

**PENGARUH TINGKAT AERASI DAN KECEPATAN AGITASI
TERHADAP TINGKAT HIDROLISIS PROTEIN KULIT UDANG PADA
TAHAPAN EKSTRAKSI KITIN SECARA BIOLOGIS**

Junianto¹, Djumali Manguwidjadja², Suprihatin², Mulyorini²,
dan Budiasih Wahyuntari³

¹Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Jatinangor Km 21 Sumedang 45363

²Departemen Teknologi Industri Pertanian Fateta IPB Dermaga Bogor

³Laboratorium Bioindustri BPPT Kawasan Puspiptek Serpong–Tangerang
email : *anto_lisc@yahoo.com*

ABSTRAK

Salah satu tahapan proses ekstraksi kitin dari kulit udang adalah deproteinasi. Proses ini dilakukan oleh *Bacillus licheniformis* F11.1. Proses berlangsung selama 60 jam dalam fermentor volume kerja 1 liter, pH 8, dan suhu 55°C. Tujuan penelitian adalah mengkarakterisasi kinetika proses fermentasi dan menentukan tingkat aerasi dan kecepatan agitasi untuk memperoleh tingkat hidrolisis protein maksimal dari kulit udang. Rancangan penelitian digunakan acak lengkap pola faktorial yang terdiri dari dua perlakuan yaitu tingkat aerasi dan kecepatan agitasi. Tingkat aerasi terdiri dari dua taraf yaitu 2,0 vvm dan 2,5 vvm sedangkan kecepatan agitasi terdiri dari tiga taraf yaitu 200 rpm, 250 rpm, dan 300 rpm. Parameter yang diamati adalah laju pertumbuhan bakteri, aktivitas enzim, dan tingkat hidrolisis protein kulit udang. Hasil penelitian menunjukkan tingkat kepadatan bakteri tertinggi 9,41 log cfu/mL dicapai pada jam ke 30 waktu fermentasi sedangkan aktivitas enzim protease tertinggi 15,26 U/mL dicapai pada jam ke 36 waktu fermentasi. Tingkat hidrolisis protein kulit udang tertinggi 69,25% diperoleh dari tingkat aerasi dan kecepatan agitasi 2,5 vvm : 250 rpm.

Kata kunci : Kitin, ekstraksi, kulit, udang, deproteinasi.

**THE EFFECT OF AERATION AND AGITATION LEVEL ON THE SHELLS
SHRIMP PROTEIN HYDROLYSIS LEVEL IN THE STAGE OF
BIOLOGICAL CHITIN EXTRACTION**

ABSTRACT

One of chitin extraction stage from shrimp shell is deproteinization. It was done by *Bacillus licheniformis* F11.1. The deproteinization process progressed for 60 hours in 1 liter working volume of fermentor, pH 8, and temperature 55°C. The objective of this research was to characterize kinetic of fermentation process and to determine aeration and agitation level. Design of this experiment was used

factorial random with two treatments, aeration and agitations level. The aeration level treatment consisted of 2.0 vvm and 2.5 vvm; whereas agitation level treatment consisted of 200 rpm, 250 rpm, and 300 rpm. Parameter observed were bacteria growth, enzyme activity, and protein hydrolysis level of shrimp shells. The result of this research showed that high density of bacteria was 9.41 log cfu/mL was obtained in 30th hours of fermentation progressed whereas high enzyme activity was 15.26 U/mL was obtained in 36th hours of fermentation progressed. The high level of shrimps shells protein hydrolysis was 69.25% was obtained from 2.5 vvm : 250 rpm.

Keywords : Chitin, extraction, shells, shrimps, deproteinization.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara produsen udang yang cukup besar di kawasan Asia. Produksi udang Indonesia pada tahun 2006 sekitar 342.560 ton dari luasan tambak udang 420.000 hektar. Produksi udang tersebut sebagian besar diekspor dengan total nilai mencapai US\$ 890,4 juta (BPS, 2007).

Udang yang diekspor sebagian besar dalam bentuk beku tanpa kepala (*Headless*) dan tanpa kulit (*Peeled*). Limbah dari pengolahan udang beku ini sebagian besar adalah kulit udang. Menurut Dhewanto dan Krenowati (2002) proporsi berat kulit udang terhadap berat udang keseluruhannya adalah 45%.

Salah satu pemanfaatan limbah kulit udang adalah sebagai sumber kitin. Kitin yang terdapat dalam kulit udang sekitar 23,5% (berat kering) (No *et al.* 1989), sedangkan menurut Muzzarelli (2000), kandungan kitin *krustacea* berkisar antara 20–60% tergantung species. Menurut Mangunwidjaja dan Harahap (2001), penanganan dan pengolahan limbah udang melalui industri kitin menjadi sorotan, karena senyawa yang hampir sama dengan selulosa ini ternyata menunjukkan keandalan di berbagai bidang dan mempunyai prospek tinggi komoditi perdagangan. Kitin dan turunannya dapat dimanfaatkan untuk kesehatan, industri tekstil, penanganan air limbah, farmasi, biomedikal, kosmetik, teknologi pangan, fotografi dan lain-lain.

Harga kitin yang digunakan untuk pemurnian air sekitar US\$ 0,02 per gram sedangkan untuk biomedikal adalah US\$ 4,41 per gram (Dhewanto dan Krenowati, 2002). Saat ini produsen kitin dunia dikuasai oleh Jepang dan Korea Selatan. Sebenarnya, Indonesia mempunyai peluang untuk mengambil bagian dari pasar kitin dunia karena memiliki sumber bahan baku kitin yang relatif lebih besar jika dibandingkan dengan Jepang atau Korea Selatan.

Salah satu tahapan ekstraksi kitin dari kulit udang adalah proses deproteinasi. Proses ini bertujuan untuk melarutkan protein semaksimal mungkin dari kulit udang. Selama ini, proses deproteinasi pada ekstraksi kitin dalam skala industri dilakukan secara kimia yaitu digunakan basa kuat. Menurut Yang *et al.* (2000), penggunaan senyawa kimia dalam ekstraksi kitin dapat menyebabkan suatu *deasetilasi* sebagian kitin dan hidrolisis polimer, sehingga menghasilkan sifat-sifat

fisikokimia yang *inkonsisten*. Selain itu, perlakuan dengan kimia juga menimbulkan masalah dengan pembuangan limbahnya, yaitu air buangnya harus dinetralisasi dan *didetoksifikasi*.

Alternatif untuk mengatasi kelemahan ekstraksi kitin dengan metode kimia adalah metode biologis. Menurut Bustos & Healy (1994) proses ekstraksi kitin secara biologis adalah memanfaatkan aktivitas atau kemampuan mikroba. Pada proses deproteinasi mikroba yang dapat digunakan adalah mikroba proteolitik yaitu mikroba yang memproduksi enzim protease untuk menghidrolisis protein.

Pada penelitian ini mikroba proteolitik yang digunakan adalah *Bacillus licheniformis* F11.1. Strain mikroba ini diisolasi dari kulit udang, bentuknya batang, bersifat aerobik dan penghasil enzim *protease alkaline serine* dengan suhu pertumbuhan optimum 55°C (Waldeck *et al.*, 2006).

Penelitian pendahuluan proses deproteinasi kulit udang dengan *Bacillus licheniformis* F11.1 telah dilakukan dalam skala labu kocok untuk menentukan konsentrasi substrat kulit udang, inokulum, komposisi dan pH medium fermentasi. Agar tahapan deproteinasi dalam ekstraksi kitin ini dapat diaplikasikan dalam industri, maka perlu dilakukan proses deproteinasi dalam skala fermentor.

Menurut Judoamidjojo, dkk. (1990) faktor penting proses yang berlangsung dalam fermentor pada kondisi aerobik adalah penyediaan oksigen terlarut dalam medium fermentasi. Umumnya penyediaan oksigen ini dilakukan dengan pemberian aerasi dan agitasi. Tingkat pemberian aerasi dan kecepatan agitasi yang tepat akan mendukung keberhasilan proses fermentasi.

Tujuan penelitian ini adalah mengkarakterisasi kinetika proses fermentasi dan menentukan tingkat aerasi dan kecepatan agitasi untuk memperoleh tingkat hidrolisis protein maksimal dari kulit udang pada tahapan ekstraksi kitin secara biologis

BAHAN DAN METODE

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Bacillus licheniformis* F11.1 diperoleh dari Culture Collection laboratorium Bioindustri Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), kompleks Puspiptek–Serpong Tangerang, dan kulit udang yang diperoleh dari pabrik pembekuan udang PT Wirontono Baru, Jakarta Utara. Bahan-bahan lain yang digunakan antara lain *yeast ekstrak*, pepton, KH_2PO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dan bahan kimia lainnya yang diperoleh dari rekanan *supplier* laboratorium Bioindustri BPPT.

Metode penelitian digunakan eksperimental dengan rancangan acak lengkap pola faktorial. Perlakuan pertama adalah tingkat aerasi dengan dua taraf yaitu 2,0 vvm dan 2,5 vvm. Perlakuan kedua adalah kecepatan agitasi dengan tiga taraf yaitu 200 rpm, 250 rpm, dan 300 rpm. Parameter yang diamati adalah pertumbuhan bakteri, aktivitas enzim, protein kulit udang dan tingkat hidrolisis protein kulit udang. Data tingkat hidrolisis protein dianalisis secara statistik dengan uji F dan uji Jarak Berganda Duncan, masing-masing pada taraf kepercayaan 95%.

Data pertumbuhan bakteri, aktivitas enzim dan protein kulit udang dianalisis secara diskriptif dalam bentuk grafik.

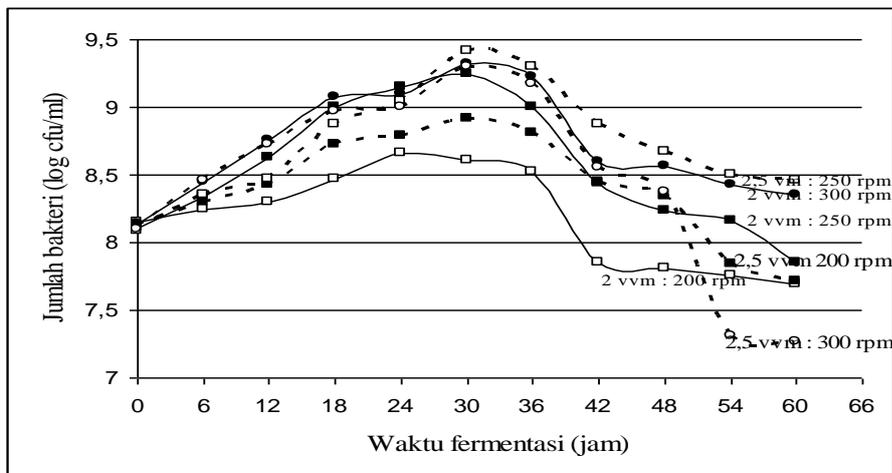
Prosedur percobaan terdiri dari dua tahap. Tahap pertama pembuatan *starter* dan inokulum bakteri *B.licheniformis* F11.1 (Metode Waldeck *et al.*, 2006). *Starter* dibuat dengan mengambil satu ose biakan *B.licheniformis* F11.1 dari *cultur stock* kemudian dimasukkan dalam *erlenmeyer* 125 mL yang diisi 20 mL media LB (*Luria Broth*) steril. Komposisi media LB terdiri dari pepton 1% (b/v); *yeast extract* 0,5% (b/v); NaCl 0,5% (b/v) dan pH ditetapkan 7,5. Setelah itu dikulturasi selama 6 jam pada suhu 55°C dalam *inkubator shaker* yang diagitasi 180 rpm. Pembuatan inokulum dilakukan dengan mengambil 20 mL larutan *starter* kemudian dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* 500 mL yang diisi 180 mL media LB steril. Setelah itu dikulturasi pada suhu 55°C dalam *inkubator shaker* yang diagitasi 180 rpm sampai diperoleh *optical density* (OD) larutan inokulum 0,9 (sekitar 3,5 jam). Tahap kedua adalah proses deproteinasi kulit udang secara biologis (Metode Yang *et al.*, 2000). Kulit udang sebanyak 300 gram ukuran 0,5–1 cm² yang telah dicuci bersih dimasukkan ke dalam fermentor. Selanjutnya ke dalam fermentor itu juga dimasukkan medium fermentasi sebanyak 800 mL dan 200 mL larutan inokulum. Komposisi medium fermentasi terdiri dari *yeast extract* 0,5% (b/v); KH₂PO₄ 0,5% (b/v); CaCl₂ 0,1% (b/v); NaCl 0,5% (b/v) dan MgSO₄ 0,05% (b/v). Setelah itu diinkubasi selama 60 jam pada suhu 55°C dan pH diatur pada kisaran 7,8–8,0, serta diaerasi dan diagitasi sesuai perlakuan. Sampel diambil setiap 6 jam sekali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Laju Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri dalam medium fermentasi dari setiap kombinasi perlakuan memperlihatkan empat fase pertumbuhan yaitu adaptasi, eksponensial, *stationer* dan *decline*. Fase adaptasi terjadi antara jam ke 0 sampai jam ke 12, fase eksponensial antara jam ke 12 sampai jam ke 30, fase *stationer* antara jam ke 30 sampai jam ke 36, dan *decline* antara jam ke 36 sampai akhir proses. Jumlah bakteri tertinggi pada fase *stationer* diperoleh dari kombinasi perlakuan tingkat aerasi 2,5 vvm dengan kecepatan agitasi 250 rpm dengan tingkat kepadatan 9,41 log sel/mL (Gambar 1).

Menurut Calik *et al.* (2000), *Bacillus licheniformis* adalah jenis bakteri yang dapat tumbuh dengan baik pada medium dengan tingkat kelarutan oksigen tinggi. Oleh karena itu tingkat aerasi dan kecepatan agitasi yang tinggi sangat diperlukan. Dengan demikian kombinasi perlakuan 2,5 vvm : 250 rpm tersebut dapat memberikan kelarutan oksigen yang tinggi pada medium fermentasi sehingga bakteri tumbuh dengan baik dan jumlahnya lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya terutama pada fase *stationer*. Adapun kombinasi perlakuan 2,5 vvm:300 rpm tidak memberikan pertumbuhan bakteri yang baik (Gambar 1) walaupun kecepatan agitasinya lebih tinggi jika dibandingkan perlakuan 2,5 vvm : 250 rpm. Hal ini dikarenakan selama proses berlangsung keluar busa.



Gambar 1. Pertumbuhan bakteri dalam medium fermentasi proses deproteinasi kulit udang segar pada berbagai kombinasi perlakuan tingkat aerasi dan kecepatan agitasi

Menurut Zhang (2003), busa dapat menghambat transfer oksigen sehingga kelarutan oksigen dalam medium menurun. Selanjutnya dilaporkan pula bahwa pemberian antibusa juga dapat menghambat transfer oksigen dalam kultur fermentasi karena menyebabkan penggabungan gelembung udara sehingga gelembung udara menjadi besar. Gelembung udara yang besar menyebabkan rasio luas permukaan dengan volume udara menurun sehingga menghambat transfer oksigen.

Aktivitas Enzim

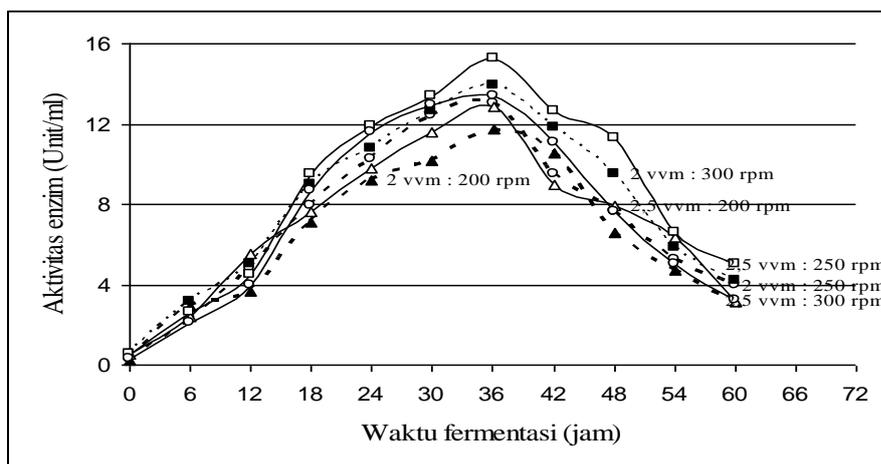
Selama proses fermentasi, bakteri memproduksi enzim baik secara intra maupun ekstra seluler. *B.licheniformis* adalah bakteri yang dapat memetabolisme enzim protease ekstraseluler. Hasil analisis aktivitas enzim dalam medium fermentasi pada setiap kombinasi perlakuan ditunjukkan pada Gambar 2.

Aktivitas enzim protease tertinggi diperoleh pada jam ke 36 dari setiap kombinasi perlakuan (Gambar 2). Pada jam ke 36 tersebut, pertumbuhan bakteri ada dalam fase akhir *stationer* (Gambar 1). Fenomena ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Fleming *et al.* (1995) yaitu bakteri akan memetabolisme enzim secara maksimal pada akhir fase *stationer* nya.

Aktivitas enzim dalam medium fermentasi dari kombinasi perlakuan tingkat aerasi dan kecepatan agitasi 2,5 vvm : 250 rpm pada jam ke 36 adalah 15,26 U/mL dan nilai ini yang paling tinggi dibandingkan kombinasi perlakuan lainnya. Hal ini dikarenakan pada kombinasi perlakuan tersebut jumlah bakterinya setelah jam ke 36 lebih banyak dibandingkan perlakuan lainnya sebagaimana ditunjukkan

pada Gambar 1.

Fenomena ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Waldeck *et al.* (2006) bahwa produksi enzim ditentukan oleh biomassa pada akhir fase *stationer*. Menurut Calik *et al.* (1998), bioproses dipengaruhi oleh banyak parameter dan variabel, tetapi yang paling utama adalah kondisi mikroorganismenya. Jumlah mikroorganisme yang banyak dalam bioproses akan memaksimalkan produk yang diinginkan.



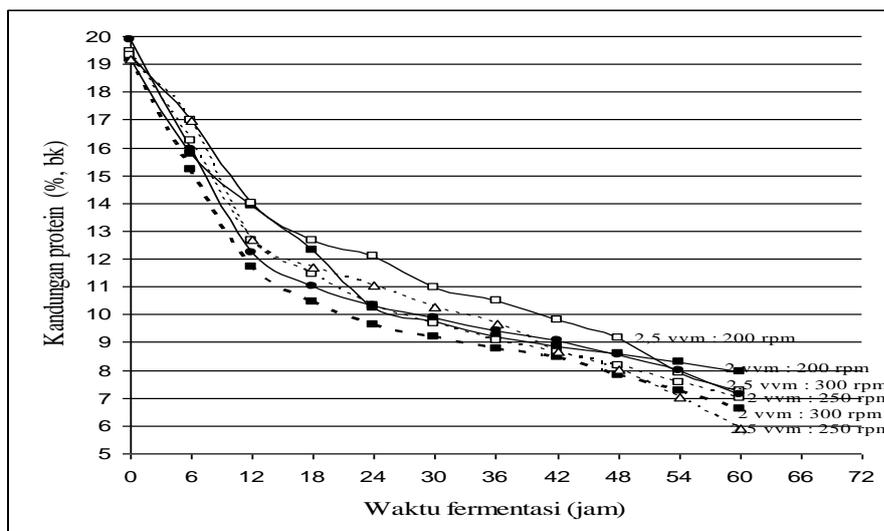
Gambar 2. Pola aktivitas enzim protease dalam medium fermentasi proses deproteinasi kulit udang segar pada berbagai kondisi kombinasi perlakuan tingkat aerasi dan kecepatan agitasi

Berdasarkan Gambar 2, aktivitas enzim dalam medium fermentasi dari setiap kombinasi perlakuan menunjukkan adanya penurunan setelah jam ke 36 sampai akhir proses. Penurunan aktivitas protease tersebut disebabkan nutrisi dalam medium fermentasi mulai berkurang karena sistem fermentasi menggunakan *batch culture*. Menurut Brock *et al.* (1994), jumlah nutrisi yang berkurang dalam medium tidak lagi mendukung pertumbuhan bakteri sehingga menyebabkan pertumbuhan bakteri menurun (Gambar 1). Pertumbuhan bakteri yang menurun menyebabkan enzim yang dihasilkan semakin sedikit sehingga aktivitas enzim menjadi menurun.

Menurut Judoamidjojo, dkk. (1990) penurunan aktivitas enzim juga dapat disebabkan karena adanya mekanisme inhibisi umpan balik (*feedback inhibition*). Menurut Nester *et al.* (1973), inhibisi umpan balik dapat terjadi karena konsentrasi produk akhir yang terakumulasi terlalu tinggi. Produk akhir pada konsentrasi tinggi dapat berperan sebagai inhibitor. Inhibitor terikat pada sisi alosterik dan mengubah konformasi enzim sehingga substrat tidak dapat terikat pada sisi aktif enzim.

Protein Kulit Udang

Enzim protease sebagai produk metabolik, pada percobaan ini digunakan untuk menghidrolisis protein dalam kulit udang sehingga kandungan protein dalam kulit udang menurun. Menurut Lee & Tan (2002), enzim protease mengkatalis reaksi hidrolisis protein dengan tiga tahapan yaitu pembentukan kompleks *Michaelis* antara rantai peptida dengan enzim, pemecahan ikatan peptida menjadi satu peptida bebas dan satu peptida yang masih membentuk kompleks dengan enzim, dan serangan nukleofilik yang berasal dari molekul air untuk memecah satu peptida yang membentuk kompleks dengan enzim dan untuk membentuk kembali enzim bebas. Hasil pengamatan terhadap penurunan kandungan protein kulit udang selama proses fermentasi ditunjukkan pada Gambar 3.



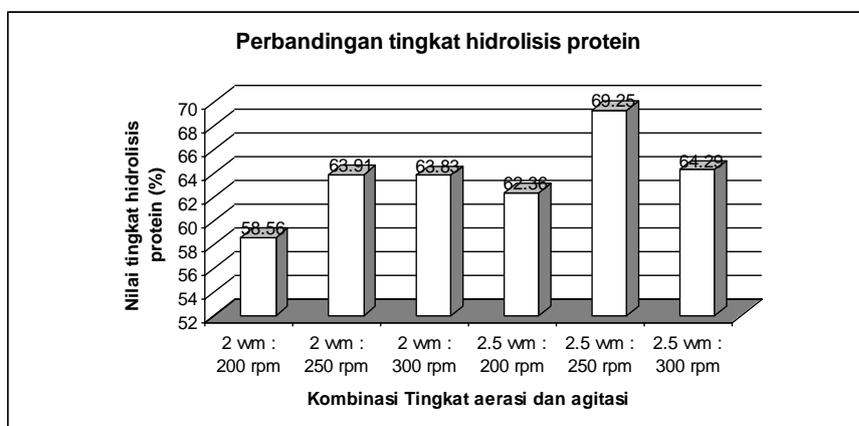
Gambar 3. Pola penurunan kadar protein kulit udang selama proses fermentasi deproteinasi kulit udang segar pada berbagai kondisi kombinasi perlakuan tingkat aerasi dan kecepatan agitasi

Berdasarkan Gambar 3, penurunan kadar protein dari berbagai kombinasi perlakuan tingkat aerasi dan kecepatan agitasi menunjukkan pola yang sama yaitu terjadi penurunan yang sangat drastis selama 12 jam pertama, kemudian setelah itu terjadi penurunan yang perlahan sampai akhir proses fermentasi. Menurut Raabe & Sachs (2005), pada kulit udang terdapat tiga lapisan utama yaitu lapisan epikutikula, eksokutikula dan endokutikula. Setiap lapisan tersebut dihasilkan oleh lapisan tunggal dari sel epidermis dan mengandung protein. Lapisan paling luar yaitu epikutikula adalah sangat tipis dan proteinnya berikatan dengan lipid, sedangkan lapisan paling dalam yaitu endokutikula adalah tebal dan proteinnya berikatan dengan kitin. Dengan demikian, penurunan yang sangat drastis pada 12

jam pertama tersebut dikarenakan protein awal yang terhidrolisis ada pada lapisan luar yang sangat tipis sehingga memudahkan enzim untuk menghidrolisisnya. Selain itu keterikatan protein dengan lipid tidak begitu kuat jika dibandingkan keterikatan protein dengan kitin.

Tingkat Hidrolisis Protein Kulit Udang

Tingkat hidrolisis protein yang diperoleh dari berbagai kombinasi perlakuan tingkat aerasi dan kecepatan agitasi adalah berbeda sebagaimana yang ditunjukkan pada Gambar 4. Tingkat hidrolisis tertinggi diperoleh dari kombinasi perlakuan 2,5 vvm : 250 rpm yaitu 69,25%, sedangkan terendah diperoleh dari kombinasi perlakuan 2 vvm : 200 rpm yaitu 58,56%. Tingkat hidrolisis protein sebesar 69,25% yang diperoleh dari percobaan ini lebih baik jika dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dari percobaan yang dilakukan oleh Mizami dan Aminlari (2007) yaitu sebesar 64 persen. Percobaan yang dilakukannya adalah menghidrolisis protein dari kepala udang menggunakan enzim alkalase 0,5%.



Gambar 4. Tingkat hidrolisis protein yang diperoleh dari berbagai kombinasi perlakuan tingkat aerasi dan kecepatan agitasi

Berdasarkan hasil analisis statistik uji F, tingkat hidrolisis protein pada proses deproteinasi dipengaruhi oleh tingkat aerasi dan kecepatan agitasi. Selain itu terdapat interaksi antara tingkat aerasi dan kecepatan agitasi terhadap tingkat hidrolisis protein yang diperoleh. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan pengaruh interaksi antar perlakuan, maka dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf kepercayaan 95% sebagaimana terlihat pada Tabel 1.

Tingkat hidrolisis protein tertinggi menunjukkan bahwa jumlah protein yang terhidrolisis dari kulit udang adalah paling banyak. Pada percobaan ini, hidrolisis protein dari kulit udang dilakukan oleh aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh *Bacillus licheniformis* F11.1 yang diinokulasikan.

Pengaruh Tingkat Aerasi dan Kecepatan Agitasi Terhadap Tingkat Hidrolisis Protein Kulit Udang Pada Tahapan Ekstraksi Kitin Secara Biologis (Junianto, Djumali Manguwidjadja, Suprihatin, Mulyorini, dan Budiasih Wahyuntari)

Tabel 1. Uji jarak berganda Duncan pengaruh interaksi dari setiap kombinasi perlakuan terhadap hidrolisis protein kulit udang (%)

Tingkat aerasi (vvm)	Tingkat agitasi (rpm)		
	200	250	300
2	A 58,56 a	B 63,91 a	B 63,83 a
2,5	A 62,38 b	B 69,25 b	C 64,29 a

Keterangan : - Huruf besar yang sama ke arah baris menunjukkan tidak berbeda nyata
- Huruf kecil yang sama ke arah kolom menunjukkan tidak berbeda nyata

Kombinasi perlakuan 2,5 vvm, : 250 rpm yang memperoleh tingkat hidrolisis protein tertinggi dikarenakan aktivitas enzim pada kondisi kombinasi perlakuan tersebut adalah paling tinggi dibandingkan perlakuan lainnya; terutama setelah memasuki jam ke 36 proses fermentasi (Gambar 2). Hal ini sesuai dengan pernyataan Bustos & Healey (1994), keberhasilan untuk menghidrolisis protein dari kulit udang secara biologis dipengaruhi oleh jumlah enzim protease yang diproduksi oleh bakteri dan aktivitas enzim protease selama kondisi proses berlangsung.

Jumlah dan aktivitas enzim dalam medium fermentasi dipengaruhi oleh jumlah bakteri yang tumbuh dalam medium tersebut. Hubungan antara jumlah dan aktivitas enzim dengan jumlah bakteri adalah berkorelasi positif. Artinya semakin banyak bakteri maka semakin banyak enzim yang dikeluarkan sehingga aktivitas enzimnya juga tinggi (Suhartono, 1989).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Tingkat kepadatan bakteri tertinggi 9,41 log cfu/mL dicapai pada jam ke 30 waktu fermentasi sedangkan aktivitas enzim protease tertinggi 15,26 U/mL dicapai pada jam ke 36 waktu fermentasi.
2. Tingkat hidrolisis protein tertinggi 69,25% diperoleh dari tingkat aerasi dan kecepatan agitasi 2,5 vvm : 250 rpm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Laboratorium Bioindustri BPPT atas segala fasilitas yang diberikan selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- BPS. 2007. Sektor Produksi Komoditi Perikanan Indonesia. 2006. Jakarta.
- Brock, T.D., Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. 1994. Biology of Microorganism. 7th ed. New Jersey: Prentice Hall, Inc., USA.

- Bustos, R.O & Healy, M.G. 1994. Microbial Extraction of Chitin From Prawn Shell Waste. Proceeding From the 6 th International Conference on Chitin and Chitosan, Held in Gdynia, Poland, 16–19 Agustus.
- Calik, P., Calik G., & Ozdamar, T. H. 2000. Oxygen-Transfer Strategy and Its Regulation Effects in Serin Alkaline Protease Production by *Bacillus licheniformis*. J. Biotechnology an Bioengineering, 69, 301–311.
- Dhewanto, M. & Kresnowati, M. T. A. P. 2002. Chitosan Industry, An Alternative for Maritime Industry Empowerment in Indonesia. Proceeding pp.327-333. ISSM Committee: ISTECS-Europe.
- Fleming. A.B., Tangney, M., Jorgensen, P. L., Diderichsen, B., & Priest, F. G. 1995. Extracellular Enzyme Synthesis in a Sporulation-Deficient Strain of *Bacillus licheniformis*. J. Appl and Enviromental Microbiology, 61, 3775–3780.
- Judoamidjojo. M, Darwis, A. A., dan Said, E. G. 1990. Teknologi Fermentasi. 332 hal. Bogor: IPB Press.
- Lee, V & Tan, E. 2002. Enzymatic Hydrolysis of Prawn Shell Waste for The Purification of Chitin. Departement of Chemical Engineering, Loughborough University. Available online at <http://www.lboro.ac.uk/>. (diakses 17 Mei 2007).
- Mangunwidjaja, D. dan Harahap, V. U. 2001. Optimasi Proses Pembuatan Khitosa Dari Limbah Udang. J. Tekn.Ind.Pert, 7(1), 37-47.
- Mao, W., Pan, R., & Freedman, D. 1992. High Production of Alkaline Protease by *Bacillus licheniformis* in a Fed-Batch Fermentation Using a Synthetic Medium. J of Industrial Microbiology, 11, 1-6.
- Mizami. A.M., & Aminlari, B. M. 2007. A New Process for Deproteinization of Chitin from Shrimp Head Waste. Proceedings of European Congress of Chemical Engineering, Copenhagen, September 16–20.
- Muzzarelli. 2000. Chitin. Dept of Polymer Science, University of Southern Mississippi. Url: <http://www.usm.edu/>.
- Nester, E.W., Maccarthy, B. J., Roberts, C. E., & Persall, N. N. 1973. Microbiology, molecules, microbes, and man. 719 pp. New York: Holt, Rinehart and Winston, Inc.
- No, H.K, Meyers, S. P., & Lee, K. S. 1989. Isolation and Characterization of Chitin from Crawfish Shell Waste. J. Agric. Food Chem, 37, 575–579.
- Raabe. D & Sachs, C. 2005. Mechanical Properties of the Lobster Cuticle. J. Materials Reseach Society, 8, 31–36.
- Suhartono, M.T. 1989. Enzim dan Bioteknologi. 321 hal. Bogor: PAU-IPB press.

Pengaruh Tingkat Aerasi dan Kecepatan Agitasi Terhadap Tingkat Hidrolisis Protein Kulit Udang Pada Tahapan Ekstraksi Kitin Secara Biologis (Junianto, Djumali Manguwidjadja, Suprihatin, Mulyorini, dan Budiasih Wahyuntari)

- Waldeck, J, Daun, G., Bisping, B., & Meihardt, F. 2006. Isolation and Molecular Characterization of Chitinase-Deficient *Bacillus licheniformis* Strains Capble of Deproteinization of Shrimp Shell Waste to Obtain Higly Viscous Chitin. *J. Appl. Environ. Microbiol*, 72, 7879–7885.
- Yang, J. K., Shih, I. L., Tseng, Y. M. & Wang, S. L. 2000. Production and Purification of Protease From a *Bacillus subtilis* that Deproteinize Crustacean Waste. *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 406–413.
- Zhang, W. 2003. Microbubble Fermentation of Recombinant *Pichia Pastoris* for Human Serum Albumin Production. Thesis. 104 pp. Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia.