesar 5.85. Pada uji total bakteri didapatkan total bakteri pada agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* adalah  $2,5 \times 10^5$  koloni/gram sedangkan untuk nilai standar agar bakto *Difco* didapatkan nilai  $2,9 \times 10^5$  koloni/gram.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan melakukan kajian terhadap pembuatan agar bakto dari jenis alga laut lain. Mengkaji pengaruh aspek penyimpanan terhadap mutu agar bakto yang dihasilkan. Perlu dicari cara dalam menurunkan kadar sulfat, menaikkan pH dan kekuatan gel hingga sesuai dengan standar. Juga tinjauan ekonomis terhadap agar bakto yang diproduksi sendiri terhadap agar bakto komersial produksi pabrik.



# PEMBUATAN AGAR BAKTO DARI *Gracilaria verucosa* DENGAN MENGGUNAKAN KITIN SEBAGAI ABSORBEN

@Hak cipta milik IPB University

**MOHAMAD RIFA'I**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Perikanan dan Ilmu Kelautan pada  
Departemen Teknologi Hasil Perairan



DEPARTEMEN TEKNOLOGI HASIL PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

BOGOR

2005

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

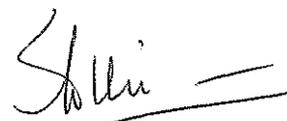
## SKRIPSI

Judul Skripsi : Pembuatan Agar Bakto dari *Gracilaria verrucosa*  
dengan Menggunakan Kitin sebagai Absorben  
Nama : Mohamad Rifa'I  
NRP : C03400063  
Departemen : Teknologi Hasil Perairan

Disetujui,

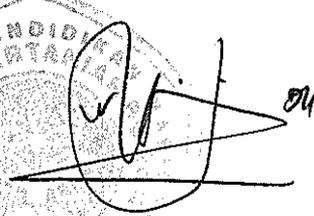
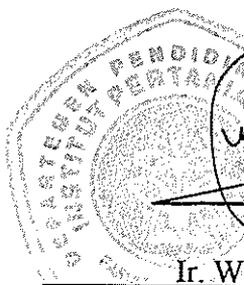


Dra. Pipih Suptijah, MBA  
Ketua



Ir. Winarti Zahiruddin, MS  
Anggota

Diketahui,

Ir. Wini Trilaksani, MSc  
Ketua Departemen Teknologi Hasil Perairan

Tanggal Lulus : 04 Maret 2005

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## KATA PENGANTAR

*Bismillaahirrahmaanirrahiim*

Puji Syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dra. Pipih Suptijah, MBA dan Ibu Ir. Winarti, MS. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan arahan dalam penyusunan skripsi ini.
2. Ibu, Ayah (alm) dan kakak dirumah yang telah mencurahkan kasih sayang yang tidak dapat terbalaskan, atas perjuangan dan kesabaran beliau sehingga penulis dapat menempuh pendidikan hingga saat ini. Semoga Allah Swt mengumpulkan kita dalam golongan hambaNya yang soleh.
3. Ibu Ema dan Bapak Gandi, yang telah banyak membantu penulis dalam melaksanakan penelitian dan selama menjalani tugas selaku asisten dosen.
4. Untuk Shasa yang sudah banyak menemani dan membantu untuk segera menyelesaikan penelitian dan skripsi ini. Tevi Karuniawati dan Dwi Setyaningsih yang sudah banyak bantu juga, terima kasih banyak untuk bantuannya, dan atas persahabatan yang diberikan.
5. Teman-teman THP 37 yang tidak dapat disebutkan satu persatu namanya dan para, terima kasih untuk semua bantuan dan kebersamaannya selama 4 tahun lebih ini.
6. Teman-teman THP 35, 36 dan adik-adik THP 38, 39, dan 40, terima kasih atas bantuannya dan semangatnya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Bogor, Maret 2005

**Penulis**

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandung pada tanggal 11 Juni 1982 dari ayah Mohamad Soekarma (alm) dan ibu Iin Shinta. Penulis adalah putra keempat dari empat bersaudara.

Penulis memulai pendidikan dasar di SDN Pondok Labu 011 Pagi Jakarta Selatan dan lulus pada tahun 1994. Kemudian dilanjutkan ke SMPN 96 Jakarta dan lulus pada tahun 1997. Pada tahun 2000 penulis lulus dari SMUN 34 Jakarta dan pada tahun yang sama lulus seleksi Ujian Masuk Perguruan Tinggi Negeri (UMPTN) di IPB. Penulis memilih Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Departemen Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan.

Selama mengikuti perkuliahan penulis aktif di organisasi kemahasiswaan antara lain FKM-C, BEM, BEM FPIK (2001-2003), dan BEM KM IPB (2003/2004). Selain itu penulis juga pernah menjadi asisten mata kuliah Pendidikan Agama Islam pada tahun ajaran 2003/2004 dan 2004/2005 serta mata kuliah Toksikologi Pengolahan Hasil Perikanan pada tahun ajaran 2002/2003. Pada tahun 2004 penulis berhasil mendapatkan medali emas dalam Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional XVII di Bandung.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



# DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	2
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Bahan Baku Agar bakto.....	3
2.1.1 Makro alga.....	3
2.1.2 <i>Gracilaria verrucosa</i> .....	4
2.2 Agar-agar.....	6
2.2.1 Ekstraksi agar-agar.....	7
2.2.2 Struktur kimia agar-agar.....	7
2.2.3 Pembentukan gel agar-agar.....	8
2.3 Media Agar.....	9
2.4 Khitin.....	10
2.4.1 Sumber khitin.....	11
2.4.2 Sifat fisika dan kimia khitin.....	12
2.4.3 Isolasi khitin.....	13
2.5 Pemanfaatan Khitin .....	14
<b>3. METODOLOGI</b>	
3.1 Bahan dan Alat.....	17
3.2 Metode Penelitian.....	17
3.2.1 Pembuatan khitin.....	18
3.2.2 Pembuatan agar bakto.....	19
3.3 Prosedur Pengujian.....	21
3.4 Rancangan Percobaan.....	24

Hak Cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Mutu Khitin.....	26
4.2 Penelitian Utama.....	27
4.2.1 Rendemen agar bakto.....	27
4.2.2 Kadar air agar bakto.....	29
4.2.3 Kadar abu agar bakto.....	31
4.2.4 Kadar garam (NaCl) agar bakto.....	34
4.2.5 Nilai pH agar bakto.....	35
4.2.6 Kadar sulfat agar bakto.....	38
4.2.7 Kekuatan gel agar bakto.....	40
4.2.8 Aplikasi agar bakto sebagai media kultur.....	42
<b>5. KESIMPULAN dan SARAN.....</b>	<b>45</b>
<b>6. DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>50</b>

*@Hak cipta milik IPB University*

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## DAFTAR TABEL

Nomer	Halaman
1. Kandungan agar-agar <i>Gracilaria</i> menurut jenis dan lokasi.....	5
2. Komposisi organik <i>Gracillaria</i> (dalam % berat kering).....	6
3. Standar mutu agar bakto <i>difco</i> dan <i>serva</i> .....	10
4. Komposisi limbah kulit udang (% berat kering).....	11
5. Karakteristik mutu khitin.....	13
6. Hasil uji karakteristik mutu khitin.....	26
7. Hasil uji karakteristik fisik pada aplikasi media kultur.....	43

Hak Cipta Milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## DAFTAR GAMBAR

<b>Nomer</b>		<b>Halaman</b>
1.	<i>Gracilaria verrucosa</i> .....	4
2.	Struktur molekul agar-agar (Glicksman, 1983).....	8
3.	Struktur senyawa khitin.....	12
4.	Reaksi proses demineralisasi.....	13
5.	Skema proses isolasi khitin (Suptijah <i>et al</i> ,1992).....	18
6.	Skema proses pembuatan agar bakto dari <i>Gracillaria verucosa</i> .....	19
7.	Nilai rendemen agar bakto dari perlakuan penambahan khitin dan waktu absorpsi yang berbeda.....	28
8.	Nilai kadar air agar bakto dari perlakuan penambahan khitin dan waktu absorpsi yang berbeda.....	30
9.	Nilai kadar abu agar bakto dengan penggunaan khitin dan waktu absorpsi yang berbeda.....	32
10.	Nilai kadar garam agar bakto dengan penggunaan khitin dan waktu absorpsi yang berbeda.....	34
11.	Nilai kadar pH agar bakto dengan penggunaan khitin dan waktu absorpsi yang berbeda.....	36
12.	Nilai kadar sulfat agar bakto dengan penggunaan khitin dan waktu absorpsi yang berbeda.....	38
13.	Nilai kekuatan gel agar bakto dengan penggunaan khitin dan waktu absorpsi yang berbeda.....	41

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## DAFTAR LAMPIRAN

Nomer	Halaman
1. Hasil analisis mutu fisik dan kimiawi agar bakto <i>Gracilaria verucossa</i> .....	51
2. Data referensi standar agar bakto <i>difco</i> .....	52
3. Data terpilih dari agar bakto <i>Gracilaria verucossa</i> (proses optimal).....	53
4. Hasil analisis statistika dan Uji lanjut Duncan's multiple range test.....	54

Hak cipta milik IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
- Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  - Dilarang menggunakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Alga laut atau yang sering disebut sebagai rumput laut merupakan salah satu komoditi hasil kekayaan laut Indonesia yang banyak dijumpai di seluruh perairan wilayah Nusantara. Rumput laut merupakan salah satu komoditi perairan yang sangat potensial untuk dikembangkan di Indonesia. Wilayah Indonesia yang sebagian besar merupakan wilayah bahari memiliki berbagai macam jenis rumput laut yang terdiri dari beberapa jenis, seperti Chlorophyceae, Phaeophyceae, Rhodophyceae, dan Cyanophyceae yang belum dimanfaatkan secara optimal.

Rumput laut mengandung karbohidrat dalam jumlah yang besar, protein sedikit dan berbagai vitamin. Di Indonesia rumput laut digunakan sebagai bahan tambahan makanan, industri obat-obatan dan kosmetika. Selain itu rumput laut juga digunakan sebagai bahan baku pembuatan agar-agar. Agar-agar adalah bentuk koloid dari suatu polisakarida kompleks yang diekstrak dari beberapa kelompok alga merah (Rhodophyceae). Polisakarida kompleks tersebut berupa suatu asam sulfanik (ester dari galaktosa linier) yang berbentuk gel. Dikatakan lebih lanjut bahwa penggunaan Rhodophyceae sering dimanfaatkan untuk menghasilkan agar-agar karena dari jenis inilah dapat dihasilkan agar-agar dengan kualitas yang paling baik (Afrianto dan Liviawati, 1993).

Salah satu pemanfaatan dari agar-agar, yaitu sebagai media pertumbuhan bakteri. Media agar atau medium kultur merupakan cairan atau padatan dengan penambahan nutrisi yang dapat digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Medium buatan ini dibuat mirip dengan substrat tempat tumbuh mikroorganisme.

Pada umumnya agar bakto yang ada di pasaran memiliki harga yang mahal. Sementara sumberdaya alga merah (Rhodophyceae) khususnya *Gracilaria verrucosa* sebagai penghasil agar-agar cukup banyak kelimpahannya di Indonesia. Kandungan agar dari *Gracilaria verrucosa* ini selanjutnya dapat digunakan sebagai produk agar-agar. Agar-agar ini kemudian dapat dimanfaatkan menjadi agar bakto.

Kitin selain dapat digunakan dalam pengolahan limbah air dan pengikat limbah beracun dari logam berat, juga dapat digunakan sebagai absorben molekul

yang lebih kecil seperti pigmen warna, senyawa garam, senyawa sulfat dan senyawa-senyawa lainnya (Ditjen Perikanan, 1989). Kemampuan mengabsorpsi ini terjadi karena kitin memiliki karakteristik kationik yakni mempunyai muatan listrik positif dan memiliki daya absorpsi fisik yang baik bagi molekul yang lebih kecil dari kitin. Mengingat salah satu fungsi kitin sebagai absorben, maka kitin dapat dimanfaatkan dalam proses pemurnian agar-agar menjadi agar bakto.

### 1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mempelajari pengaruh berbagai konsentrasi kitin sebagai absorben dan waktu absorpsi dalam upaya meningkatkan mutu agar bakto yang dihasilkan.
2. Membandingkan karakteristik mutu agar bakto terbaik dengan kontrol agar bakto *Difco*.

### 1.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dimulai pada bulan September 2003 sampai Februari 2004. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Hasil Perikanan dan Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perikanan, Departemen Teknologi Hasil Perikanan serta Laboratorium *Pilot Plant* AP4 FATETA, Institut Pertanian Bogor.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bahan Baku Agar bakto

Pada umumnya rumput laut banyak dijumpai di daerah yang memiliki perairan agak dangkal. Kondisi dasar perairan yang sangat disukai oleh rumput laut, yaitu berpasir, berlumpur dan campuran keduanya. Banyak pula rumput laut yang dapat tumbuh dengan cara menempel pada batu karang yang telah mati, kerang, maupun benda-benda yang mengandung kapur. Kondisi perairan yang cocok bagi pertumbuhan rumput laut yaitu perairan yang jernih dengan ombak dan arus yang tidak terlalu besar (Afrianto dan Liviawati, 1993).

Bahan baku dari agar bakto umumnya berasal dari alga merah (Rhodophyceae) penghasil hidrokoloid agar. *Gracilaria verrucosa* merupakan salah satu jenis spesies alga laut dari kelas Rhodophyceae yang mampu menghasilkan agar-agar. Agar bakto juga dapat dibuat dari agar yang telah mengalami proses pemurnian awal, misalnya agar-agar batang maupun agar-agar kertas.

#### 2.1.1 Makro alga

Secara morfologis bentuk tanaman ini tidak mempunyai perbedaan susunan kerangka antara akar, batang dan daun. Keseluruhan tanaman ini merupakan batang yang dikenal sebagai *thallus*. Bentuk *thallus* makroalga laut beraneka ragam. Ada yang bulat seperti tabung, pipih, gepeng, bulat seperti kantong, seperti rambut dan lain sebagainya. Sedangkan pigmen-pigmen yang terkandung dalam *thallus* makroalga laut dapat digunakan untuk membedakannya antarkelas. Pigmen ini dapat pula menentukan warna *thallus* sesuai dengan pigmen yang ada pada kelas Chlorophyceae, Phaeophyceae, Rhodophyceae dan Cyanophyceae (Phillips dan Williams, 2000).

Rumput laut merupakan makro alga yang mampu menghasilkan agar-agar. Umumnya rumput laut penghasil agar-agar ini berasal dari jenis Rhodophyceae. Komposisi kimia rumput laut bervariasi tergantung pada spesies, tempat tumbuh, dan musim. Komponen utama yang terdapat dalam rumput laut adalah karbohidrat (gula atau *vegetable gum*), protein, lemak dan abu yang sebagian

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

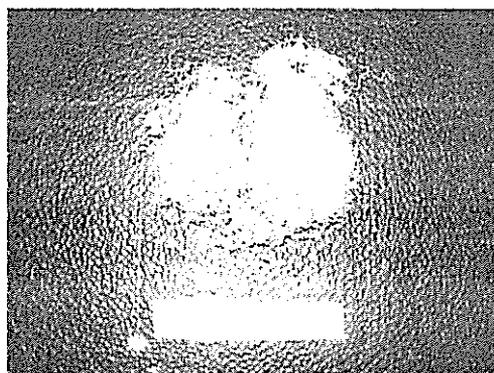
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

besar merupakan senyawa garam natrium dan kalium (Ishibasi *et al.*, 1960 *diacu dalam* Anggadiredja, 1992).

Kandungan *vegetable gum* dalam rumput laut berupa senyawa karbohidrat yang banyak mengandung selulosa dan hemiselulosa. Kedua senyawa ini tidak dapat dicerna seluruhnya oleh enzim dalam tubuh, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai makanan diet karena hanya mengandung sedikit kalori. Hasil penelitian Departemen Kesehatan Jepang menunjukkan bahwa agar-agar merupakan makanan dengan kadar serat tinggi, sehingga dianjurkan untuk dikonsumsi sebagai pencegah penyakit kanker usus, wasir dan mencegah kegemukan (Tsukakoshi, 1989 *diacu dalam* Anggadireja, 1992).

### 2.1.2 *Gracilaria verrucosa*

Agar-agar umumnya dapat diperoleh dari hasil ekstraksi beberapa jenis ganggang merah tertentu terutama genus *Gracilaria*, *Gelidium*, *Pterocladia*, *Acanthopeltis*, dan *Ceramium*. *Gracilaria* merupakan salah satu jenis rumput laut yang paling banyak digunakan dalam produksi agar-agar. Hal ini disebabkan karena *Gracilaria* mudah diperoleh, murah harganya dan juga lebih mudah dalam proses pengolahannya. Kandungan kimia agar-agarnya berperan cukup dominan dalam pembentukan gel pada saat ekstraksi. Disamping itu *Gracilaria verrucosa* memiliki kandungan agarosa dan agaropektin yang cukup baik sehingga dapat membentuk kekuatan gel agar-agar yang lebih kuat dibandingkan dengan hasil ekstraksi dari *Gelidium* sp (Winarno, 1990). Gambar *Gracilaria verrucosa* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 *Gracilaria verrucosa*

Sistematika rumput laut *Gracilaria* (Dawson, 1946) yang dikutip oleh (Soegiarto *et al*, 1978) adalah sebagai berikut :

Divisi : Rhodophyta

Kelas : Rhodophyceae

Ordo : Gigartinales

Famili : Gracilariaceae

Genus : *Gracilaria*

Spesies : *Gracilaria verrucosa*

Ciri-ciri umum rumput laut genus *Gracilaria* adalah bentuk *thallusnya* memipih atau silindris, membentuk rumpun dengan tipe percabangan yang tidak teratur, *dichotomus alternate*, *pinnate* atau *dichotom divaricate*, *thallusnya* menyempit pada pangkal percabangan. Sedangkan sifat substansi *thallus Gracilaria* seperti tulang rawan. Ujung-ujung thalus pada umumnya meruncing, permukaannya halus atau berbintil-bintil. Garis tengah thalus berkisar 0.5-4.0 mm. Panjang dari *Gracilaria* dapat mencapai 30 cm atau lebih (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian,1990). Kandungan agar-agar *Gracilaria* menurut jenis dan lokasi yang ada di Indonesia dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1 Kandungan agar-agar *Gracilaria* menurut jenis dan lokasi**

No	Jenis	Kandungan agar-agar (%)	Lokasi
1	<i>G. eucheumoides</i>	27-32	Sulawesi
2	<i>G. crassa</i>	15-22	Sulawesi
3	<i>G. gigas</i>	47	Bali
4	<i>G. blodgettii</i>	30	Jawa, Lombok
5	<i>G. lichenoides</i>	20-36	Sulawesi

Sumber : Atmadja (1991)

Komposisi kimia rumput laut bervariasi tergantung pada spesies, tempat tumbuh dan musim (Winarno, 1990). Beberapa komponen-komponen utama yang terdapat dalam makroalga laut adalah karbohidrat (gula atau *vegetable gum*), protein, lemak, dan abu yang sebagian besar merupakan senyawa-senyawa garam

natrium dan kalium. Rumput laut juga mengandung vitamin, seperti vitamin A ( $\beta$ -karoten), B1, B2, B6, B12 dan vitamin C serta mengandung mineral, seperti kalium, kalsium, fosfor, natrium, zat besi dan iodium (Anggadireja, 1993).

Selain itu *Gracilaria* sebagai salah satu jenis dari kelas alga merah (Rhodophyceae) juga mengandung beberapa pigmen dalam dinding selnya, yaitu klorofil a, klorofil b, phycoerythrin R dan phycocyanin R (Soegiarto *et al*, 1978). Komposisi organik dari rumput laut *Gracilaria* dapat dilihat pada Tabel 2

**Tabel 2 Komposisi organik *Gracilaria* (dalam % berat kering).**

Komponen	<i>Gracilaria verrucosa</i>	<i>Gracilaria gigas</i>
Air (%)	19.01	12.90
Protein (%)	4.17	7.30
Karbohidrat (%)	42.59	4.94
Lemak (%)	9.54	0.09
Serat Kasar (%)	10.51	2.50
Abu (%)	14.18	12.54

Sumber : Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (1985).

## 2.2 Agar-agar

Agar-agar adalah senyawa poligalaktosa yang diperoleh dari pengolahan rumput laut jenis agarophyte. Agar-agar disebut sebagai gelosa atau gelosa bersulfat, dengan rumus molekul  $(C_6H_{10}O_5)$  atau  $(C_6H_{10}O_5)_n H_2SO_4$ . Selain mengandung polisakarida sebagai senyawa utama, agar-agar juga mengandung kalsium dan mineral lainnya. Kandungan kalsium ini cukup tinggi dibandingkan dengan mineral-mineral lain (Angka dan Suhartono, 2000). Menurut Glicksman (1983) agar-agar merupakan kompleks polisakarida linier yang mempunyai berat molekul 120 000, tersusun dari beberapa jenis polisakarida yang terkandung dalam agar-agar, seperti 3,6-anhidro-L-galaktosa, D-galaktopiranosida dan sejumlah kecil metil D-galaktosa

Agar-agar yang diperdagangkan di pasaran umumnya dijual dalam bentuk kering dengan deskripsi sebagai berikut : warnanya putih sampai kuning pucat, berbau khas agar-agar, serta dikemas dalam bentuk tepung, batangan, serpihan, butiran atau lembaran seperti kertas (Glicksman,1983).

### 2.2.1 Ekstraksi agar-agar

Ekstraksi agar-agar dari rumput laut umumnya dilakukan dengan air panas pada suhu mendidih. Hal ini didasarkan pada sifat kelarutan agar-agar, yaitu yang larut pada air panas dan tidak larut pada air dingin (Furia, 1980). Ekstraksi agar-agar dilakukan pada suhu air sekitar 90-95°C selama 1-5 jam (Istini *et al.* 1986). Namun, semua proses ekstraksi agar-agar dalam dunia perdagangan umumnya menggunakan air panas dengan suhu 90-150°C yang kemudian diikuti dengan proses filtrasi dan pembekuan (Irawati, 1994).

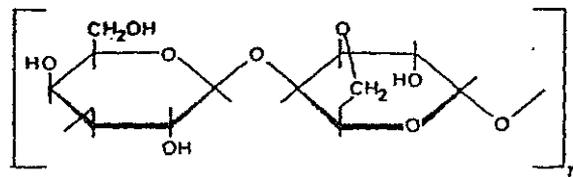
Proses ekstraksi diperlukan suasana yang sedikit asam. Keasaman (pH) larutan ekstraksi harus diatur kurang lebih 6,5 dengan menambah sedikit asam (Chapman, 1970). Kosasih dan Suprijatna (1967) menggunakan asam cuka (CH<sub>3</sub>COOH) 0,1 % dari jumlah air yang digunakan dengan pH berkisar 6,9. Nilai pH yang terlalu rendah dapat menyebabkan gel mudah terhidrolisis (Winarno, 1990). Penelitian yang dilakukan Weng (1992) membuktikan bahwa perlakuan pH air pengeksrak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kekuatan gel agar-agar *Gracilaria* sp. Hal ini sesuai dengan pernyataan Glicksman (1983) bahwa karakteristik pembentukan gel sangat dipengaruhi oleh pH, semakin rendah pH maka kekuatan gel akan semakin menurun.

Produksi agar-agar dari rumput laut selain dipengaruhi oleh musim, juga dipengaruhi oleh lama waktu perebusan (ekstraksi) (Chapman, 1970). Waktu pendidihan yang terlalu lama dapat menyebabkan degradasi hidrolitik yang berlebihan pada agar-agar, meskipun pada proses normal degradasi hidrolitik tidak dapat dihindari seluruhnya (Matsushashi, 1977 *diacu dalam* Priatama, 1989). Lama ekstraksi umumnya berlangsung selama 45 menit (Winarno, 1990), kadang-kadang sampai 2-4 jam tergantung teknik pengadukannya. Nasran (1993) melakukan ekstraksi terhadap rumput laut *Gracilaria* sp selama 1,5 sampai 2 jam. Mokolensang *et al.* (1997) melakukan ekstraksi rumput laut *Gracilaria* sp selama 1 jam.

### 2.2.2 Struktur kimia agar-agar

Agar-agar merupakan suatu heteropolisakarida linier dengan berat molekul 120.000 yang tersusun atas dua fraksi utama, yaitu agarosa dan agaropektin. Kandungan agarosa yang terdapat pada agar-agar berkisar antara 50-90 % dengan

perbandingan komposisi agarosa dan agaropektin tergantung pada jenis rumput laut. Alga berbeda dengan tumbuhan tingkat tinggi lainnya karena sejumlah besar polisakarida sulfatnya terakumulasi di dalam dinding sel atau daerah intraseluler. Polisakarida sulfat dari setiap alga berbeda-beda, karena dipengaruhi oleh karakteristik tiap jenisnya. Contohnya polisakarida dari Rhodophyceae biasanya mengandung galaktosa dalam enansiomer D-dan L-, seperti 3,6-anhidrat-6-O-metil eter dari bermacam-macam ester sulfat (Glicksman, 1983). Studi yang dilakukan Anderson *et al.* (1965) yang diacu oleh Glicksman (1983) menyimpulkan bahwa struktur dasar dari polisakarida yang terdapat pada alga merah berupa unit ikatan rantai  $\alpha$ -1,4 dan  $\beta$ -1,3 galaktosa. Adapun struktur molekul agar ditunjukkan pada Gambar 2.



**Gambar 2** Struktur molekul agar-agar (Glicksman, 1983)

Agarosa merupakan komponen agar-agar yang responsif terhadap pembentukan gel. Agarosa bersifat netral yang terdiri atas susunan unit dasar berulang dari agarobiosa yang merupakan disakarida tersusun oleh rantai 1,4 dan 3,6-anhidro-L-galaktosa dan 1,3-D-galaktosa. Agarosa juga mengandung metil-D-galaktosa dalam bentuk 6-O-metil-D-galaktosa yang jumlahnya berkisar yaitu antara 1-20 % atau 4-O-metil-galaktosa. Struktur molekul sel agar-agar tersebut tergantung dari spesies alga merah itu sendiri (Glicksman, 1983)

### 2.2.3 Pembentukan gel agar-agar

Peningkatan kekuatan gel dapat dihubungkan dengan peningkatan kadar agarosa atau penurunan kadar sulfat serta peningkatan kadar 3,6 anhidro-L-galaktosa (Glicksman, 1983). Karakteristik pembentukan gel agar-agar disebabkan oleh tiga buah atom H pada residu 3,6 anhidro-L-galaktosa yang memaksa molekul-molekul untuk membentuk struktur heliks. Interaksi antar struktur heliks menyebabkan terbentuknya gel. Penggantian senyawa 3,6-anhidro-

L-galaktosa oleh senyawa L-galaktosa sulfat menyebabkan kekacauan dalam struktur heliks dan dalam keadaan seperti ini kekuatan gel menjadi menurun. Adanya 3,6 anhidrogalaktosa akan menyebabkan sifat anhidrofilik dan meningkatkan pembentukan heliks rangkap sehingga terbentuk gel yang kuat (Stanley, 1966). Gel agar-agar bersifat *thermo reversible*. Bila gel agar-agar dipanaskan melewati titik cairnya maka gel akan mencair, tetapi bila larutan agar-agar ini dibiarkan menjadi dingin maka akan terbentuk kembali gel agar-agar tersebut.

### 2.3 Media Agar

Salah satu fungsi agar-agar yang penting, yaitu peranannya sebagai media pertumbuhan bakteri maupun jamur. Hal ini dilakukan dengan menambahkan zat-zat gizi tertentu yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri. Agar-agar untuk pertumbuhan bakteri diharapkan masih tetap cair bila didinginkan sampai suhu 42°C dan tetap kuat bila digunakan pada suhu 37°C, yaitu digunakannya suhu inkubator (Winarno, 1990).

Agar bakto merupakan agar-agar yang telah dimurnikan dengan mereduksi kandungan pengotor yang ada didalamnya, seperti pigmen-pigmen, kandungan garam (NaCl), dan kandungan bahan-bahan asing (organik dan inorganik) serendah mungkin sehingga dapat mendukung pertumbuhan mikroba secara umum (Gelrite®, 2003). Media agar atau kultur media adalah berbagai cairan atau padatan dengan beberapa nutrisi yang dapat digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Medium yang dibuat mirip dengan kondisi lingkungan dimana mikroorganisme biasanya tumbuh. Di dalam medium tersebut harus tersedia semua unsur yang dibutuhkan mikroorganisme untuk tumbuh.

Beberapa substansi penting yang dibutuhkan oleh mikroorganisme agar dapat tumbuh antara lain terdiri dari (Harrigan, 1998) :

- (a) air ;
- (b) nitrogen-persenyawaan nitrogen (contohnya peptida, protein, asam-asam amino, garam-garam anorganik) ;
- (c) sumber energi ( contohnya karbohidrat, peptida, asam-asam amino, protein) ;
- (d) beberapa faktor tumbuh lainnya.

Agar-agar bersifat lebih baik daripada gelatin bila digunakan sebagai bahan pupuk mikroba. Hal ini disebabkan karena bakteri tidak dapat mencairkan gel agar-agar, tetapi dengan mudah mencairkan gelatin menjadi larutan encer. Dengan demikian dapat berkembang beberapa jenis pupuk media, seperti *malt agar*; *potato-dextrose agar*, *heart extract agar*, dan lain sebagainya.

Persyaratan mutu internasional (standar) bagi agar-agar yang digunakan sebagai media pupuk mikroba, yaitu kadar abu maksimum adalah 5 persen, kadar organik asing maksimum 1 persen dan kadar abu tak larut dalam asam maksimum 1 persen (Winarno,1990). Standar mutu dari agar bakto *difco* dan agar bakto *serva* dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3 Standar mutu agar bakto *difco* dan agar bakto *serva***

Karakteristik mutu	Standar mutu	
	Agar bakto <i>difco</i> *	Agar bakto <i>serva</i> **
Kekuatan gel ( $g/cm^2$ , 1,5 % concentration )	613	400-900
Kadar air	$\leq 20 \%$	max. 15 %
Kadar abu	$\leq 6,5 \%$	max. 6,5 %
Garam ( <i>cond.as NaCl</i> )	-	max.0,05 %
pH	6,9	5,5 – 7
Sulfat	0,367 %	-

\*Gelrite® (2003)

\*\* [www.google.com/difco\\_bbl\\_manual\\_sample.pdf](http://www.google.com/difco_bbl_manual_sample.pdf)

## 2.4 Kitin

Kitin merupakan bahan yang paling banyak di alam setelah selulosa. Kitin adalah substansi organik kedua yang banyak ditemukan di bumi ini setelah selulosa, terdapat dalam berbagai spesies binatang (Darbon, 1986). Nama kitin berasal dari bahasa Yunani yaitu "choton" yang artinya mantel surat (*coat of mail*) (Lower, 1984 *diacu dalam* Shahidi *et al.*, 1999). Pada binatang perairan, kitin banyak ditemukan pada kerang-kerangan, contohnya pada karapas udang, cangkang rajungan dan sisik ikan. Keberhasilan produk kitin dan khitosan baru dinikmati oleh beberapa negara terutama Jepang. Permintaan kitin dan khitosan yang semakin meningkat dan kebutuhan terhadap penanganan masalah buangan

kulit udang atau kepiting pada industri-industri besar nampaknya akan segera meningkatkan aktivitas industri pemasok kitin dan khitosan (Angka dan Suhartono, 2000).

#### 2.4.1 Sumber kitin

Kitin merupakan biopolimer yang terdapat dalam eksoskeleton invertebrata dan polisakarida terbesar kedua setelah selulosa (Kittur *et al.*, 1998). Kitin atau poly- $\beta$ -(1-4)-N-Glukosamin terdapat pada invertebrata laut, serangga, fungi dan jamur. Kitin dan khitosan merupakan senyawa golongan karbohidrat yang dihasilkan dari limbah laut, khususnya golongan udang, kepiting, ketam, dan kerang (Angka dan Suhartono, 2000). Kitin juga dapat disintesis dari beberapa substrat menggunakan enzim kitin sintase (Sanford, 1989).

Walaupun tersebar luas di alam, sumber utama kitin yang dapat digunakan dalam pengembangan lebih lanjut adalah limbah udang berupa kepala dan kulit karena limbah ini mudah didapat dalam jumlah yang besar sebagai limbah hasil pengolahan udang (Suptijah *et al.*, 1992). Pada limbah kulit udang ini juga mengandung protein,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{MgCO}_3$ , serta pigmen *astaxanthine*.

Kandungan kitin pada limbah udang dan rajungan sebesar 20%-30% dari berat kering (Bough, 1975). Kitin dapat ditemukan pada limbah udang dan rajungan masing-masing sebesar 13%-15% dan 14%-17% (berat kering) tergantung spesies (Knorr, 1984). Kitin dapat juga diekstraksi dari limbah fermentasi asam sitrat oleh *Aspergillus niger*. Total 40.000 ton limbah industri dengan menggunakan kapang, mampu menghasilkan 10.000 ton kitin (Rha, 1984). Adapun komposisi dari limbah kulit udang dapat dilihat pada Tabel 4.

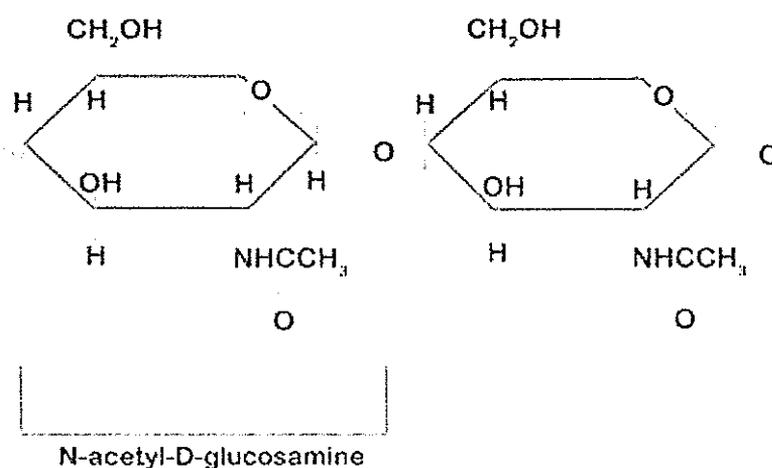
**Tabel 4 Komposisi limbah kulit udang (% berat kering)**

Sumber	Komposisi (% berat kering)		
	Protein	Kitin	Kalsium karbonat
Pengupasan tangan	27,2	57,4	15,3
Pengupasan mekanis	22,0	42,3	35,7

Sumber: Angka dan Suhartono

### 2.4.2 Sifat fisika dan kimia kitin

Kitin merupakan biopolimer polisakarida dengan rantai lurus yang tersusun dari 2000 sampai 3000 monomer N-asetil-D-glukosamin dan monomer-monomer tersebut tersusun dengan ikatan glikosidik  $\beta$ -1-4 (Bough, 1975). Senyawa kitin sama halnya dengan selulosa, bedanya terletak pada gugus rantai C-2, dimana gugus hidroksil pada C-2 digantikan oleh gugus asetil amino ( $-\text{NHCOCH}_3$ ) (Bastaman, 1989). Berat molekul kitin lebih dari  $1 \times 10^6$  dalton (Ashford *diacu dalam* Knorr, 1984). Struktur senyawa kitin disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3 Struktur senyawa kitin

Kitin berbentuk kristal dan tidak larut dalam larutan asam kuat (Meyer dan Wehrli *diacu dalam* Bastaman, 1989). Kitin mudah mengalami degradasi secara biologis, tidak beracun, tidak larut dalam air, asam organik encer dan asam-asam organik tetapi larut dalam larutan dimetil asctamida dan lithium khlorida (Ornum, 1992)

Pada umumnya mutu kitin ditentukan dari beberapa parameter yaitu bobot molekul, kadar air, kadar abu, kelarutan, warna dan derajat deasetilasi yang terukur. Karakteristik kitin berdasarkan standar mutu yang ditetapkan *protan laboratories* dapat dilihat pada Tabel 5.

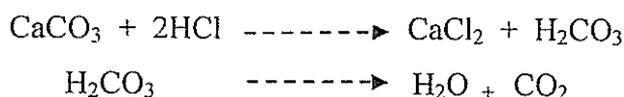
Tabel 5 Karakteristik mutu kitin

Parameter	Nilai
Ukuran partikel	Serpihan sampai serbuk
Kadar air	$\leq 10 \%$
Kadar abu	$\leq 2 \%$
Derajat deasetilasi	$> 15 \%$
Kelarutan :	
1. Air	Tidak
2. Pelarut Organik	Tidak
3. $\text{LiCl}_2$	Sebagian
<i>Biodegradasi organic profile</i>	Lisozim dan Kitinase

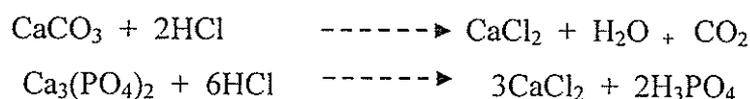
Sumber : Protan laboratories *diacu dalam* Suptijah *et al.* (1992)

### 2.4.3 Isolasi kitin

Proses pembuatan kitin meliputi penghilangan protein (deproteinasi) dan penghilangan mineral (demineralisasi) dari kulit udang atau rajungan (Muzzarelli, 1977). Deproteinasi dapat dilakukan sebelum atau sesudah demineralisasi. Deproteinasi dilakukan terlebih dahulu apabila protein yang terlarut akan dimanfaatkan lebih lanjut (Knorr, 1984). Reaksi proses demineralisasi disajikan pada Gambar 4



.....



Gambar 4 Reraksi proses demineralisasi

Protein dalam kulit udang dapat dihilangkan dengan pemberian perlakuan dengan larutan alkali, seperti NaOH. Larutan ini kemudian akan masuk ke celah-celah kulit udang untuk memutuskan ikatan antara protein dan kitin (Karmas, 1982). Peningkatan kecepatan ekstraksi secara nyata juga dapat dilakukan dengan penambahan natrium sulfit ( $\text{NaSO}_3$ ) dalam kondisi yang sesuai.

Kandungan mineral dalam kulit udang yang banyak mengandung kalsium dapat dihilangkan dengan penambahan perlakuan asam. Asam yang digunakan umumnya adalah asam klorida atau asam sulfit (Karmas, 1982). Demineralisasi juga dapat dilaksanakan dengan menambahkan asam formiat dan asam nitrit (Muzzarelli, 1977). Proses demineralisasi dapat berlangsung sempurna, apabila konsentrasi asam yang digunakan serendah mungkin dan disertai pengadukan yang konstan. Melalui pengadukan yang konstan diharapkan asam dalam konsentrasi yang rendah dapat bereaksi sempurna dengan bahan baku yang digunakan (Karmas, 1982).

Kitin sebagai material pelindung pada crustacean pada umumnya berbentuk mukopolisakarida yang berasosiasi dengan kalsium karbonat dan berikatan kovalen dengan protein (Austin, 1984). Jumlah protein yang terikat secara kovalen dapat mempengaruhi proses deproteinasi (Muzi, 1990). Namun, tidak semua protein berikatan kovalen dengan kitin, dimana sebagian protein hanya berikatan secara fisik.

## 2.5 Pemanfaatan Kitin

Penggunaan kitin begitu luas karena karakteristik kationiknya yakni mempunyai muatan listrik positif yang khas. Mengingat kitin merupakan hasil ekstraksi senyawa alami dan bukan dari bahan kimia sintetik, maka keamanan penggunaan kitin dapat lebih terjamin. Penggunaan kitin paling luas dalam pengolahan limbah air. Kitin melalui reaksi pengikatan (*chelating*) mampu menarik limbah beracun dari logam berat, seperti plumbum, merkuri, kadmium, uranium, arsenik dan lain-lain (Ditjen Perikanan, 1989). Aksi penyerapan oleh kitin ini dimulai dengan pembentukan polimer tidak stabil pada suspensi koloid. Kitin yang bermuatan positif akan menarik koloid yang bermuatan negatif (Hirano, 1989).

Selain itu berbagai manfaat senyawa kitin dalam industri lainnya dapat disebutkan sebagai berikut (Ditjen Perikanan, 1989) :

a. Bidang pertanian

Dalam bidang pertanian penggunaan kitin (komplek kitin dengan protein) dicampurkan ke dalam tanah untuk mengurangi resiko serangan cacing parasit tanah terhadap tanaman.

b. Bidang industri pangan.

Senyawa kompleks *microcrystalline chitine* (MCC), merupakan turunan kitin yang banyak digunakan sebagai bahan pengental (pembentuk gel) dan juga bermanfaat sebagai penstabil dan pembentuk tekstur. Kitin juga digunakan sebagai *immobilizing agents* pada enzim tubuh untuk memberikan efek lebih tinggi pada laju metabolisme sel dan meningkatkan permeabilitas sel. Kitin dapat menyaring zat-zat yang tidak diinginkan, seperti tannin dan juga mampu memurnikan minuman, seperti anggur, bir, juice, dan lain-lain.

c. Bidang Kesehatan

Turunan senyawa kitin dapat dijadikan benang jahit operasi tidak perlu dibuang dari tubuh karena dapat terurai dengan sendirinya (*bio-degradable*). Kitin digunakan sebagai pembungkus kapsul. Kitin juga mampu menurunkan kadar kolesterol pada hewan percobaan sehingga kemungkinan dapat digunakan sebagai obat anti kolesterol. Kemampuannya dalam mengumpulkan sel-sel leukemia, menjadikan zat ini cocok sebagai “*agent*” anti tumor. Senyawa kitin ini diusulkan untuk digunakan sebagai bahan pembuat membran ginjal buatan.

d. Bidang kosmetika

Industri perawatan kulit dan rambut menggunakan turunan kitin ini sebagai bahan pengemulsi (emulsifier), bahan pelembab, zat anti *static* dan juga emollients.

e. Pengolahan air limbah

Penggunaan kitin paling luas dan sudah begitu mapan dalam pengolahan limbah cair. Dengan membentuk suatu senyawa kompleks kitin ini dapat menarik dan menghilangkan residu insektisida (pestisida) dan cemaran

berasal dari minyak di dalam air. Melalui reaksi pengikatan (*chelating*) kitin juga mampu menarik limbah beracun dari logam berat seperti plumbum, arsenik dan merkuri.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



### 3. METODOLOGI

#### 3.1 Bahan dan Alat

Pada penelitian ini digunakan bahan-bahan dan alat yang meliputi dua macam bahan utama dan alat pada pembuatan agar bakto serta alat-alat dalam pengujian labolatorium. Alat-alat dan bahan yang digunakan antara lain ;

##### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua macam, yaitu bahan utama dan bahan kimia. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga laut *Gracilaria verrucosa*, kulit udang dan kontrol agar bakto *dicfo* yang sudah mengalami masa penyimpanan kurang lebih selama 8 bulan. Bahan kimia yang digunakan adalah larutan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,5 %,  $\text{NaOH}$  50 %,  $\text{HCl}$  1 N, akuades, asam borat 4 % yang ditambah larutan indikator merah metil,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat,  $\text{HCl}$  0,1 N,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_4$  (kalium kromat),  $\text{AgNO}_3$  (perak nitrat) 0,1N, kalium bromida ( $\text{KBr}$ ), barium klorida ( $\text{BaCl}_2$ ),  $\text{HCl}$  0,2 N,  $\text{H}_2\text{O}_2$  10 %, alkali- $\text{NaOH}$  35-40 % .

##### Alat

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

#### 3.2 Metode Penelitian

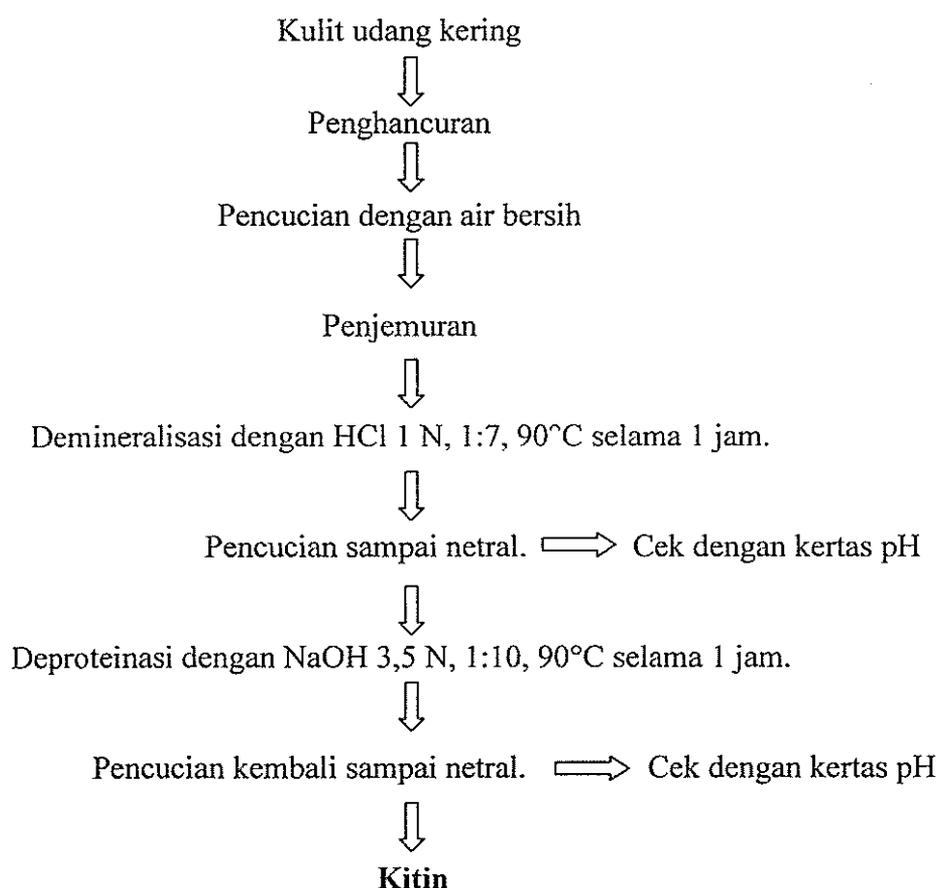
Penelitian dibagi menjadi dua tahap. Tahap pertama yaitu proses isolasi kitin. Tahap kedua yaitu pembuatan agar bakto dengan penambahan kitin terhadap waktu absorpsi. Agar bakto hasil penelitian yang paling mendekati nilai karakteristik mutunya dengan standar agar bakto *difco* dan agar bakto *serva*, akan digunakan sebagai agar bakto untuk media pertumbuhan mikroba yang

dibandingkan uji TPCnya dengan agar bakto kontrol *difco* dari laboratorium yang sudah mengalami masa simpan.

### 3.2.1 Pembuatan kitin

Tahapan penelitian pertama adalah proses isolasi kitin dengan menggunakan metode Suptijah *et al* (1992). Tahapan pembuatan kitin terdiri dari proses demineralisasi dan deproteinasi. Sebelum proses demineralisasi dilakukan, kulit udang dicuci dan dibersihkan terlebih dahulu kemudian dikeringkan dan dihancurkan. 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. Hasil proses deproteinasi ini adalah kitin. Tahapan isolasi kitin dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5** Skema proses isolasi kitin (Suptijah *et al*,1992)

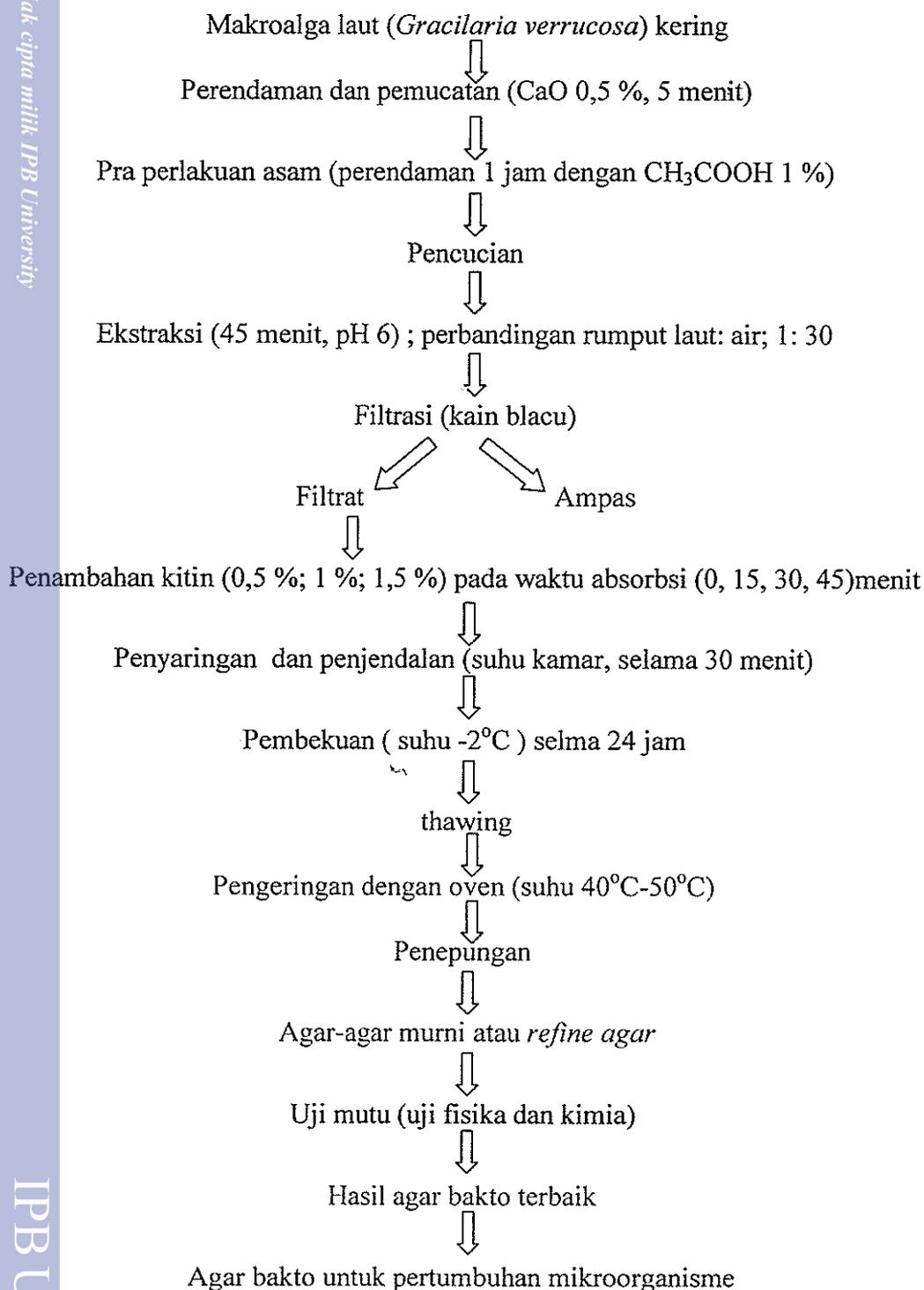
### 3.2.2 Pembuatan agar bakto

Jumlah kitin yang ditambahkan dalam pembuatan agar bakto ini yaitu 0,5 %, 1 %, dan 1,5 %, dan waktu proses absorpsi yaitu 0, 15, 30 dan 45 menit.

Tahapan pembuatan agar bakto dapat dilihat pada Gambar 6.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Gambar 6. Skema proses pembuatan agar bakto dari *Gracilaria verrucosa*

Makroalga laut (*Gracilaria verrucosa*) kering dibersihkan dan disortir dari kotoran-kotoran yang menempel 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 dengan mencuci makroalga dengan air mengalir sampai titik pH netral (pH = 7). Praperlakuan asam dilakukan dengan merendam *Gracilaria verrucosa* dengan menggunakan asam asetat 1 % selama 1 jam. *Gracilaria verrucosa* dicuci bersih sampai pH netral dan dihancurkan dengan blender untuk memudahkan proses ekstraksi.

Proses ekstraksi dilakukan pada suhu 90-95 °C selama 45 menit dengan perbandingan rumput laut dan air yaitu 1:30. Setelah proses ekstraksi selesai dilanjutkan dengan filtrasi, kemudian dilakukan proses pemurnian agar dengan menambahkan kitin sebanyak 0,5 %, 1 %, dan 1,5 %.

Proses absorpsi dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian kitin sebagai absorben terhadap logam dan zat-zat asing atau kotoran yang masih menempel. Lama waktu absorpsi dilakukan selama 0 menit, 15 menit, 30 menit dan 45 menit. Selanjutnya campuran agar-agar dari *Gracilaria* dan kitin disaring untuk memisahkan agar-agar murni dengan serbuk kitin. Proses berikutnya yaitu penjendalan agar-agar pada suhu kamar selama 30 menit. Setelah dijendalkan kemudian di bekukan didalam *freezer* selama 24 jam yang ditempatkan dalam loyang. Setelah beku agar-agar dilelehkan (*thawing*), kemudian agar-agar murni dikeringkan dengan menggunakan oven bersuhu (40-50)°C. Setelah agar-agar kering, kemudian dilakukan penepungan dengan menggunakan blender.

Tahap berikutnya dilakukan pengujian terhadap mutu agar-agar, yang meliputi analisis fisik, kimia dan mikrobiologis. Analisis fisik yang dilakukan meliputi pengukuran kekuatan gel dan rendemen. Analisis kimia yang dilakukan meliputi pengukuran nilai kadar air, kadar abu, kadar garam (NaCl), pengukuran nilai pH dan kadar sulfat. Analisis mikrobiologi dilakukan dengan uji kuantitatif total bakteri (TPC) pada agar bakto yang terpilih, menggunakan sample ikan mas segar. Pembuatan nutrient agarnya meliputi penambahan 3 gram agar bakto dalam 200 ml air destilasi, ditambah 1gram ekstrak sapi dan 2 gram peptone.

### 3.3 Prosedur Pengujian

Prosedur pengujian pada penelitian ini meliputi nilai kadar air, kadar abu, kadar garam, nilai pH, kadar sulfat, rendemen dan kekuatan gel.

#### 3.3.1 Analisis kadar air (AOAC, 1995)

Penentuan kadar air dilakukan berdasarkan perbedaan bobot contoh sebelum dan sesudah pengeringan. Mula-mula cawan kosong dikeringkan dalam oven 105°C selama 30 menit dan didinginkan dalam desikator. Kemudian ditimbang contoh sebanyak 2,0-3,0 gram dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 12 jam sampai beratnya konstan. Kemudian contoh yang sudah dikeringkan tersebut dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit, lalu ditimbang. Kadar air dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar air (BK)} = \frac{\text{Bobot awal contoh} - \text{bobot akhir contoh}}{\text{Bobot akhir contoh}} \times 100 \%$$

#### 3.3.2 Analisis kadar abu (AOAC, 1995)

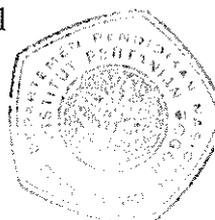
Contoh ditimbang sebanyak (2-3) gram dalam cawan kering yang telah diketahui beratnya. Kemudian dipijarkan dalam tanur bersuhu 600°C sampai diperoleh abu yang berwarna keputih-putihan. Cawan beserta abu dimasukkan ke dalam desikator dan setelah dingin ditimbang beratnya.

Cawan beserta abu dimasukkan kembali ke dalam tanur selama 30 menit dan didinginkan dalam desikator. Setelah dingin ditimbang kembali. Perlakuan ini diulang sampai diperoleh berat abu yang konstan. Kadar abu dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar Abu ( \% )} = \frac{\text{Berat abu}}{\text{Berat awal bahan}} \times 100\%$$

#### 3.3.3 Pengukuran kandungan garam (Apriyantono *et al.*, 1986)

Sampel agar-agar yang akan diuji diabukan terlebih dahulu setelah ditimbang beratnya sebanyak 5 gram. Sampel yang telah diabukan dalam cawan porselen diisi akuades sampai dengan  $\frac{3}{4}$  cawan. Abu dalam cawan porselen diaduk-aduk kemudian cairan tersebut ditempatkan ke dalam labu ukur 100 ml



dan ditambahkan akuades sampai dengan tanda tera. Selanjutnya dari labu ukur dipipet sebanyak 10 ml ke dalam *beaker glass* 50 ml dan ditambahkan  $K_2CrO_4$  (kalium kromat) 2-3 tetes. Kemudian dititrasi larutan perak nitrat 0.01 N ke dalam *beaker glass* sampai terbentuk endapan putih dan larutan menjadi berwarna oranye. Ini menandakan tercapinya titik akhir titrasi.

Perhitungan kandungan garam:

$$\% \text{ NaCl} = \frac{\text{volume AgNO}_3 \times \text{N AgNO}_3 \times 10 \times 5,85}{\text{mg contoh}} \times 100 \%$$

Volume  $AgNO_3$  adalah jumlah perak nitrat yang dibutuhkan dalam titrasi

Normalitas  $AgNO_3$  adalah 0,01 N

Faktor pengenceran (fp) adalah 10

### 3.3.4 Pengukuran nilai pH (AOAC, 1995)

Sampel dalam wadah diukur pH-nya dengan menggunakan pH-meter. Mula-mula pH-meter dinyalakan kemudian masukkan dalam buffer pH 4.31 dan pH 6.86 untuk dikalibrasi. Sampel ditimbang sebanyak 1 gram yang dilarutkan dalam 10 ml akuades lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur. Setelah itu sampel diukur dengan menggunakan pH-meter. Nilai yang diperoleh dari hasil pembacaan pada pH-meter selama 1 menit atau sampai angka digital yang menunjukkan nilai pH tidak berubah atau tetap.

### 3.3.5 Analisis kadar sulfat (Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan, 1991)

Satu gram contoh dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 50 ml asam klorida 0.2 N. Erlenmeyer tersebut dipasangkan ke kondensor, dipanaskan sampai mendidih dan direfluks selama 1 jam. Setelah itu ditambahkan 25 ml larutan hidrogen peroksida 10% dan refluks dilanjutkan selama 5 jam sampai larutan benar-benar jernih.

Larutan hasil refluks dipindahkan ke dalam gelas piala 600 ml dan dipanaskan sampai mendidih. Kemudian ditambahkan 10 ml barium klorida 10% setetes demi setetes hingga terbentuk endapan. Endapan yang terbentuk disaring bersih dengan kertas saring bebas abu. Selanjutnya endapan yang terdapat pada

kertas saring dicuci dengan akuades sehingga bebas khlorida. Kertas saring tersebut dikeringkan di dalam oven dan diabukan pada suhu 1000 °C dalam tanur sampai didapatkan abu berwarna putih. Setelah dingin kemudian dimasukkan ke dalam desikator dan ditimbang.

$$\text{Kadar Sulfat (\% SO}_4\text{)} = \frac{\text{Berat akhir barium sulfat (mg)}}{\text{Berat contoh (mg)}} \times 0.4116 \times 100\%$$

### 3.3.6 Rendemen agar-agar

Rendemen agar dihitung berdasarkan berat rumput laut (*anhydrous weed*).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat agar kering}}{\text{Berat rumput laut kering}} \times 100 \%$$

### 3.3.7 Pengukuran kekuatan gel (Modifikasi metode Hoyle, 1976 yang diacu dalam Sukamulyo, 1989)

Larutan agar-agar disiapkan dengan konsentrasi 1,5 %, kemudian dipanaskan selama 10 menit sambil diaduk. Berat total sebelum dan sesudah pemanasan dijaga konstan. Larutan panas dimasukkan ke dalam cetakan yang berdiameter 3 cm dan tinggi 4 cm. Larutan agar-agar dibiarkan membentuk gel selama satu malam. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan *curd meter*. Gel dari cetakan ditempatkan pada alat pengukur. Kondisi pengukurannya diacu sebagai berikut:

- (a) batang penekan berdiameter 0,56 cm dengan luas permukaan (S) 0,25 cm<sup>2</sup> digunakan untuk pengujian pada agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* ;
- (b) beban dan pegas 100 gram ;
- (c) laju penetrasi batang penekan sebesar 0,36 cm/detik ;

Setelah posisi batang penekan tepat di tengah permukaan gel, *Curd meter* diaktifkan sampai batang penekan menembus permukaan gel. Pembacaan dilakukan melalui grafik *Curd meter*.

Kekuatan gel dihitung dengan rumus :

$$\text{Kekuatan gel (Breaking Strenght)} = F/S \times 1 \text{ g/cm}^2$$

Keterangan : F = tinggi kurva

### 3.3.8 Derajat deasetilasi pada kitin (More dan Robert yang diacu dalam Suptijah *et al.*, 1992)

Pengukuran derajat deasetilasi menggunakan FTIR atau *Fourier's Transform Infra Red spectrophotometry*. Sampel dihaluskan terlebih dahulu kemudian dicampurkan dengan blanko yaitu KBr dan dimasukkan ke dalam kuvet. Lalu sampel dalam kuvet dimasukkan ke dalam spektrofotometer.

Pengukuran derajat deasetilasi diukur berdasarkan kurva yang tergambar oleh spektrofotometer. Puncak tertinggi dicatat dan diukur berdasarkan garis dasar yang dipilih. Nilai absorbansi dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Absorbansi} = \text{Log} \frac{P_0}{P}$$

Perbandingan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang  $1.655 \text{ Cm}^{-1}$  dengan absorbansi  $3.450 \text{ Cm}^{-1}$ . Selanjutnya derajat deasetilasi dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Derajat deasetilasi (\%)} = \{1 - [A_{1.655}/A_{3.450} \times 1/1,33]\} \times 100 \%$$

Keterangan :

$P_0$  = Jarak antara garis dasar dengan garis singgung antara dua puncak tertinggi pada bilangan gelombang (*wavenumber*)  $1.655 \text{ Cm}^{-1}$  atau bilangan gelombang (*wavenumber*)  $3.450 \text{ Cm}^{-1}$

$P$  = Jarak antara garis dasar dengan garis garis dasar dengan lembah terendah pada bilangan gelombang (*wavenumber*)  $1.655 \text{ Cm}^{-1}$  atau bilangan gelombang (*wavenumber*)  $3.450 \text{ Cm}^{-1}$

$A_{1.655}$  = Absorban pada bilangan gelombang (*wavenumber*)  $1.655 \text{ Cm}^{-1}$

$A_{3.450}$  = Absorban pada bilangan gelombang (*wavenumber*)  $3.450 \text{ Cm}^{-1}$

1,33 = Konstanta untuk derajat deasetilasi yang sempurna

### 3.4 Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan dalam penelitian adalah rancangan acak lengkap faktorial dengan dua faktor

Faktor perlakuan yang digunakan adalah :

- (1) Berbagai waktu proses absorpsi pada tahapan akhir proses pembuatan agar bakto, yaitu 0 menit, 15 menit, 30 menit, dan 45 menit.
- (2) Berbagai konsentrasi kitin yang ditambahkan pada tahapan pemurrian agar bakto, yaitu konsentrasi 0,5 %, 1 %, dan 1,5 %

Model yang digunakan dalam rancangan ini adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

$Y_{ijk}$  = Variabel respon hasil pengamatan untuk faktor A level ke-i, faktor B level ke j pada ulangan ke-k

$\mu$  = Pengaruh rata-rata yang sebenarnya

$\alpha_i$  = Pengaruh penambahan konsentrasi kitin ( 0,5 %, 1 % dan 1,5 %)

$\beta_j$  = Pengaruh berbagai waktu proses absorpsi pada tahapan pembuatan agar bakto (0 menit, 15 menit, 30 menit dan 45 menit) setelah penambahan kitin

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Interaksi kedua faktor pada level ke-i dan level ke-j

$\epsilon_{ijk}$  = Sisaan percobaan untuk level pengaruh penambahan konsentrasi kitin (0,5 %, 1 %, 1,5 %) level ke-I. Pengaruh waktu proses absorpsi (15 menit, 30 menit dan 45menit).

Setelah dilakukan analisis ragam apabila diperoleh adanya suatu data dari analisa ragam yang berbeda nyata (ditunjukkan dengan nilai  $F_{hitung}$  yang lebih besar daripada  $F_{tabel}$  (0,05 %)), maka dilakukan uji lanjutan perbandingan wilayah berganda Duncan (*Duncan Multiple Range Test*) untuk menguji perbedaan diantara semua pasangan perlakuan yang mungkin.



## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Mutu Kitin

Nilai mutu kitin dapat dilihat dari beberapa parameter. Parameter ini antara lain mencakup kadar air, kadar abu, nilai derajat deasetilasi, ukuran partikel dan kelarutannya (*Protan laboratories diacu dalam Suptijah et al., 1992*). Hasil uji karakteristik mutu kitin pada penelitian ini disajikan pada Tabel 6.

**Tabel 6 Hasil uji karakteristik mutu kitin**

Parameter	Hasil
Ukuran partikel	Butiran/bubuk
Kadar air (% berat kering)	7,30 %
Kadar abu (% berat kering)	0,56 %
Derajat deasetilasi (%)	55,39 %

Kadar air kitin dipengaruhi oleh kelembaban udara sekeliling tempat penyimpanan. Kitin disimpan di dalam kemasan plastik yang ditutup rapat agar tidak berhubungan langsung dengan udara bebas. Pengemasan ini dilakukan untuk mencegah terjadinya penyerapan uap air dari udara bebas oleh kitin karena sifat kitin yang higroskopis. Nilai kadar air kitin yaitu sebesar 7,3 %. Nilai ini dikategorikan baik karena telah memenuhi standar yang telah ditentukan oleh *Protan Laboratories* yaitu  $\leq 10$  %.

Nilai kadar abu yang diperoleh yaitu sebesar 0,56 %. Nilai ini telah memenuhi standar yang telah ditentukan oleh *Protan Laboratories* yaitu  $\leq 2$  %. Kadar abu kitin dipengaruhi oleh efektivitas proses demineralisasi dan proses *dewatering*. Proses demineralisasi dengan larutan HCl 1N pada suhu 90 °C selama 1 jam menurut Suptijah *et al.* (1992) merupakan proses optimum dalam demineralisasi. Pencucian dengan air bersih yang berulang-ulang diharapkan mampu menurunkan kandungan mineral yang masih terdapat pada kulit udang setelah proses demineralisasi. Semakin baik proses pencucian yang dilakukan, maka diharapkan kadar abu kitinnya semakin rendah. Oleh karena itu keberhasilan suatu proses demineralisasi dengan menggunakan larutan HCl dapat

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ditentukan dengan melihat nilai kadar abu dari kitin yang dihasilkan (Angka dan Suhartono, 2000).

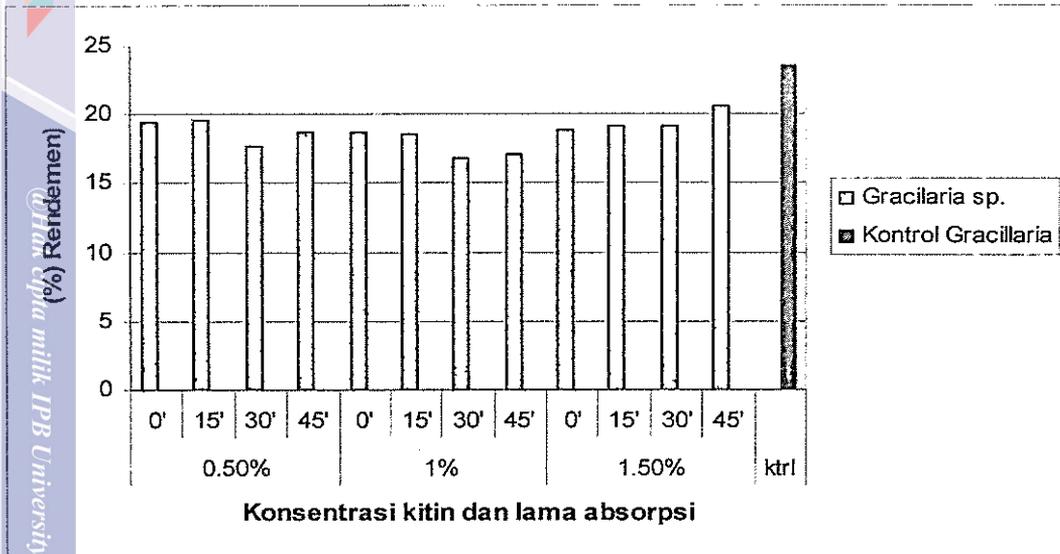
Derajat deasetilasi adalah salah satu parameter penting dalam menentukan mutu kitin. Proses deasetilasi adalah penghilangan gugus asetil. Semakin banyak gugus asetil yang hilang maka efektifitas dari kitin semakin baik karena kemampuannya sebagai pengabsorpsi akan semakin tinggi. Kitin yang dihasilkan mempunyai derajat deasetilasi sebesar 55,39 %. Nilai ini telah memenuhi standar mutu kitin yang dipersyaratkan *Protan Laboratories* yaitu  $\geq 15$  % (Suptijah *et al.*, 1992).

## 4.2. Penelitian Utama

Pada penelitian utama dilakukan proses pembuatan agar bakto. Dalam tahap ini digunakan penambahan kitin dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 1,5% dan waktu absorpsi 15, 30 dan 45 menit. Adapun parameter yang diukur untuk mutu agar bakto yaitu parameter fisik dan kimia, yang meliputi kadar air, kadar abu, kadar garam, nilai pH agar bakto, kadar sulfat, dan kekuatan gel. Hasil terbaik ditentukan berdasar nilai mutu agar bakto yang paling mendekati standar agar bakto *difco* dan standar agar bakto *serva*. Mutu standar agar bakto *difco* dan standar agar bakto *serva* dapat dilihat pada Tabel 3. Agar bakto dengan mutu terbaik, kemudian digunakan sebagai media untuk menumbuhkan mikroorganisme dari ikan mas (uji total bakteri / *Total Plate Count*) dan dibandingkan dengan kontrol agar bakto *difco* yang sudah mengalami masa simpan kurang lebih 8 bulan.

### 4.2.1 Rendemen agar bakto

Nilai rendemen agar bakto dihitung berdasarkan perbandingan berat agar bakto yang dihasilkan terhadap berat kering rumput laut. Nilai rata-rata rendemen agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* berkisar antara 16,85 % hingga 20,61 %. Nilai rendemen agar-agar kontrol tanpa perlakuan kitin, yaitu 23,6 %.. Berdasarkan Gambar 7 diketahui bahwa nilai rendemen tertinggi adalah 20,61%, terdapat pada kombinasi perlakuan penambahan kitin 1,5 % dan lama waktu absorpsi selama 45 menit. Perbandingan nilai rata-rata rendemen pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 7.



**Gambar 7** Nilai rendemen agar bakto dari perlakuan penambahan kitin dan waktu absorpsi yang berbeda

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan berbagai konsentrasi kitin memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai rendemen agar bakto dari *Gracilaria verrucosa*. Namun, lama waktu absorpsi dan interaksi penambahan kitin dan lama absorpsi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai rendemen agar bakto dari *Gracilaria verrucosa*.

Hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* menunjukkan perbedaan yang nyata antara nilai rendemen agar bakto dari perlakuan penambahan kitin 1 % dengan 1,5 %. Sedangkan antara perlakuan penambahan kitin 0,5 % dengan 1 % dan perlakuan penambahan kitin 0,5 % dengan 1,5 % tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap nilai rendemen agar bakto dari *Gracilaria verrucosa*.

Nilai rendemen agar bakto berdasarkan Gambar 7 dan hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* memperlihatkan kecenderungan yang menurun pada konsentrasi 0,5 % dengan 1 % dan naik kembali pada konsentrasi 1,5 %. Fenomena penurunan nilai rendemen agar bakto ini dapat disebabkan karena saat penambahan kitin 0,5 % dan 1 % ke dalam filtrat agar-agar, daya absorpsi kitin terhadap senyawa pengotor yang berat molekulnya lebih kecil dari kitin belum maksimum yang menyebabkan banyaknya rongga-rongga di dalam kitin yang masih belum terisi sedangkan pada permukaan kitin ikut terikat juga komponen

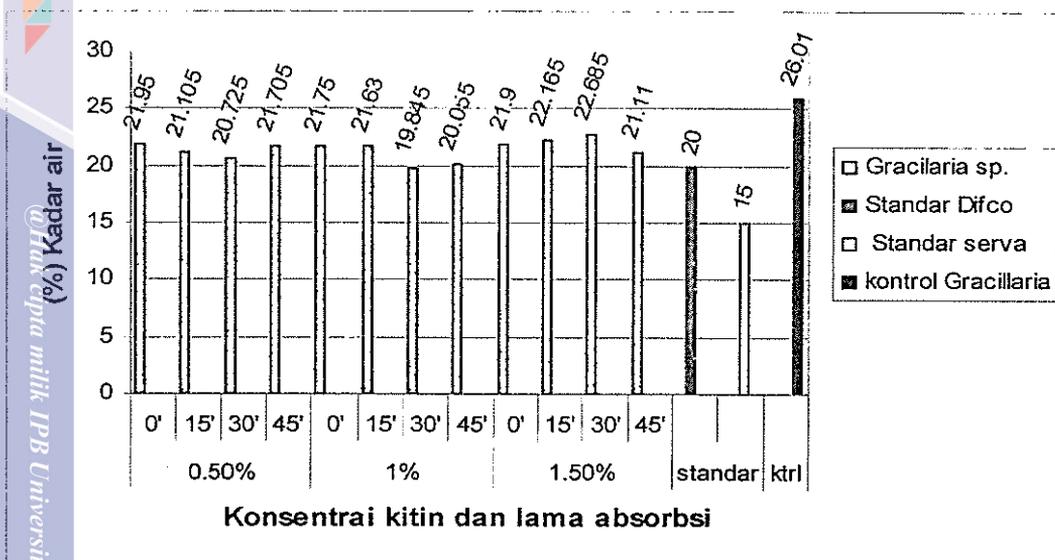
agar. Semakin banyak pengotor yang terserap baik kedalam pori-pori atau dipermukaan kitin, maka semakin sedikit kemungkinan terikatnya agar dipermukaan kitin. Hal ini menyebabkan nilai rendemen agar bakto menjadi menurun. Selain itu, banyaknya molekul agar-agar yang masih menempel pada serbuk kitin juga menjadi sebab menurunnya nilai rendemen ini.

Adanya kecenderungan rendemen agar bakto yang mengalami kenaikan pada penambahan konsentrasi 1,5 %, dapat disebabkan karena daya absorpsi kitin terhadap senyawa pengotor yang berat molekulnya lebih rendah dari molekul agar-agar telah optimum. Kitin dalam filtrat agar-agar akan menyerap lebih cepat terhadap senyawa yang berat molekulnya lebih rendah. Akibatnya kitin akan menyerap senyawa pengotor yang berat molekulnya rendah terlebih dahulu. Setelah semua senyawa pengotor terserap maksimal oleh kitin maka molekul agar-agar dalam filtrat tidak ikut terserap oleh kitin, sehingga nilai rendemen agar baktanya menjadi lebih tinggi.

#### 4.2.2 Kadar air agar bakto

Nilai kadar air dari agar bakto dapat dipengaruhi oleh proses pengeringannya, baik yang menggunakan oven (secara mekanik) atau menggunakan sinar matahari. Pada pengeringan secara mekanik dengan menggunakan oven maka faktor-faktor seperti suhu, kelembaban udara dan aliran udara akan dapat mempengaruhi proses pengeringan yang berlangsung (Winarno, 1991).

Nilai rata-rata kadar air agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* berkisar antara 19,85 % hingga 22,68 %. Nilai kadar air standar agar bakto *difco* dan agar bakto *serva* yaitu 20 % dan 15 %. Berdasarkan Gambar 8 dapat diketahui nilai kadar air agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* yang paling mendekati nilai kadar air standar agar bakto *difco* dan agar bakto *serva* yaitu pada perlakuan penambahan kitin 1 % dan waktu proses absorpsi selama 30 menit yaitu sebesar 20,55 %. Kadar air agar bakto sebelum dimurnikan dengan menggunakan kitin sebesar 26,01 % dan setelah dimurnikan menjadi 19,85 % - 22,68 %. Perbandingan nilai rata-rata kadar air pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 8.



**Gambar 8** Nilai kadar air agar bakto dari perlakuan penambahan kitin dan waktu absorpsi yang berbeda

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kitin 0,5 % hingga 1,5 % dan waktu absorpsi 0 sampai 45 menit pada pembuatan agar bakto memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar airnya. Hasil analisis ragam interaksi penambahan kitin dan waktu absorpsi juga memperlihatkan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar air agar bakto.

Hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test*, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada nilai kadar air agar bakto untuk semua perlakuan konsentrasi kitin. Berdasarkan hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* juga menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata pada nilai kadar air agar bakto untuk perlakuan waktu absorpsi selama 0 dengan 45 menit. Waktu absorpsi 15 dengan 30 menit, 15 dengan 45 menit dan 30 dengan 45 menit tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap kadar air agar bakto.

Nilai kadar air agar bakto berdasarkan Gambar 8 dan hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* memperlihatkan kecenderungan yang menurun pada konsentrasi 0,5 % dengan 1 % dan naik kembali pada konsentrasi 1,5 %. Penurunan kadar air agar bakto ini dapat disebabkan karena senyawa pengotor yang ada pada filtrat agar-agar telah terserap secara maksimal oleh kitin. Senyawa pengotor pada agar bakto dapat mengikat air bebas. Oleh karena itu dengan terserapnya senyawa pengotor ini maka semua air bebas dalam agar bakto dapat diuapkan atau dikeringkan pada saat proses pengeringan agar bakto. Akibat

proses ini maka kadar air agar bakto akan mengalami penurunan. Selain itu terjadinya penurunan kadar air ini dapat disebabkan akibat adanya gugus hidrofilik pada kitin yang mampu mengikat air. Hal ini senada dengan yang didapatkan Nur (1999), bahwa penambahan kitin pada konsentrasi 0,5 % hingga 1,5 % dapat mengurangi kadar air pada proses pemucatan ikan lemuru, yang ditandai dengan semakin kecilnya nilai absorbansi kekeruhan minyak ikan tersebut.

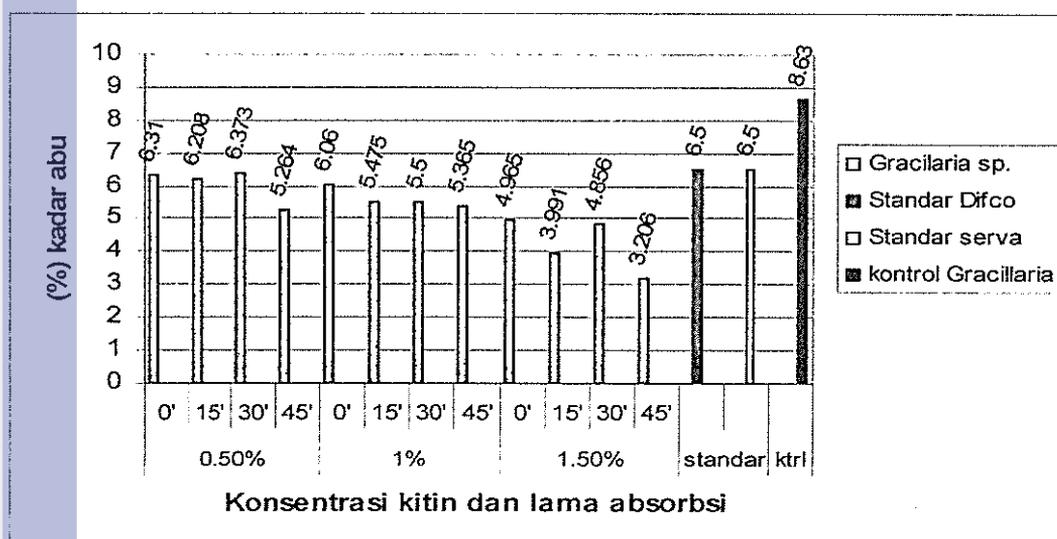
Kecenderungan meningkatnya nilai kadar air agar bakto pada perlakuan penambahan kitin 1,5 % dapat disebabkan karena masih tersisnya senyawa pengotor pada filtrat agar-agar akibat daya absorpsi kitin yang sudah maksimum. Daya absorpsi kitin yang sudah maksimum tidak lagi dapat menyerap senyawa pengotor sehingga sisa senyawa pengotor yang ada ini masih dapat mengikat air. Akibatnya nilai kadar air pada agar bakto menjadi semakin tinggi.

Berdasarkan hasil kadar air pada semua perlakuan didapatkan nilai kadar air agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* masih berada pada kisaran nilai kadar air standar agar bakto *difco*. Namun, jika dibandingkan dengan nilai kadar air standar agar bakto *serva* maka semua kadar air agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* masih lebih tinggi dari agar bakto *serva*. Hal ini berarti nilai kadar air agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* pada semua perlakuan masih memberikan hasil yang cukup baik jika dibandingkan dengan kadar air agar bakto *difco*.

#### 4.2.3 Kadar abu agar bakto

Abu atau mineral merupakan komponen yang tidak mudah menguap pada waktu pembakaran dan pemijaran senyawa organik atau bahan alam. Pada proses pembakaran, bahan-bahan organik akan terbakar, sedangkan zat anorganik tidak terbakar tetapi membentuk abu. Kadar abu dalam bahan pangan ditetapkan dengan menimbang sisa mineral sebagai hasil pembakaran bahan organik. Kadar abu yang terkandung dalam suatu produk menunjukkan tingkat kemurnian produk tersebut. Tingkat kemurnian ini sangat dipengaruhi oleh komposisi dan kandungan mineralnya. Unsur-unsur mineral seperti, natrium, klor, kalsium, fosfor, magnesium, belerang dan sebagainya, dikenal sebagai zat anorganik atau kadar abu (Fardiaz, 1986).

Nilai rata-rata kadar abu agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* yaitu antara 3,21 % sampai dengan 6,37 %. Kadar abu agar bakto sebelum dimurnikan dengan menggunakan kitin sebesar 8,63 % dan setelah dimurnikan menjadi 3,21 % hingga 6,37 %. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan kitin dapat menurunkan nilai kadar abu agar bakto. Penurunan kadar abu agar bakto dapat disebabkan akibat sifat kitin yang dapat mengikat logam atau mineral. Adanya gugus reaktif  $\text{NHCOCH}_3$  memungkinkan kitin dapat bertindak sebagai pengkelat logam yang terdapat pada agar bakto. Perbandingan nilai rata-rata kadar abu berdasarkan berat kering pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 9. Berdasarkan Gambar tersebut nilai kadar abu agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* semua masih berada dibawah nilai standar kadar abu agar bakto *difco* dan agar bakto *serva* yang besar kadar abunya 6,5 %.



**Gambar 9** Nilai kadar abu agar bakto dengan penggunaan kitin dan waktu absorpsi yang berbeda

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pada penambahan konsentrasi kitin memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar abu agar bakto. Hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test*, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara nilai kadar abu agar bakto untuk perlakuan konsentrasi kitin 0 dan 1 % serta 0 dan 1,5 %. Namun pada perlakuan 1 % dan 1,5 % yang tidak memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap nilai kadar abu agar bakto.

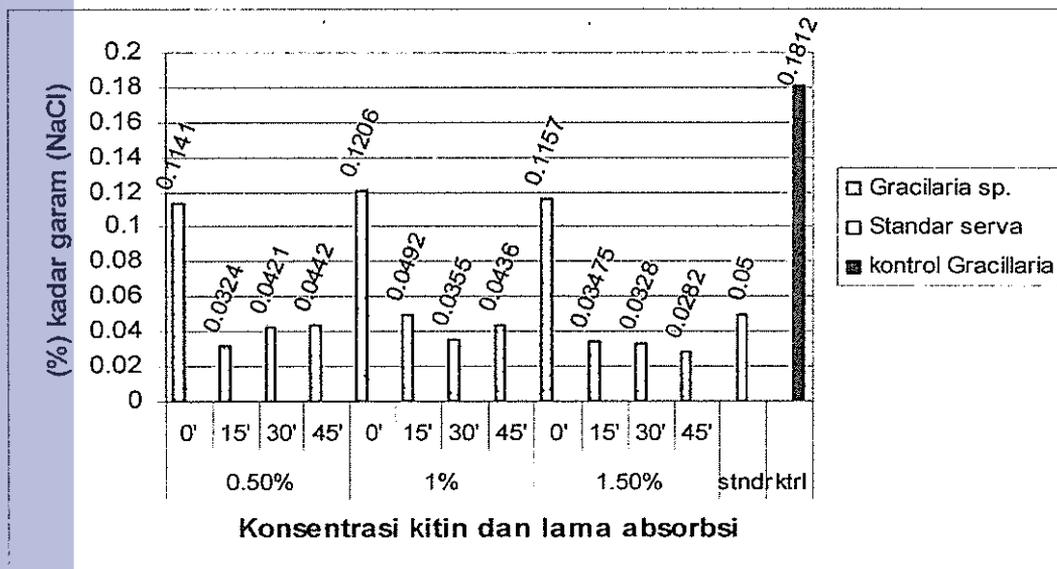
Hasil analisis ragam terhadap berbagai lama waktu proses absorpsi juga memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar abu agar bakto. Hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test*, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara nilai kadar abu agar bakto untuk perlakuan lama waktu absorpsi 15 menit dengan 45 menit. Sedangkan untuk perlakuan lama waktu absorpsi 0 menit dengan 30 menit tidak memberikan perbedaan terhadap nilai kadar abu bakto. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi kedua perlakuan penambahan konsentrasi kitin dan waktu absorpsi tidak berpengaruh terhadap nilai kadar abu agar bakto dari *Gracilaria verrucosa*.

Berdasarkan Gambar 9 terlihat bahwa nilai kadar abu dari agar bakto mengalami fluktuasi pada tiap perlakuan. Nilai kadar abu agar bakto *Gracilaria verrucosa* setelah penambahan kitin lebih rendah dari nilai kadar abu agar-agar *Gracilaria verrucosa* tanpa penambahan kitin. Hal ini dapat terjadi karena kitin dapat mengabsorpsi zat-zat pengotor (*impurities*) berbentuk garam-garam mineral seperti  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{NaSO}_4$ , dan mineral seperti kalium, kalsium, fosfor, natrium, zat besi dan iodium (Anggadireja, 1993). Dengan demikian kadar abu agar bakto yang diperoleh dengan perlakuan penambahan kitin lebih rendah daripada kadar abu dari agar sebelum ditambahkan kitin. Komponen-komponen pengotor (*impurities*) dalam *Gracilaria* (agar-agar) dapat berupa garam-garam mineral, galaktan sulfat, garam-garam sulfat, dan beberapa mineral-mineral lainnya yang terikat pada struktur dari molekul agar, dan dapat mempengaruhi karakteristik fisik dan kimiawinya (Kojima dan Funaki, 1951).

Nilai kadar abu agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* semuanya lebih kecil dari nilai standar kadar abu agar bakto *difco* dan agar bakto *serva*. Hal ini memperlihatkan bahwa hasil kadar abu agar bakto *Gracilaria verrucosa* dari semua perlakuan masih lebih baik dari kadar abu agar bakto *difco* dan agar bakto *serva*. Kadar abu agar bakto sedapat mungkin tidak lebih besar dari kontrol kadar abu agar bakto *difco*. Karena nilai kadar abu yang berlebihan dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan yang dikatakan Pelczar dan Chan (1986) bahwa semua organisme hidup membutuhkan beberapa unsur logam seperti Na, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu dan Co, begitu pula dengan bakteri namun dalam jumlah yang sedikit (*trace element*).

#### 4.2.4 Kadar garam (NaCl) agar bakto

Nilai rata-rata kadar garam agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* berkisar antara 0,0282 % hingga 0,1206 %. Nilai kadar garam untuk standar agar bakto *serva* yaitu maksimum adalah 0,05 %. Kadar garam agar bakto sebelum ditambahkan dengan menggunakan kitin sebesar 0,1812 %. Perbandingan nilai rata-rata kadar garam (NaCl) pada agar agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 10. Berdasarkan Gambar 10 didapatkan bahwa nilai kadar garam agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* yang paling mendekati nilai kadar garam agar bakto standar *serva* yaitu pada perlakuan penambahan konsentrasi kitin 1 % dan waktu proses absorpsi selama 15 menit yaitu sebesar 0,0492 %.



**Gambar 10 Nilai kadar garam agar bakto dengan penggunaan kitin dan waktu absorpsi yang berbeda**

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kitin 0,5 % hingga 1,5 % dan waktu absorpsi 0 sampai 45 menit pada pembuatan agar bakto memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar garamnya. Penggunaan kitin memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar garam agar bakto. Dari hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test*, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara nilai kadar garam agar bakto untuk semua perlakuan konsentrasi kitin

Lama waktu absorpsi juga memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar garam agar bakto. Dari hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara nilai kadar garam agar bakto untuk perlakuan waktu absorpsi selama 0 menit, 30 menit dan 45 menit. Namun pada perlakuan waktu absorpsi selama 15 menit tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar garam agar bakto dari *Gracilaria verrucosa*. Hasil analisis ragam interaksi penambahan kitin dan waktu absorpsi juga memperlihatkan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar garam agar bakto.

Kadar garam untuk agar bakto untuk pertumbuhan mikroba dikondisikan sebagai garam NaCl (Harrigan, 1998). Kadar NaCl dalam alga laut tergantung dari karakteristik fisik dan kimiawi alga laut itu sendiri. Garam-garam dalam struktur dinding sel alga laut terikat pada dinding luar sel alga laut dan pada bagian dalam dari dinding sel tersebut. Garam-garam tersebut terikat dengan mineral-mineral lainnya dalam struktur sel alga laut (Glicksman, 1982). Kadar garam sangat mempengaruhi dari karakteristik agar bakto untuk media bakteriologis. Kadar garam yang dikondisikan sebagai NaCl pada agar bakto atau agar media bakteriologis maksimum adalah 0,05 % (Harrigan, 1998).

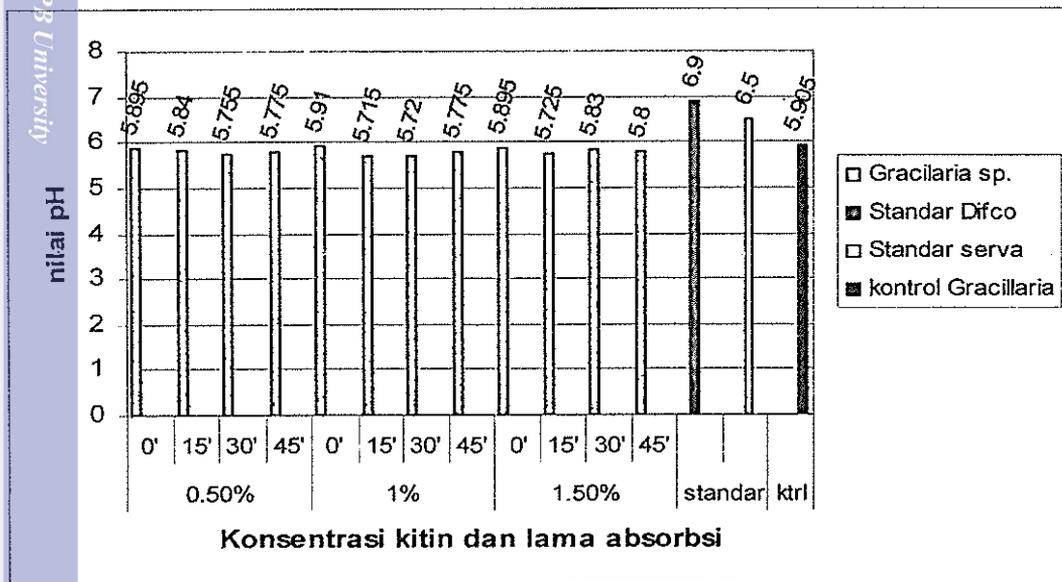
Berdasarkan nilai kadar garam standar agar bakto *serva*, yaitu maksimum sebesar 0,05 %, maka kadar garam agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* dengan penambahan kitin 0,5 %, 1 % dan 1,5 % pada lama absorpsi 15, 30 dan 45 menit dikategorikan baik. Hal ini dikarenakan kadar garam agar bakto hasil penelitian tidak melebihi standar maksimum kadar garam standar agar bakto *serva*.

#### 4.2.5 Nilai pH agar bakto

Nilai pH pada medium pertumbuhan mikroorganisme berpengaruh pada kehidupan dan pertumbuhan dari mikroorganisme itu sendiri. Mikroorganisme pada umumnya dapat tumbuh pada kisaran pH 4,0 – 9,0. Namun beberapa spesies dapat tumbuh pada kondisi sangat masam atau sangat alkalin (Pelczar dan Chan, 1986).

Nilai rata-rata pH (derajat keasaman) agar bakto yang dihasilkan dari *Gracilaria verrucosa* berkisar antara 5,72 hingga 5,91. Nilai rata-rata pH agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* tidak mengalami perubahan yang signifikan dari nilai pH agar *Gracilaria verrucosa* sebelum ditambahkan dengan kitin, yaitu

sebesar 5,78. Nilai pH dari standar agar bakto *Difco* adalah 6,9 dan nilai pH dari standar agar bakto *serva* yaitu 6,5. Berdasarkan Gambar 11 dapat diketahui nilai kadar pH agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* yang paling mendekati nilai pH standar agar bakto *serva* dan agar bakto *difco* yaitu perlakuan penambahan konsentrasi kitin 1 % dan waktu absorpsi lebih 0 menit sebesar 5,91. Perbandingan nilai rata-rata pH berdasarkan berat kering pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 11.



**Gambar 11 Nilai kadar pH agar bakto dengan penggunaan kitin dan waktu absorpsi yang berbeda**

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama waktu absorpsi kitin memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar pH agar bakto dari *Gracilaria verrucosa*. Namun, pengaruh penambahan kitin dan interaksi perlakuan penambahan kitin dan waktu absorpsi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar pH agar bakto.

Berdasarkan hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata terhadap nilai pH agar bakto pada perlakuan waktu absorpsi 0 dengan 45 menit, 0 dengan 30 menit dan 0 dengan 15 menit. Sedangkan pada perlakuan pada perlakuan lama absorpsi 15 dengan 30 menit, 15 dengan 45 menit dan 30 dengan 45 menit tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata terhadap nilai pH agar bakto.

Berdasarkan Gambar 11 dan hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* memperlihatkan adanya kecenderungan penurunan nilai pH pada lama waktu absorpsi 0 dengan 15 menit. Penurunan nilai pH ini dapat disebabkan karena terurainya senyawa-senyawa garam seperti  $\text{CaSO}_4$ ,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4$ , maupun  $\text{K}_3\text{PO}_4$  menjadi kation dan anionnya masing-masing yang bersifat asam dan basa. Ion-ion hasil penguraian senyawa garam tersebut, seperti  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , dan  $\text{K}^+$  yang bermuatan positif dan berbobot molekul rendah akan terlebih dahulu terserap oleh kitin. Kitin yang telah lama ditambahkan dalam filtrat agar-agar akan mengalami penguraian pada gugus  $\text{NH}_2$  nya menjadi  $\text{NH}^-$  dan  $\text{H}^+$  yang terdapat di permukaan dan rongga pada kitin. Gugus  $\text{NH}^-$  yang reaktif akan lebih dahulu menangkap ion-ion  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , dan  $\text{K}^+$  atau ion-ion tersebut terabsorpsi oleh kitin akibat bobot molekulnya yang rendah sehingga pada filtrat agar-agar hanya tersisa anion-anion  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  atau  $\text{PO}_4^{3-}$  yang bersifat asam. Akibat dari pengikatan gugus kationik  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , dan  $\text{K}^+$  dan hanya menyisakan anion-anion  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  atau  $\text{PO}_4^{3-}$  yang bersifat asam maka akan menyebabkan penurunan nilai pH pada agar bakto

Nilai pH agar bakto dapat mempengaruhi pertumbuhan dari mikroorganisme yang akan ditumbuhkan pada media agar. Kebanyakan bakteri mempunyai pH optimum sekitar pH 6,5-7,5. Pada pH dibawah 5,0 dan diatas 8,5 bakteri tidak dapat tumbuh dengan baik, kecuali bakteri asam asetat (*Acetobacter suboxydans*) dan bakteri oksidasi sulfur (Fardiaz, 1992).

Nilai pH pada media agar juga dapat mempengaruhi kualitas kekuatan gel dari media agar. 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. Semakin pH turun kekuatan gel agar-agar semakin rendah hingga pH 2,5 (Glicksman, 1983).

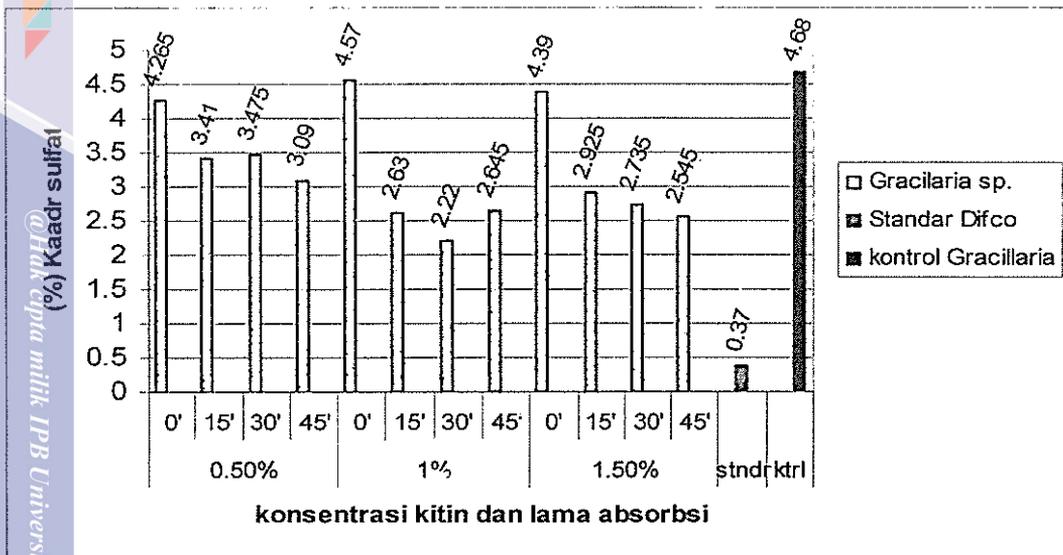
Hasil nilai pH pada semua perlakuan pada agar bakto dari *Gracilaria verrucosa*, jika dibandingkan dengan nilai pH standar agar bakto *difco* dan nilai pH standar agar bakto *serva* maka masih berada dibawah nilai standar agar bakto tersebut. Penyesuaian pH dapat dilakukan dengan menambahkan 1.0 M NaOH. Setelah itu untuk menjaga pergeseran nilai pH agar stabil maka

dapat digunakan garam pospat, seperti  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sebagai penyangga (Pelczar dan Chan, 1986)

#### 4.2.6 Kadar sulfat agar bakto

Kadar sulfat dalam agar dipengaruhi oleh perbedaan jenis dan asal rumput laut, metode ekstraksi, serta umur panen. Menurut Suryaningrum (1988) peningkatan umur panen dapat memberi respon terhadap penurunan kandungan sulfat. Proses ekstraksi juga mempengaruhi kadar sulfat dari rumput laut, dimana proses praperlakuan basa pada tahapan ekstraksi akan menghasilkan sulfat yang lebih rendah daripada praperlakuan asam (Angka dan Suhartono, 2000). Sulfat atau gugus sulfat pada alga penghasil agar-agar terakumulasi pada dinding sel dari alga. Sulfat terikat bersama-sama dengan agar-agar (agarosa dan agaropektin) dan gugus sulfat disekresikan oleh badan golgi dari sel alga penghasil agar-agar (Phillips dan William, 2000).

Nilai rata-rata kadar sulfat agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* berkisar antara 2,22 % hingga 4,57 %. Sementara nilai kadar sulfat agar bakto sebelum ditambahkan dengan kitin, yaitu sebesar 4,68 %. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan kitin dapat menurunkan nilai kadar sulfat agar bakto dari *Gracilaria verrucosa*. Nilai kadar sulfat dari standar agar bakto *difco* yaitu sebesar 0,37 %. Berdasarkan Gambar 12 dapat diketahui nilai kadar sulfat agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* yang paling mendekati nilai kadar sulfat standar agar bakto *difco* yaitu perlakuan penambahan konsentrasi kitin 1% dan waktu absorpsi lebih 30 menit sebesar 5,91. Kitin yang memiliki kemampuan sebagai absorben, mampu menyerap molekul yang berat molekulnya lebih rendah, sehingga sulfat yang terdapat pada agar bakto dapat diserap. Perbandingan nilai rata-rata kadar sulfat pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 12.



**Gambar 12 Nilai kadar sulfat agar bakto dengan penggunaan kitin dan waktu absorpsi yang berbeda**

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kitin 0,5 % sampai 1,5 % dan waktu absorpsi 0 sampai 45 menit memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar kadar sulfat agar bakto dari *Gracilaria verrucosa*. Hasil analisis ragam interaksi penambahan kitin dan waktu absorpsi juga memperlihatkan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar air agar bakto.

Berdasarkan hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test*, terdapat perbedaan yang nyata pada nilai kadar sulfat agar bakto pada perlakuan penambahan kitin sebesar 0,5 % dengan 1 % dan 0,5 % dengan 1,5 %. Sedangkan penambahan kitin 1% dengan 1,5 % tidak memberikan nilai yang berbeda nyata pada kadar sulfat agar bakto. Hal ini memperlihatkan bahwa dengan meningkatnya penambahan konsentrasi kitin dari 1 % hingga 1,5 % ke dalam agar bakto maka tidak akan memberi pengaruh yang nyata terhadap penurunan kadar sulfat dalam agar bakto.

Berdasarkan hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test*, lama waktu absorpsi juga memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar air agar bakto pada waktu 0 menit. Sementara untuk lama waktu absorpsi 15, 30 dan 45 menit tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap nilai kadar sulfat agar bakto. Hasil analisis ragam interaksi penambahan kitin dan waktu absorpsi juga

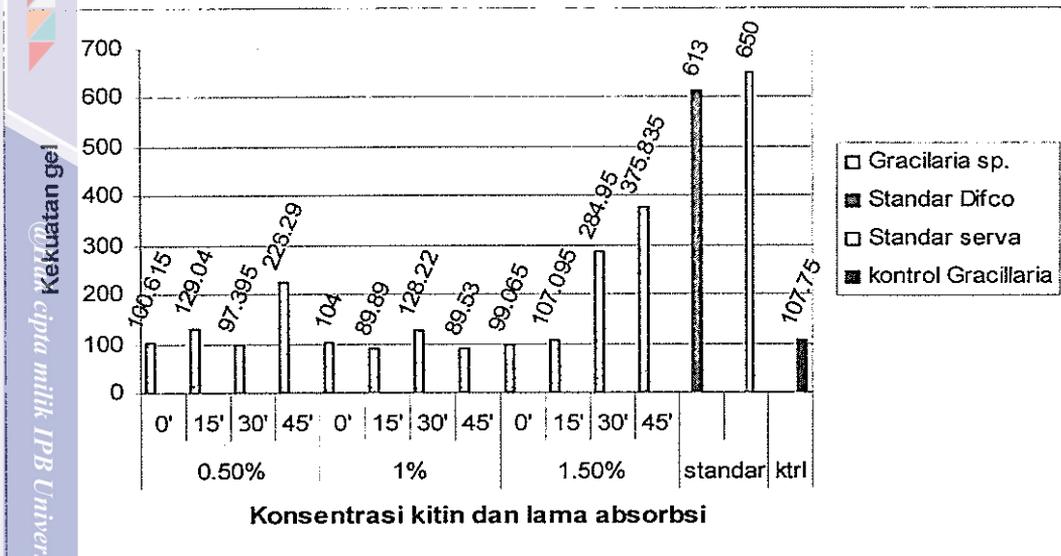
memperlihatkan pengaruh yang nyata terhadap nilai kadar sulfat agar bakto dari *Gracilaria verrucosa*.

Hasil kadar sulfat dari semua perlakuan masih lebih besar dari nilai kadar sulfat standar agar bakto *difco*. Kadar sulfat yang besar ini diduga akibat banyaknya senyawa sulfat yang masih terdapat dalam agar bakto yang tidak terserap oleh kitin akibat daya absorpsi kitin yang sudah maksimum. Kadar sulfat yang tinggi ini juga akan mempengaruhi kekuatan gel yang akan dihasilkan dari agar bakto. Oleh karena itu masih diperlukan cara-cara yang baik untuk menurunkan kadar sulfat sehingga bisa didapatkan nilai kekuatan gel yang baik.

#### 4.2.7 Kekuatan gel agar bakto

Kekuatan gel dari agar-agar yang berasal dari alga laut dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya tingkat keasaman bahan dan kadar sulfat yang terkandung di dalam agar tersebut. Selain itu jenis rumput laut dan metode ekstraksi juga merupakan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kekuatan gel agar (Glicksman, 1983). Kekuatan gel merupakan beban maksimum yang dibutuhkan untuk memecahkan matriks polimer pada daerah yang dibebani, dan dapat dinyatakan sebagai “*breaking force*”.

Nilai kekuatan gel agar bakto penelitian yang dihasilkan dari bahan baku *Gracilaria verrucosa* berkisar antara 89,53 gram/cm<sup>2</sup> hingga 375,835 gram/cm<sup>2</sup>. Nilai kekuatan gel yang untuk standar agar bakto *difco* yaitu sebesar 613 gram/cm<sup>2</sup> dan nilai kekuatan gel untuk agar bakto *serva* yaitu 650 gram/cm<sup>2</sup>. Berdasarkan Gambar 13 didapatkan bahwa nilai kekuatan gel agar bakto *Gracilaria verrucosa* yang paling mendekati nilai kekuatan gel standar agar bakto *difco* dan standar agar bakto *serva* yaitu pada perlakuan penambahan kitin dengan konsentrasi 1,5 % dan lama absorpsi 45 menit, yaitu 375,835 gram/cm<sup>2</sup>. Perbandingan rata-rata nilai kekuatan gel pada agar bakto hasil penelitian untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 13.



**Gambar 13** Nilai kekuatan gel agar bakto dengan penggunaan kitin dan waktu absorpsi yang berbeda

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kitin 0,5 % hingga 1,5 % , waktu absorpsi 0 menit hingga 45 menit dan interaksi antara dua perlakuan tersebut memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai kekuatan gel agar bakto *Gracilaria verrucosa*. Berdasarkan hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test*, terdapat perbedaan yang nyata antara nilai kekuatan gel agar bakto untuk semua perlakuan konsentrasi kitin. Hasil uji lanjut *Duncan's multiple range test* juga menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata antara nilai kekuatan gel agar bakto untuk semua perlakuan waktu absorpsi.

Nilai kekuatan gel yang berbeda-beda ini diduga akibat terserapnya pengotor (*impurities*) dan senyawa sulfat yang terdapat pada agar bakto oleh kitin. Dengan semakin tereduksinya kadar sulfat pada agar bakto diharapkan mampu meningkatkan kekuatan gel agar bakto tersebut.

Gugus sulfat dapat mempengaruhi pembentukan gel melalui dua cara, yaitu menggantikan senyawa 3,6-anhidro-D-Galaktosa menjadi Galaktosa 6-sulfat sehingga struktur heliks semakin membelit dan menyebabkan kekacauan strukturnya. Akibat kekacauan struktur heliks ini maka akan menyebabkan turunnya kekuatan gel. Cara lain adalah bila gugus sulfat terikat pada posisi C-2 dari ikatan 1,3 galaktosa yang akan menghambat pembentukan gel. Hal ini dapat diatasi dengan penambahan enzim atau alkali yang mengubah ester sulfat menjadi 3,6-anhidro-D-Galaktosa (Nurleli, 1999). Rendahnya pH dari agar bakto

*Gracilaria verrucosa* juga dapat mempengaruhi kekuatan gel agar bakto. Hal ini dapat disebabkan akibat proses praperlakuan asam pada rumput laut sebelum ekstraksi. Keasaman sangat mempengaruhi kekuatan ikatan gel rantai galaktosa. Nilai pH yang terlalu rendah dapat menyebabkan gel mudah terhidrolisis (Winarno, 1990). Selain itu jenis rumput laut dan metode ekstraksi juga merupakan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kekuatan gel agar (Glicksman, 1983).

Nilai kekuatan gel agar bakto *Gracilaria verrucosa* bila dibandingkan dengan nilai kekuatan gel dari standar agar bakto *difco* dan agar bakto *serva* maka nilainya masih berada dibawah nilai standar agar bakto *difco* dan *serva*. Namun rendahnya kekuatan gel ini dapat diatasi dengan memperbesar konsentrasi agar bakto pada pembuatan media agarnya. Sehingga kekuatan gelya dapat menyamai dengan kekuatan gel dari agar bakto *difco* dan agar bakto.

#### 4.2.8 Aplikasi agar bakto sebagai media kultur

Pada pengujian agar bakto sebagai media kultur mikroba, dilakukan uji total bakteri pada *nutrient agar* yang menggunakan agar bakto hasil penelitian. Pengujian dilakukan pada agar bakto terpilih kemudian dibandingkan dengan nutrien agar yang menggunakan kontrol agar bakto *difco* yang sudah mengalami masa penyimpanan selama kurang lebih 8 bulan. Perlakuan yang terbaik didapatkan dari karakteristik nilai mutu agar bakto yang paling mendekati standar nilai mutu dari agar bakto *difco* atau agar bakto *serva*. Kombinasi perlakuan optimum yaitu pada agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* dengan penambahan kitin 1,5 % dan waktu absorpsi 45 menit. Hasil uji terhadap kemampuan pembentukan gel dan warna dari media agar yang berasal dari agar bakto hasil penelitian yang terpilih dibandingkan dengan kontrol agar bakto *difco* dari laboratorium yang sudah mengalami masa penyimpanan sebelumnya, dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji karakteristik fisik pada aplikasi media kultur.

Karakteristik Fisik	Agar bakto penelitian <i>Gracilaria verrucosa</i>	Agar bakto <i>Difco</i>
Titik gelifikasi ( <i>point of gelification</i> )	41°C	42°C
Kejernihan	Sedikit keruh	Jernih

Kemampuan pembentukan gel pada agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* menunjukkan suhu 41°C. Apabila dibandingkan, maka titik pembentukan gel agar bakto *Gracilaria verrucosa* masih berada di bawah titik pembentukan gel kontrol agar bakto *difco*, yaitu sebesar 42°C. Titik gelifikasi yang semakin rendah, akan memperlambat proses gelifikasi itu sendiri. Artinya dibutuhkan waktu yang lebih lama bagi agar bakto untuk mulai membentuk gel. Hal ini diduga akibat masih tingginya kadar sulfat yang menyebabkan kekuatan gel yang terbentuk semakin menurun, sehingga titik pembentukan gel semakin rendah. Semakin rendah kekuatan gel yang dimiliki oleh agar bakto maka kemampuan pembentukan gel akan semakin rendah (Chapman dan Chapman, 1980).

Tingkat kejernihan agar bakto *Gracilaria verrucosa* yang diaplikasikan menjadi media agar menunjukkan hasil yang hampir sama. Namun pada media agar dari agar bakto *Gracilaria verrucosa*, warna atau kejernihannya menunjukkan hasil yang sedikit keruh. Setelah itu dilakukan uji total bakteri menggunakan agar bakto *Gracilaria verrucosa* terpilih sebagai aplikasi media kultur bakteri.

Jumlah total bakteri yang ditumbuhkan pada media agar dipengaruhi oleh adanya faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik yang ada seperti nilai  $a_w$ , kadar air, pH, suhu dan tersedianya zat-zat hara atau nutrien yang mendukung dari pertumbuhan bakteri (Fardiaz, 1992). Penentuan jumlah bakteri dilakukan menggunakan contoh ikan mas segar (*Cyprinus carpio*) dengan lama inkubasi 48 jam sesuai prinsip dari pengujian TPC (*Total Plate Count*) pada suhu inkubator  $\pm 30^\circ\text{C}$ . Berdasarkan hasil pengamatan, pada media agar dari agar bakto *Gracilaria verrucosa* diperoleh total bakteri  $2,5 \times 10^5$  koloni/gram. Adapun total bakteri untuk media agar dari kontrol agar bakto *difco* menunjukkan nilai

$2,9 \times 10^5$  koloni/gram. Nilai total bakteri pada media agar *Gracilaria verrucosa* menunjukkan nilai yang hampir sama dengan total bakteri pada media agar dari agar bakto *difco*. Ini memperlihatkan bahwa agar bakto *Gracilaria verrucosa* memiliki mutu yang cukup baik untuk dapat dijadikan sebagai media bakteriologis.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Penambahan kitin sebagai absorben dalam proses pembuatan agar bakto *Gracilaria verrucosa* mampu menghasilkan agar bakto yang mempunyai karakteristik mutu fisik dan kimia yang hampir sama dengan standar agar bakto *difco* dan agar bakto *serva* pada karakteristik tertentu, seperti kadar air, kadar abu, kadar garam dan nilai pH. Namun pada karakteristik mutu yang lain, seperti kadar sulfat dan kekuatan gel, nilainya masih berbeda cukup jauh. Kombinasi perlakuan paling optimum dan memberikan hasil terbaik untuk agar bakto *Gracilaria verrucosa* didapatkan pada perlakuan konsentrasi kitin 1,5 % dengan lama waktu proses absorpsi selama 45 menit. Adapun karakteristiknya adalah sebagai berikut : kadar air 21,11 %, kadar abu 3,206 %, kadar garam (NaCl) 0,0282 %, nilai pH 5,85, kadar sulfat 2,545 %, nilai kekuatan gel 375,835 gram/cm<sup>2</sup>, dan rendemen 20,61 %. Serta nilai rendemen yang dihasilkan adalah 20,61 % .

Uji *Total Plate Count* (TPC) dilakukan terhadap sampel ikan mas segar (*Cyprinus carpio*) yang ditumbuhkan dengan menggunakan agar bakto hasil penelitian terbaik. Kemudian dibandingkan dengan kontrol agar bakto *difco* yang sudah mengalami penyimpanan. Hasil yang didapat menunjukkan nilai total bakteri pada media agar dengan agar bakto *Gracilaria verrucosa* yaitu  $2,5 \times 10^5$  koloni/gram. Adapun total bakteri untuk media agar dari agar bakto *difco* menunjukkan nilai  $2,9 \times 10^5$  koloni/gram. Ini menunjukkan bahwa agar bakto dari *Gracilaria verrucosa* dapat digunakan sebagai media kultur bakteri.

### 5.2 Saran

Agar bakto yang dihasilkan dari penelitian masih perlu dilakukan penyesuaian dalam aplikasinya sebagai media agar. Hal ini dapat dilakukan supaya diperoleh mutu agar bakto yang menyamai agar bakto komersil. Oleh karena itu untuk mendapatkan mutu yang sama dengan agar bakto komersil, dapat saja dilakukan penambahan konsentrasi agar bakto supaya didapat kekuatan gel yang sama dengan agar bakto komersil. Selain itu perlu dilakukan penyesuaian

pH dengan NaOH 1M atau HCl 1M untuk mencapai nilai pH yang sama dengan agar bakto komersil. Kajian pengaruh lama penyimpanan terhadap mutu agar bakto yang diperoleh dapat diteliti lebih jauh untuk melihat daya tahan kualitas dari agar bakto yang didapatkan. Ataupun dapat dilakukan analisis lanjutan terhadap kemampuan agar bakto untuk menumbuhkan berbagai jenis mikroorganisme pada berbagai jenis media agar. Serta perlu dilakukan tinjauan ekonomis terhadap agar bakto yang diproduksi sendiri jika dibandingkan dengan agar bakto komersial produksi pabrik.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang menggunakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

IPB University





## 6. DAFTAR PUSTAKA

- Aftianto, E dan E Liviawati. 1993. *Budidaya Rumput Laut dan Cara Pengolahannya*. Penerbit Bhratara. Jakarta.
- Angka, SL & MT. Suhartono. 2000. *Bioteknologi Hasil Laut*. Penerbit PKSPL-Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anggadiredja, J. 1992. *Etnobotany and Etnomorpharmacology Study of Indonesian Marine Macro Algae*. Study Report BPP Technology. Jakarta
- \_\_\_\_\_. 1993. *Nilai Protein dan Asam Amino beberapa Jenis Mikro Alga Laut*. Direktorat Pengkajian Ilmu Kehidupan. BPPT / Kantor Negara Riset dan Teknologi. Jakarta
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis. The Association of Official Analytical and Chemist*. 16<sup>th</sup> ed. AOAC. Inc. Arlington. Virginia.
- Apriyantono A., Fardiaz, D., S. Budiyanto, dan NL. Puspitasari. 1986. *Penuntun Analisa Pangan*. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Atmadja, WS. 1991. *Potensi dan Spesifikasi Jenis Rumput Laut di Indonesia; Makalah pada Prosiding Temu Karya Ilmiah Teknologi Pasca Panen Rumput Laut, 11-12 Maret, Buku II*. BPPP. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Austin, P. R. 1984. *Chitin Solvent and Solubility Parameter*. The University of Delaware. United States of America.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 1985. Lokakarya Bioteknologi Rumput Laut 11-13 Desember. Jakarta. Hal 9-30.
- \_\_\_\_\_. 1990. *Petunjuk Teknis Budidaya Rumput Laut*. Jakarta. 93 Hal.
- Bastaman, S. 1989. *Studies on Degradation and Extraction of Chitin and Chitosan from Prawn Shells*. Thesis. The Departement of Mechanical, Manufacturing, Aeronautical and Chemical Engineering. The Queen's University. Belfast.
- Bough, W. A. 1975. Coagulation with chitosan and aid to recovery of by-product from egg breaking waste. *Poultry Sci.* 45 : 1904.
- Chapman, V. J. 1970. *Agar-agar. Diacu dalam Seaweeds and Their Uses*. Editor Methuen and Co., Ltd, London.

- Chapman, VJ. dan DJ. Chapman. 1980. *Seaweed and Their Uses*. Chapman and Hall. London.333p.
- Darbon Vincent C. 1986. Biotechnologie Marine. *Biofutur Journal of European Biotechnologie France*. France
- Ditjen Perikanan. 1989. *Pemanfaatan kepala dan kulit udang sebagai sumber khitin*. Buletin Warta Mina. Edisi Agustus 1989. Direktorat Jendral Perikanan. Jakarta
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Furia, T. E. 1980. *Handbook of Food Aditives Volume I*. 2<sup>nd</sup> Edition. CRC Press Inc. Boca-Raton, Florida.
- Gelrite®. 2003. *Gellan-Gum*. Kelco Division. USA.
- Glicksman, M: 1982. *Food Hydrocolloids, volume II*, CRC Press, Tarrytown. NY
- \_\_\_\_\_. 1983. *Gelling Hydrocolloids in the Food Product Application*. Butterworth&Co. Publishers Ltd. London.
- Harrigan, FW. 1998. *Laboratory methods in food microbiology*. Third edition. Academic Press (AP). San Diego. California. USA
- Hirano, S. 1989. Production and Application of Chitin and Chitosan in Japan. *Dalam Chitin and Chitosan, Sources, Chemistry. Biochemistry. Physical properties and Applications*(Gudmadd et al). *Elsevier Science Published Ltd. England*. Hal 56-58.
- Irawati, A. 1994. Pengaruh Jumlah Air dan Waktu Ekstraksi terhadap Rendemen dan Mutu Tepung Agar-agar dari Rumput Laut *Gracillaria* sp. Skripsi. Fakultas Perikanan, IPB. Bogor.
- Istini, S., A. Zalnika, Suhaimi, dan J. Anggadireja. 1986. *Manfaat dan Pengolahan Rumput Laut*. Majalah BPPT. No. XIV. Jakarta
- Karmas, E. 1982. *Meat, Poultry and Seafood Technology*. Noyes Data Corporation USA. Hal : 392-405
- Kittur, F.S., K. R. Kumar dan R. N. Tharanathan. 1998. *Functional Packaging Properties of Chitosan Film*. *Z. Lebesm Unders Forsch A*. 206 : 44-47
- Knorr, Dietrich. 1982. Functional Properties of Chitin and Chitosan. *Journal of Food Sci*. Vol 47. p 593.

\_\_\_\_\_ 1984. *Use of Chitinous Polymers In Food*. Food Technology. Hal : 85-94. New York.

Kojima, Y., dan K. Funaki. 1951. Studies on the preparation of agar-agar from *Gracilaria confervoides*, *Bull. Japan Soc. Sci. Fisheries*, 16 : p(419-422).

Kosasih, R., dan E. Suprijatna. 1967. *Pembuatan dan Pemurnian Agar-agar*. Komunikasi No. 4. Akademi Kimia Analisis. Bogor

Mokolensang, J., D. Sumilat, dan, J. Indy. 1997. *Kandungan Agar-agar Gracillaria (Grev) Berdasarkan Variasi Musiman*. Laporan Penelitian. Fakultas Perikanan, Universitas Samratulangi. LIPI. Jakarta.

Muzi, A. 1990. *Isolasi Kimiawi dan Karakteristik Khitin Kulit Udang Windu*. Tesis. Jurusan Pengolahan Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian, UGM. Yogyakarta.

Muzzarelli, R. A. A. 1977. *Chitin*. Pergamon Press. Oxford

Nasran, S. 1993. *Pengolahan Agar-agar Kertas. Kumpulan Hasil-hasil Penelitian Pasca Panen Perikanan*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta.

Nur Endah E. 1999. *Mempelajari Efektifitas Khitin sebagai Absorben pada Proses Pemucatan Minyak Ikan Lemuru (Sardinella longiceps)*. Skripsi. Fakultas Perikanan, IPB. Bogor.

Nurleli. 1999. *Pengaruh Penambahan Filtrat Eucheuma cottonii terhadap Mutu Agar- agar dari Jenis Gracillaria verucossa*. Skripsi. Fakultas Perikanan, IPB. Bogor.

Ornum, J. 1992. *Shrimp waste must it be waste?* Info Fish 6/92 48-51 p.

Pelczar, J. M., E. C. S. Chan. 1986. *Elements of microbiology* . McGraw-Hill Book Company. Maryland. U.S

Phillips, GO, dan PA. Williams. 2000. *Handbook of Hidrocolloids*. CRC Press. WoodHead Publishing Limited. Cambridge. England.

Priatama, H. D. 1989. *Mempelajari Pengaruh Penambahan NaOH dan KCl terhadap Rendemen dan Mutu Agar-agar dari Rumput Laut Gracillaria sp*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB. Bogor.

Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan, 1991, *Prosiding Temu Wacana Teknologi Pasca Panen Rumput Laut*, 11-12 Maret. Buku II. Departemen Pertanian. Jakarta. 172 hal.

Rha, C. 1984. *Chitosan as Biomaterial*. Dalam R.R. Colwell, A. J. Sinlesky and E. R. Proiser (eds). *Biotechnology in The Marine Science*. Jhon Wiley and Sons. New York.

- Sanford, P. A. 1989. Chitosan : Comercial Use and Potential Aplication. *Dalam* Chitin and Chitosan Surce, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and aplication (Gudman *et. al*). *Elsevier Science Published Ltd*. England. Hal. 151-154
- Selby, HH. dan WH. Wyllie. 1973. *Agar*. *Dalam* Industrial Gums. R.L. Whistler dan J.M. Be Miller (eds.). Academic Press. New York. 807p.
- Shahidi, F., J. K. V. Arachi dan Y. J. Jeon. 1999. *Food application of chitin and chitosan*. Review. *Trend in Food Science and Technology*. 10 : 37-51
- Soegiarto, A. Sulistijo, W. S. Atmaja dan H. Mubarak. 1978. *Rumput laut (algae) : Manfaat, Potensi dan Usaha Budidaya*. Lembaga Oseanologi Nasional-LIPI. Jakarta
- Stanley, NF. 1966. *Standard Practise Instruction C 19*. Marine Colloids. Inc. Rocland, Maine. 4p.
- Sukamulyo, S. 1989. Mempelajari Cara Ekstraksi dengan Pra perlakuan Asam dalam Pembuatan Agar-agar *Gelidium* sp. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian. IPB.
- Suptijah, P. E. Salamah, H. Sumaryanto, S. Purwaningsih dan J. Santoso. 1992. *Pengaruh Berbagai Metode Isolasi Khitin Kulit udang terhadap Kadar dan Mutunya*. Laporan Akhir Penelitian. Fakultas Perikanan IPB.
- Suryaningrum, TD. 1988. Kajian Sifat-sifat Mutu Komoditi Rumput Laut Budidaya Jenis *Euchema cottonii* dan *Euchema spinosum*. Tesis. Fakultas Pasca Sarjana, IPB. Bogor.
- Weng, T. H. 1992. Pengaruh Kondisi Ekstraksi terhadap Mutu Agar-agar dari Rumput Laut *Gracillaria* sp dan *Gellidium* sp. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB. Bogor.
- Winarno, FG. 1990. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- \_\_\_\_\_. 1991. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

[www.google.com/difco\\_bbl\\_manual\\_sample.pdf](http://www.google.com/difco_bbl_manual_sample.pdf)

### Lampiran 1 Hasil analisis mutu fisik dan kimiawi agar bakto *Gracilaria verucosa*

Analisis	0.5%				1%				1.5%				Difco
	0'	15'	30'	45'	0'	15'	30'	45'	0'	15'	30'	45'	
1. Kadar air (% BK)	21,95	21,105	20,725	21,705	21,75	21,63	19,845	20,055	21,9	22,165	22,685	21,11	25,24
2. Kadar abu (% BK)	6,31	6,208	6,373	5,264	6,06	5,475	5,5	5,365	4,965	3,991	4,856	3,206	4,65
3. Kadar Garam (% NaCl)	0,1141	0,0324	0,0421	0,0442	0,1206	0,0492	0,0355	0,0436	0,1157	0,0347	0,0328	0,0282	0,05
4. pH	5,895	5,84	5,755	5,775	5,91	5,715	5,72	5,775	5,895	5,725	5,83	5,85	6,27
5. Kadar Sulfat (%)	4,265	3,41	3,475	3,09	4,57	2,63	2,22	2,645	4,39	2,925	2,735	2,545	1,03
6 Kekuatan Gel (Gram/cm <sup>2</sup> )	100,61	129,04	97,395	226,29	104	89,89	128,22	89,53	99,065	107,09	284,95	375,83	343,75
7. Rendemen	19,45	19,605	17,725	18,705	18,75	18,63	16,845	17,055	18,9	19,165	19,185	20,61	
8. Warna	Coklat kekuning-an	Kuning Kecoklat-an											

## Lampiran 2 Data referensi kontrol agar bakto komersil *difco*

Parameter	Hasil
Kadar air (% BK)	25,24
Kadar abu (% BK)	4,65
pH	6,27
Kadar Garam (%NaCl)	0,05
Kadar Sulfat (%)	1,03
Kekuatan Gel (Gram/cm <sup>2</sup> )	343,75

milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**Lampiran 3** Data terpilih dari agar bakto *Gracilaria verucosa* (proses optimal)

Analisis	<i>Gracilaria</i> sp.	Agar Bakto Komersial ( <i>Difco Bacto Agar</i> )
	Khitin 1,5%; Pemanasan Kembali 45 menit	
1. Analisis Kadar Air (%)	21.11 %	25,24 %
2. Kadar Abu (%)	3.21%	4,8 %
3. Kadar Garam (%NaCl)	0.0282 %	0,58%
4. pH	5.85	6.23
5. Kadar Sulfat (%)	2.545 %	1,03%
6. kekuatan gel (Gram/cm <sup>2</sup> )	375.835 gram/cm <sup>2</sup>	343.75 gram/cm <sup>2</sup>
7. Rendemen	20.61 %	
8. Warna	Serbuk kuning kecoklatan	Serbuk kuning Jernih

## Lampiran 5. Hasil analisis statistika Uji lanjut *Duncan's multiple range test*

### 1. Rendemen agar bakto *Gracillaria verrucosa*

#### Analisis Ragam RAL Faktorial 4x3

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
f1	3	5.49951250	1.83317083	1.33	0.3115
f2	2	11.10317500	5.55158750	4.02	0.0462
f1*f2	6	8.64122500	1.44020417	1.04	0.4456

#### Uji lanjut *Duncan's multiple range test* (DMRT)

Duncan Grouping	Mean	N	f1
A	19.1333	6	15
A			
A	19.0333	6	0
A			
A	18.7900	6	45
A			
A	17.9183	6	30

Duncan Grouping	Mean	N	f2
A	19.4650	8	1.5
A			
B A	18.8713	8	0.5
B			
B	17.8200	8	1

### 2. Kadar air agar bakto *Gracillaria verrucosa*

#### Analisis Ragam RAL Faktorial 4x3

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
f1	3	3.40284583	1.13428194	5.67	0.0118
f2	2	5.24650833	2.62325417	13.11	0.0010
f1*f2	6	7.16789167	1.19464861	5.97	0.0043

#### Uji lanjut *Duncan's multiple range test* (DMRT)

Duncan Grouping	Mean	N	f1
A	21.8667	6	0
A			
B A	21.6333	6	15
B			
B C	21.0850	6	30
C			
C	20.9567	6	45

Duncan Grouping	Mean	N	f2
A	21.9650	8	1.5
B	21.3713	8	0.5
C	20.8200	8	1

### 3. Kadar abu agar bakto *Gracillaria verrucosa*

#### Analisis Ragam RAL Faktorial 4x3

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
f1	3	4.70654895	1.56884965	8.58	0.0026
f2	2	13.83125038	6.91562519	37.82	<.0001
f1*f2	6	1.57628431	0.26271405	1.44	0.2788

#### Uji lanjut *Duncan's multiple range test* (DMRT)

Duncan Grouping	Mean	N	f1
A	5.7783	6	0
A	5.5766	6	30
A	5.2249	6	15
B	4.6119	6	45

Duncan Grouping	Mean	N	f2
A	6.0391	8	1.5
A	5.6000	8	1
B	4.2547	8	0.5

### 4. Kadar garam agar bakto *Gracillaria verrucosa*

#### Analisis Ragam RAL Faktorial 4x3

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
f1	3	0.00114587	0.00038196	445.37	<.0001
f2	2	0.00029106	0.00014553	169.69	<.0001
f1*f2	6	0.00049106	0.00008184	95.43	<.0001

#### Uji lanjut *Duncan's multiple range test* (DMRT)

Duncan Grouping	Mean	N	f1
A	0.0387750	6	15
A	0.0386312	6	45
B	0.0368017	6	30
C	0.0222133	6	0

Duncan Grouping	Mean	N	f2
A	0.0381671	8	1
B	0.0344863	8	0.5
C	0.0296625	8	1.5

## 5. Kadar pH agar bakto *Gracillaria verrucosa*

Analisis Ragam RAL Faktorial 4x3

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
f1	3	0.07708	0.02569	3.621	0.045
f2	2	0.006358	0.003179	0.448	0.649
f1*f2	6	0.02671	0.004451	0.627	0.706

Uji lanjut *Duncan's multiple range test* (DMRT)

Duncan Grouping	Mean	N	f1
A	5.7600	6	15
A	5.7683	6	30
A	5.7833	6	45
B	5.9000	6	0

## 6. Kadar Sulfat agar bakto *Gracillaria verrucosa*

Analisis Ragam RAL Faktorial 4x3

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
f1	3	10.32343333	3.44114444	77.61	<.0001
f2	2	0.91875833	0.45937917	10.36	0.0024
f1*f2	6	0.87764167	0.14627361	3.30	0.0372

Uji lanjut *Duncan's multiple range test* (DMRT)

Duncan Grouping	Mean	N	f1
A	4.4083	6	0
B	2.9883	6	15
B	2.9767	6	30
B	2.7600	6	45

Duncan Grouping	Mean	N	f2
A	3.5600	8	0.5
B	3.1488	8	1.5
B	3.1413	8	1

## 7. Nilai Kekuatan gel agar bakto *Gracillaria verrucosa*

### Analisis Ragam RAL Faktorial 4x3

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
f1	3	65524.22725	21841.40908	7079.06	<.0001
f2	2	54417.76342	27208.88171	8818.72	<.0001
f1*f2	6	70001.08404	11666.84734	3781.36	<.0001

### Uji lanjut *Duncan's multiple range test* (DMRT)

Duncan Grouping	Mean	N	f1
A	230.335	6	45
B	170.188	6	30
C	108.675	6	15
D	101.227	6	0

Duncan Grouping	Mean	N	f2
A	216.7363	8	1.5
B	138.3350	8	0.5
C	102.7475	8	1

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.