

## BAB I PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Permasalahan

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya, terutama kekayaan lautnya dalam sektor perikanan yang luar biasa. Terdapat beberapa komoditas yang melimpah selain ikan yaitu kepiting. Hasil panen kepiting bakau setiap satu siklus panen mencapai 10.000 ekor (Kementerian Kelautan dan Perikanan RI, 2021). Data produksi kepiting terjadi penurunan sebesar -5,27%, tetapi hal tersebut tidak mempengaruhi volume ekspor karena untuk ekspor kepiting mengalami peningkatan sebesar 0,99% pada tahun 2012-2018 (The Center for Data, Statistics and Information, 2019). Namun, komoditas ekspor ini menghasilkan limbah berupa cangkang yang pemanfaatannya belum dilakukan secara optimal, karena produk diekspor dalam bentuk segar, beku, maupun olahan. Limbah industri dapat mencapai 25 % dari total produksi. Sampai saat ini hasil samping tersebut dimanfaatkan sebagai bahan baku industri kerupuk, petis, terasi, pupuk, dan pakan, tetapi jumlah yang dimanfaatkan hanya 30% dari jumlah limbah yang ada (Dompeipen, 2016).

Limbah tersebut mengandung senyawa kimia bermanfaat seperti protein, mineral, dan kitin dalam jumlah cukup banyak. Limbah ini belum dimanfaatkan secara baik dan berdaya guna, bahkan sebagian besar merupakan buangan dari rumah makan yang juga turut mencemari lingkungan. Hal tersebut menjadikan kitin dapat diproses menjadi kitosan untuk dimanfaatkan sebagai chitooligosakarida. Kitosan lebih efektif terserap kedalam tubuh manusia bila dikonversi dulu dalam bentuk oligomer kitosan (Qin *et al.*, 2002). Cangkang kepiting yang akan digunakan adalah bagian karapas dan capit pada jenis kepiting bakau (*Scylla paramamosain*). Penggunaan cangkang kepiting dikarenakan kepiting merupakan salah satu jenis *Crustaceae* yang dapat dikategorikan sebagai penghasil kitosan terbesar dibanding *Crustaceae* lainnya (Soviana, 2020).

Chito-Oligosakarida (COS) adalah polimer turunan dari kitosan hasil proses deasetilasi kitin dan merupakan senyawa kompleks golongan glikoprotein yang memiliki ikatan  $\beta$ -1,4 glukosamin (Harti, 2011). Selain itu, COS memiliki rantai 20 atau kurang, dan merupakan kitosan yang larut dalam air (Widagdo, 2016). Terdapat 2 metode dalam proses produksi COS yaitu proses hidrolisis enzimatik maupun kimiawi kitosan dan kitin. Hidrolisis enzimatik menggunakan *chitosanase* dan hidrolisis kimiawi menggunakan asam (Widagdo, 2016). Hidrolisis secara

kimiawi dan iradiasi sonik bersifat acak, tidak terkontrol, efisiensi yang rendah dan menghasilkan oligomer dengan derajat polimerisasi (DP) yang rendah dengan lebih banyak monomer D-glukosamin, sedangkan hidrolisis secara enzimatis bersifat spesifik, terkontrol, menghasilkan oligomer kitosan dengan DP yang lebih tinggi dan sedikit glukosamin yang dihasilkan serta ramah lingkungan (Sarni, dkk, 2016). Menurut Heggset (2012) dan Assis (2010), enzim *chitosanase* adalah hidrolase glikosil yang mengkatalisis hidrolisis ikatan glikosidik  $\beta$ -1,4 kitosan untuk menghasilkan glukosamin dan menghasilkan COS dengan berat molekul rendah. Faktor yang dapat mempengaruhi hasil dari COS menurut Gao, *et al.* (2012) adalah jumlah enzim yang digunakan, suhu, dan inkubasi. Standar COS memiliki derajat deasetilasi lebih dari 90% (Guan *et al.*, 2019), berat molekul kurang dari 1500 Da (Phil *et al.*, 2018), dan derajat polimerisasi DP 2-6 (Kumar *et al.*, 2005).

COS mampu bersifat antimikrobia, menurunkan kadar kolesterol serta bersifat imunostimulan, dan merupakan prebiotik hewani alami (Harti, 2011). Oligosakarida bersifat resisten dari digesti saluran pencernaan serta absorpsi enzim mamalia, sehingga zat ini mampu mencapai usus besar dan pada akhirnya dapat dimanfaatkan oleh bakteri usus yang menguntungkan seperti *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* (Asmara, 2014). Uji pada sebuah penelitian menunjukkan pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* dapat ditekan dengan adanya chitooligosakarida (COS) dari limbah perikanan yang dapat digunakan sebagai prebiotik alami (Nugroho, dkk., 2013). Oligosakarida yang diperoleh dari kitosan dengan berat molekul rendah telah diklaim menunjukkan efek prebiotik (Lin *et al.*, 2007). Penelitian Harti (2011) menyatakan bahwa chitooligosakarida berpotensi dijadikan sebagai prebiotik, penambahan COS mampu meningkatkan pertumbuhan probiotik (*Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051) secara nyata.

Prebiotik adalah substrat yang menutrisi bakteri menguntungkan didalam tubuh inang mikroorganisme (Gibson, *et al.*, 2017). Komponen bahan pangan yang mempunyai sifat prebiotik antara lain polisakarida non pati (seperti pektin, selulosa dan xilan), gula dan oligosakarida (seperti laktosa, rafinosa, fruktooligosakarida, dan galaktooligosakarida) (Grimoud, *et al.*, 2010; Machado, *et al.*, 2015). Oligosakarida merupakan substrat spesifik pertumbuhan bifidobacteria sebagai bakteri bermanfaat untuk meningkatkan kesehatan tubuh (Souripet, 2016). Salah satu oligosakarida yang dapat berpotensi sebagai prebiotik adalah chitooligosakarida dan ini masih dalam tahap pengembangan karena ketidak konsistenan hasil dan keragaman sumber COS (Liu, *et al.*, 2020), sehingga

pengujian aktivitas prebiotik akan dilakukan secara *in vitro* karena studi *in vitro* adalah cara mudah untuk mengevaluasi karakteristik kandidat prebiotik dan hasil evaluasi kandidat prebiotik. Hasil studi secara *in vitro* dapat digunakan untuk memprediksi dan memvalidasi atau dikonfirmasi hasilnya secara *in vivo* (Rolim *et al.*, 2020). Menurut Madhukumar dan Muralikrishna (2012), Bakteri asam laktat yang memproduksi enzim yang menghidrolisis NDO dan dimetabolisme lebih lanjut menghasilkan asam lemak rantai pendek (SCFA) yang membantu mengasamkan lingkungan. Pengasaman ini dapat mempengaruhi keseimbangan spesies bakteri probiotik dan aktivitas metabolisme bakteri, serta menghambat pertumbuhan strain bakteri enteropatogenik.

Komponen prebiotik harus didukung dengan adanya bakteri probiotik. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa COS ditemukan memiliki pertumbuhan efek stimulasi pada *Bifidobacterium bifidum* ATCC 11863 dan *Bifidobacterium breve* ATCC 15700 dan pertumbuhan sel bakteri meningkat secara signifikan setelah 48 jam inkubasi (Nurhayati, *et al.*, 2016), diantara kedua bakteri tersebut jika dibandingkan bakteri *Bifidobacterium bifidum* ATCC 11863 menunjukkan hasil lebih tinggi daripada bakteri *Bifidobacterium breve* ATCC 15700 tetapi hasil tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada 0 dan 24 jam yaitu  $5,22 \pm 0,02$  dan  $5,18 \pm 0,07$  pada 0 jam kemudian pada 24 jam  $5,21 \pm 0,1$  dan  $4,98 \pm 0,01$ . Pertumbuhan pada bakteri *Lactobacillus* jika dibandingkan antara *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3111 dengan *Lactobacillus brevis* KCTC 3498 menunjukkan hasil paling tinggi adalah *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3111 yaitu  $0,576 \pm 0,066$  dibandingkan *Lactobacillus brevis* KCTC 3498 yaitu  $0,420 \pm 0,012$  (Lee *et al.*, 2002) selain itu dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* karena terjadi penurunan pertumbuhan (Fernandes *et al.*, 2008), sehingga bakteri indikator yang digunakan adalah bakteri probiotik seperti *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus acidophilus* dan bakteri patogen *Escherichia coli*. Komponen prebiotik yang digunakan adalah chitooligosakarida dari pemanfaatan limbah cangkang kepiting. Penelitian Jeon, *et al.* (2000) menyatakan bahwa pada kitosan 1% larutan dengan *chitosanase* dan 180 menit memberikan kondisi optimal untuk produksi COS. Enzim *chitosanase* efektif dalam menghidrolisis kitosan (Dong *et al.*, 2015). Menurut Fawzya *et al.*, (2009) konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dapat mempengaruhi ekstraksi COS.

Oleh karena itu, penelitian yang dilakukan ini menggunakan konsentrasi enzim 0,5%, 1%, 1,5% dan waktu inkubasi 1 jam, 3 jam, dan 5 jam dalam hidrolisis

enzimatis kitosan yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari beberapa konsentrasi enzim dan lama inkubasi terhadap COS yang dihasilkan, serta perlakuan terbaik yang didapatkan akan diuji aktivitas prebiotik dengan menggunakan bakteri probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium breve* sedangkan untuk bakteri patogen menggunakan *E. coli* sebagai bakteri indikator.

## **B. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi enzim *chitosanase* dan waktu inkubasi pada proses hidrolisis enzimatis terhadap karakteristik chitooligosakarida (COS) dari cangkang kepiting.
2. Mengetahui perlakuan terbaik antara konsentrasi enzim *chitosanase* dan waktu inkubasi terhadap karakteristik chitooligosakarida (COS) dari cangkang kepiting.
3. Mengetahui aktivitas prebiotik chitooligosakarida dari cangkang kepiting terhadap pertumbuhan bakteri probiotik *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium breve* dan penghambatan bakteri patogen *E. coli* secara *in vitro*.

## **C. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah memanfaatkan limbah cangkang kepiting yang melimpah dan memberikan informasi cara mengekstraksi chitooligosakarida dengan metode hidrolisis enzimatis, serta mengetahui aktivitas prebiotik dari chitooligosakarida yang didapatkan.