

**KARAKTERISTIK PEPTON SEBAGAI MEDIA PERTUMBUHAN BAKTERI
YANG TERJAMIN HALAL DARI LIMBAH KURISI
(*Nemipterus* sp.)**

M. D. Pratomo¹, D. W. Wardani², N. A. Revonagara³ dan A. A. Jaziri⁴

Teknologi Hasi Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
azizjaziri@ub.ac.id

Abstrak: Pepton merupakan sumber nitrogen sebagai media pertumbuhan mikroorganisme. Umumnya, pepton berasal dari babi dan turunannya. Penggunaan pepton yang berasal dari babi jelas diharamkan, dan jelas tidak halal. Sebagai alternatif, pepton dari limbah pengolahan ikan yang sudah terjamin halal, salah satunya limbah ikan kurisi (*Nemipterus* sp.). Tujuan penelitian ini mendapatkan pepton dengan tiga perlakuan asam berbeda (asam sitrat, asam format dan asam propionat) menggunakan metode eksperimen, dengan rancangan acak lengkap (RAL). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan tiga jenis asam berpengaruh nyata terhadap nilai rendemen, total N, protein, protein terlarut, pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan biomassanya. Rata-rata tertinggi rendemen basah didapatkan 66,17% sedangkan rendemen kering 3,87% pada perlakuan asam fosfat. Nilai pH tertinggi 5,3 pada asam sitrat. Uji karakteristik pepton limbah ikan kurisi menunjukkan bahwa kandungan protein terlarut berkisar 2-4 g/L, total N 1-1,3 %, dan total protein 6-8,12 %. Asam amino yang terkandung terdiri dari asam amino esensial dan non-esensial. Nilai *optical density* dan biomassa bakteri ditumbuhkan pada media yang menggunakan pepton limbah ikan kurisi lebih tinggi dibandingkan pertumbuhan bakteri *E. coli* pada media yang menggunakan pepton komersial. Temuan ini mengungkapkan bahwa pepton dari limbah ikan kurisi fisibel dikembangkan sebagai produk halal secara komersial untuk media pertumbuhan mikroba.

Kata kunci: jenis asam, hidrolisis, limbah kurisi, mikroba, pepton

PENDAHULUAN

Pepton merupakan salah satu bahan yang digunakan sebagai sumber nitrogen pada media pertumbuhan mikroba (Saputra dan Nurhayati, 2013). Pepton diekstraksi dengan hidrolisis protein dari bahan pangan. Kebutuhan pepton di Indonesia rata-rata 5 juta kg per tahun, dengan nilai USD 20 juta. Pepton digunakan di laboratorium dan industri bioteknologi, seperti pangan, farmasi, maupun obat-obatan. Kebutuhan pepton dipenuhi melalui impor dengan harga sangat mahal dan cenderung meningkat setiap tahun. Namun, isu kehalalan suatu produk menjadi perhatian khusus, salah satunya pada produk mikrobial. Titik kritis produk mikrobial terdapat di media pertumbuhannya sebagaimana yang tertulis pada *Halal Assurance System* (HAS) Majelis Ulama Indonesia (MUI) dan UU Jaminan Produk Halal (JPH).

Umumnya, sumber utama pepton berasal dari hewan darat, seperti babi, sapi. Babi diharamkan menurut Islam, sementara sapi memiliki masalah seperti *bovine spongiform encephalopathy* (BSE), dan *transmissible spongiform encephalopathy* (TSE) (Trivedi, et al. 2015), dan beberapa agama tidak membolehkan menggunakan sapi. Oleh karena itu, dibutuhkan pepton dari bahan baku lainnya, yang tidak beresiko penyakit dan jelas kehalalannya, seperti limbah pengolahan hasil perikanan. Limbah perikanan sangat potensial sebagai pepton halal,

dimana jumlah limbah pengolahan hasil perikanan sebesar 30%. Produksi perikanan nasional mencapai 23,26 juta ton pada 2017, jika dihitung limbahnya didapatkan sebanyak 6,97 juta ton, dan apabila termanfaatkan menjadi pepton maka menghasilkan 24,9 ribu ton, dimana 1kg pepton membutuhkan 280 kg ikan.

Produksi pepton halal secara kimiawi menggunakan pelarut asam, seperti asam format, sitrat, fosfat, dan propionate (Shirahigue, *et al.* 2018). Pelarut tersebut termasuk *halal positive list*. Shirahigue, *et al.* (2018), melaporkan bahwa pepton dari limbah ikan nila dan cobia dengan kombinasi asam sitrat, propionat dan format mempunyai kesamaan dengan pepton komersil. Hal ini memberikan peluang pemanfaatan limbah ikan lainnya sebagai sumber pepton halal, salah satunya limbah pengolahan ikan surimi.

Pengolahan surimi umumnya menggunakan ikan kurisi (*Nemipterus sp.*) sebagai bahan baku utama. Limbah pengolahan surimi dari ikan kurisi dalam bentuk isi perut (jeroan), kepala, kulit dan sirip tidak banyak dimanfaatkan, bahkan ketersediaanya mampu menyebabkan pencemaran di lingkungan. Oleh karena itu, pemanfaatan limbah surimi menjadi produk yang memiliki nilai jual dan nilai tambah sangat diharapkan, seperti sebagai bahan produksi pepton halal untuk pertumbuhan mikroorganisme. Selain itu, tidak ditemukan penelitian yang mengeksplorasi pemanfaatan limbah surimi dari ikan kurisi sebagai produksi pepton, sehingga penelitian ini untuk memproduksi inovasi media *ready to use* terjamin halal sebagai sumber nitrogen pada pertumbuhan mikroorganismedari limbah pengolahan surimi ikan kurisi.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan untuk pembuatan pepton halal meliputi limbah ikan kurisi (*Nemipterus sp.*) yang diperoleh dari PT. Kelola Mina Laut Tuban, asam sitrat, asam format, asam propionat, alumunium foil, kertas label dan aquades. Adapun bahan yang digunakan untuk analisa meliputi larutan H_2SO_4 pekat, NaOH 45%, tablet Kjeldahl, 4M asam methanesulfonat yang mengandung 0,2% (v/v) 3-2 (2-aminoethyl), 3M NaOH, 0,2M buffer sitrat (pH 2,2), Aliquot 0,04 mL, pepton komersil (merk Difco), 1M HCl dan *Yeast extract*.

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan pepton halal yaitu baskom, blender, *coolbox*, *stopwatch*, *thermometer*, *oven vacum*, *hot plate*, beaker glass 500 ml, nampang alumunium, spatula, gelas ukur 100 ml, timbangan digital, *sentrifuge*, *waterbath* dan *spektrofotometer*. Alat yang digunakan untuk analisa adalah pH meter, *beaker glass*, timbangan analitik, cuvet, oven, cawan porselen, tanur, desikator, dan soxhlet. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen. Metode ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh penambahan pelarut asam kualitas produksi pepton halal.

Prosedur penelitian produksi pepton halal dari limbah ikan kurisi (*Nemipterus sp.*) seperti yang dijelaskan oleh Shirahigue, *et al.* (2018), dengan beberapa modifikasi. Tahapan pertama yang dilakukan adalah analisis dan produksi pepton dari limbah surimi kurisi. Limbah kepala ikan kurisi dihaluskan dan diukur pH awal, kemudian ditambahkan 10% aquades diikuti dengan penambahan 5% asam format, propionat dan sitrat pada masing-masing perlakuan. Setelah penambahan asam, dilakukan perlakuan pH terukur pada nilai pH 4. Dilakukan pengadukan sampai homogen kemudian ditutup menggunakan alumunium foil hingga separuh bagian daripada *beaker glass* tertutup. Perlakuan selanjutnya yaitu inkubasi pada suhu 40°C menggunakan *waterbath* selama 120 jam (5 hari) dengan pengecekan dilakukan setiap 24 jam sekali dengan cara menggojok larutan pada *beaker glass*. Setelah masa inkubasi selesai, pindahkan 12 mL larutan ke dalam cuvet berukuran 15 mL, kemudian sentrifuge menggunakan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit.

Hasil sentrifuge didapatkan 3 fase sampel yaitu *solid phase*, *aqueous phase* dan *oil phase*. Sampel yang diambil dan dilakukan uji lanjutan adalah *aqueous phase*, sehingga pengambilan *aqueous phase* dilakukan menggunakan mikropipet dan dipindahkan ke dalam tabung vial kaca. Rendemen yang didapatkan diukur pH akhir menggunakan pH meter dan dihitung berat rendemen yang didapatkan menggunakan timbangan digital. Setelah didapatkan data rendemen, perlakuan

selanjutnya adalah *spray dry* yang bertujuan untuk mengubah sampel pada fase cair menjadi fase padatan atau bubuk, kemudian dilanjutkan ke tahap kedua yakni analisis total protein, protein terlarut, total nitrogen, asam amino, pertumbuhan mikroba dan biomassa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Proksimat Limbah Ikan Kurisi

Hasil proksimat bahan baku limbah ikan kurisi (*Nemipterus sp.*) berupa protein, lemak dan air terdapat pada Tabel 1.

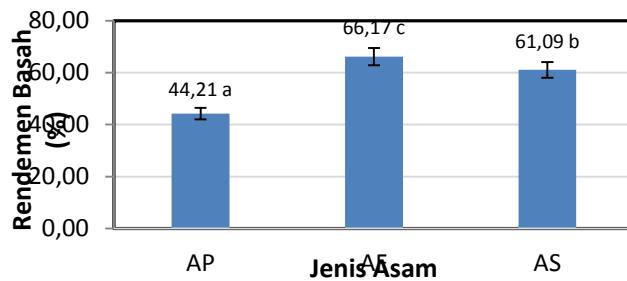
Tabel 1. Hasil Proksimat (%)

Parameter	% Proksimat
Protein	16.52 ± 0.22
Lemak	0.53 ± 0.03
Kadar air	79.26 ± 0.19

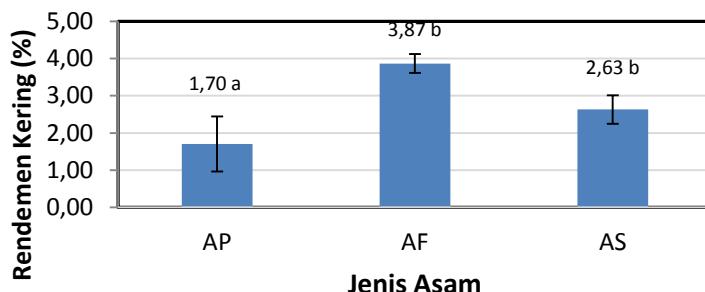
Berdasarkan analisis proksimat limbah ikan kurisi didapatkan kandungan protein sebesar 16.52%, lemak 0.53%, dan kadar air 79.26%. Saputra dan Nurhayati (2013) menyatakan bahwa kandungan protein bahan baku pepton ikan lebih tinggi dari pada bahan selain ikan, dan sangat bagus digunakan produksi pepton dikarenakan semakin tinggi proteinnya, maka total nitrogen yang terkandung pada pepton akan semakin tinggi, dimana nitrogen adalah salah satu unsur yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme (Najim *et al.*, 2015)

Rendemen

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perbedaan jenis asam berbeda nyata terhadap rendemen basah dan kering pepton limbah ikan kurisi ($P<0.05$). Nilai rendemen basah pepton yang berasal dari limbah kurisi yang dihidrolisis selama 120 jam dapat dilihat pada Gambar 1. Sedangkan nilai rendemen pepton setelah mengalami pengeringan menggunakan *spray dryer* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Rendemen basah hasil hidrolisis

**Gambar 2.** Rendemen kering hasil *spray drying*

Persentase rendemen basah dan rendemen kering tertinggi diperoleh pada hidrolisis menggunakan asam format dengan nilai 66,17% dan 3,87%. Pepton yang diproduksi dengan hidrolisis asam lebih baik dibandingkan hidrolisis menggunakan basa. Hal ini berkorelasi dengan enzim endogen yang terdapat pada bahan baku yang berpengaruh pada rendemen yang didapatkan. Semakin tinggi nilai rendemen, menandakan bahwa semakin efektif hidrolisis yang dilakukan oleh asam (Najim, *et al.* 2015).

Nilai pH

Derajat keasaman (pH) pada produksi pepton menjadi salah satu parameter penting dalam produksi pepton dari limbah ikan kurisi. Pengukuran nilai pH larutan dilakukan untuk mengetahui sifat pepton yang terhidrolisis oleh tiga perlakuan asam berbeda. Nilai rerata pH pepton dari limbah ikan kurisi dapat dilihat pada Tabel 2.

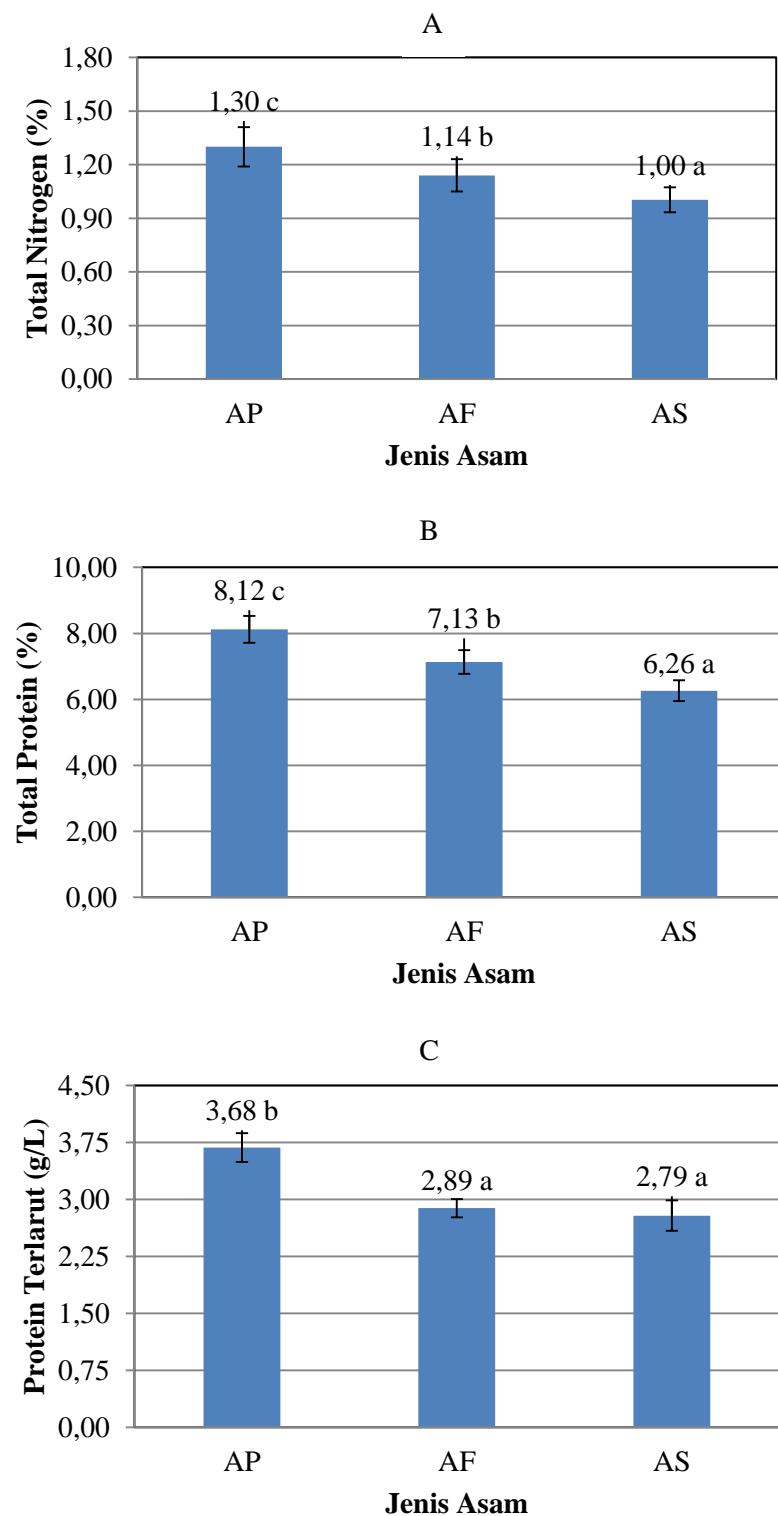
Tabel 2. Nilai rerata Ph

Perlakuan	pH Awal Sampel	pH Awal Inkubasi	pH Akhir Inkubasi
Asam Propionat		4,1	3,6
Asam Format	6,9	4,1	4,5
Asam Sitrat		4,1	5,3

Nilai pH yang rendah menunjukkan terdenaturasinya protein dalam daging ikan kurisi sehingga mengakibatkan pemecahan ikatan asam amino. Nilai pH yang didapatkan menunjukkan konsentrasi ion H⁺ yang dilepas selama masa hidrolisis (Saputra dan Nurhayati, 2013). Sesuai dengan hasil penelitian Yin, *et al.* (2008) yang menyebutkan bahwa selama hidrolisis, kisaran pH berada pada 4,0-6,0 lalu mengalami perubahan pada kisaran 3,0-7,0.

Total Nitrogen, Total Protein dan Protein Terlarut

Komposisi total nitrogen, total protein dan protein terlarut terdapat pada Gambar 3.



Gambar 3. A) Total N (%), B) Total protein (%), dan C) Protein terlarut (g/L). AP: Asam Propionat, AF: Asam Format, dan AS : Asam Sitrat

Hasil analisis varians menunjukkan bahwa perbedaan jenis asam menghasilkan perbedaan nyata ($P<0,05$) terhadap total nitrogen, total protein dan protein terlarut. Fraksi cair dari pepton kasar menunjukkan hasil total nitrogen, total protein dan protein terlarut tertinggi pada perlakuan asam propionat dengan nilai 1,30%, 8,12% dan 3,68 g/L.

Komposisi Asam Amino

Nilai asam amino pepton dari limbah ikan Kurisi yang dihidrolisis dengan tiga jenis asam yang berbeda lebih rendah dibandingkan dengan pepton komersial, Hal ini sesuai pernyataan Shirahigue, *et al.* (2018), yang menyatakan bahwa nilai asam amino pepton yang dihidrolisis menggunakan asam dari ikan nila (*Oreochromis niloicus*) dan Cobia (*Rachycentron canadum*) lebih rendah dibandingkan dengan pepton komersial merk Difco. Namun apabila dibandingkan dengan ketiga perlakuan asam, hasil tertinggi diperoleh oleh perlakuan hidrolisis dengan asam propionat. Nilai asam amino tertinggi didapatkan asam glutamat yang memperoleh hasil 4.92 mg/100g.

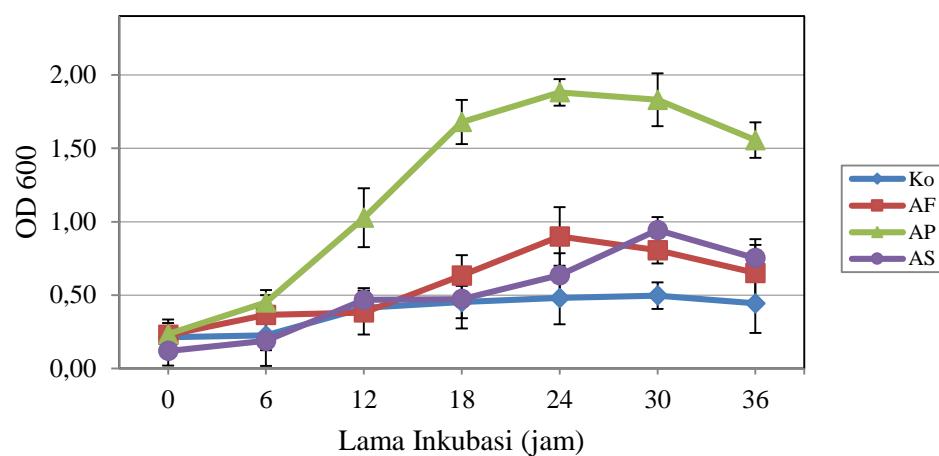
Tabel 3. Hasil Asam Amino fraksi cair

Asam Amino	Difco*	AP	AF	AS
Alanin	7,7	2.17	0.32	0.11
Arginin	8,6	2.90	0.39	0.05
Asam Aspartat	7,7	2.85	0.44	0.18
Glisin	16,4	3.85	0.56	0.24
Isoleusin	1,8	1.41	0.19	0.08
Leusin	4,4	2.67	0.36	0.13
Asam Glutamat	12,1	4.92	0.72	0.09
Lisin	4,7	2.59	0.37	0.04
Sistein	0,2	n.d	n.d	n.d
Methionin	0,8	n.d	n.d	n.d
Fenilalanin	2,6	1.91	0.24	0.09
Tirosin	0,9	1.32	0.17	0.02
Threonin	2,5	1.77	0.24	0.03
Asam Amino Esensial				
Tryptophan	n.d	n.d	n.d	n.d
Prolin	n.d	1.93	0.29	0.10
Valin	2,8	1.69	0.23	0.09
Histidin	0,8	0.97	0.12	0.02
Serin	3,9	1.59	0.23	0.08
Taurin	n.d	n.d	n.d	n.d

*Shirahigue *et al.*, 2018; (AP) Asam Propionat; (AF) Asam Format; (AS) Asam Sitrat.

Pertumbuhan *E. coli* (OD 600)

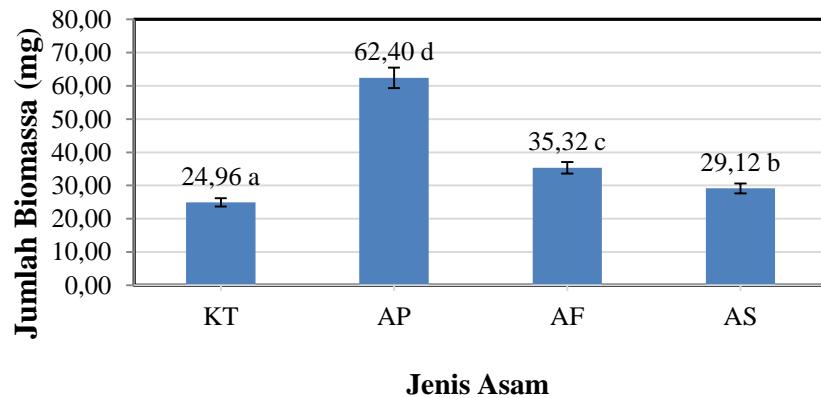
Pengukuran OD600 menggunakan spektrofotometer dengan pengukuran pada waktu inkubasi *E. coli* dengan membandingkan pepton komersial dan pepton hasil ekstraksi limbah kurisi pada jam ke-0, 6, 12, 18, 24, 30 dan 36 diperlihatkan pada Gambar 4.

**Gambar 4.** Pertumbuhan mikroba berdasarkan *optical density* (OD 600nm)

Pertumbuhan *E.coli* pada pepton komersial, mengalami kenaikan pada jam ke 6, pertumbuhan stasioner pada jam ke 12 dan menalami penurunan pertumbuhan pada jam ke 30. Sedangkan pepton yang dihasilkan melalui hidrolisis asam propionat, *E. coli* mengalami kenaikan pertumbuhan pada jam ke 6, fase stasioner pada jam ke 18 dan mengalami penurunan pada jam ke 24. Hidrolisis menggunakan asam format menghasilkan pepton dengan pertumbuhan *E.coli* mengalami kenaikan pada jam ke 6, stasioner pada jam ke 24 dan mengalami penurunan pada jam ke 24. Hidrolisis asam sitrat menghasilkan pertumbuhan mengalami kenaikan pada jam ke 6, stasioner pada jam ke 30 dan penurunan jam ke 30. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ingraham dan Ingraha (2010), pertumbuhan eksponensial tidak dapat diukur berdasarkan lama waktu, pertambahan jumlah sel bakteri pada media biakan berdasarkan penggunaan nutrien dan produksi hasil sampingan yang dihasilkan.

Biomassa

Analisis keragaman didapatkan bahwa perbedaan jenis asam menghasilkan perbedaan nyata terhadap jumlah biomassa ($p<0,05$). Hasil produksi biomassa bakteri *E. coli* dan *S. aureus* pada pepton komersil dan non komersil hasil ekstraksi menggunakan tiga asam berbeda dengan ditampilkan pada Gambar 6.

**Gambar 5.** Produksi biomassa pada pertumbuhan *E. coli*

Biomassa tertinggi pada pertumbuhan *E.coli* didapatkan pada pepton hasil hidrolisis menggunakan asam propionat, yakni 62,40 sedangkan terendah pada kontrol (pepton komersial)

yakni 24,96. Hasil produksi biomassa pada pepton hasil hidrolisis ikan kurisi mendapat hasil lebih tinggi dibandingkan pepton komersial. Hal ini menandakan bahwa pepton yang berasal dari hidrolisis ikan kurisi efektif dalam menumbuhkan media berdasarkan hasil pengujian biomassa yang menandakan bahwa sumber nitrogen dan karbon pada pepton untuk pertumbuhan bakteri lebih banyak dan lebih maksimal.

Ekstraksi pepton yang diperoleh dari limbah lobster dan udang menghasilkan bimassa bakteri *E. coli* lebih tinggi dibandingkan dengan pepton kontrol atau pepton komersil (Vieira, *et al.* 2005). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi biomassa yang didapatkan, maka efisiensi penggunaan pepton sebagai substrat pada pertumbuhan mikroba semakin tinggi (Poernomo dan Buckle 2002).

KESIMPULAN

Penelitian tentang produksi pepton halal sebagai media pertumbuhan mikroba dengan perlakuan tiga asam berbeda dapat disimpulkan bahwa perbedaan perlakuan asam pada hidrolisis pepton dari limbah ikan kurisi memberikan hasil perbedaan nyata pada rendemen, pH, total protein, asam amino, *Optical Density* (OD) dan Biomassa. Rendemen tertinggi didapatkan pada perlakuan hidrolisis asam format. Nilai total protein, total protein terlarut dan total nitrogen tertinggi pada perlakuan asam propionat, asam amino tertinggi oleh asam glutamat. Sedangkan nilai OD didapatkan waktu bervariasi pada fase log-stasioner-kematian. Biomassa didapatkan nilai tertinggi pada perlakuan asam propionat.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington. Virginia, USA: Published by The Association of Official Analytical Chemist.Inc
- Atma Y, Taufik M dan Seftiono H. 2017. *Identifikasi Resiko Titik Kritis Kehahalan Produk Pangan: Studi Produk Bioteknologi*. Jurnal Teknologi Volume 10 Nomor 1.
- Ingraham, J. L., and Ingraha, C. A. 2010. *Crescimento De Micro-Organismos*. In: *Introdução À Microbiologia: Uma Abordagem Baseada Em Estudos De Casos*, 3 ed., São Paulo: Cengage Learning. Pp. 199
- Najim SM, Al-Noor JM and Al-Waely WA. 2015. *Extraction of crude pepton from fish wastes for use as a nitrogen source in microbiological media*. Global Journal of Fisheries and Aquaculture Researches. Volume 2 Pages 29-37.
- Poernomo A and Buckle KA. 2002. *Crude pepton from cowtail ray (*Trygon sephen*) viscera as microbial growth media*. World Journal Microbiology Biotechnology. Volume 18 Pages 333-340.
- Saputra D, dan Nurhayati T. 2013. *Application and Production of Yellowstripe Sead Fish Pepton for Bacteria's Growth Media*. JPHPI Volume 16 Nomor 3.
- Shirahigue LD, Ribeiro IS, Sucatas LFA, Anbe L, Vaz-Pires P and Oetterer M. 2018. *Peptons in Silage from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Cobia (*Rachycentron canadum*) Waste as a Culture Medium for Bioprocesses*. Journal of Aquatic Food Product Technology Volume 27 Nomor 6 Pages 712-721.
- Trivedi MK, Branton A, Trivedi D, Nayak G, Singh R and Jana S. 2015. *Physical, Spectroscopic and Thermal Characterization of Biofield Treated Fish Pepton*. European Journal of Biophysics Volume 3 Nomor 6 Pages 51-58.

Seminar Nasional Kelautan XIV

“ Implementasi Hasil Riset Sumber Daya Laut dan Pesisir Dalam Peningkatan Daya Saing Indonesia”

Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan Universitas Hang Tuah, Surabaya 11 Juli 2019

Vieira GHF, Vieira RHSF, Macrae A and Souza OV. 2005. *Pepton preparation from fishing by-products*. Journal of Science Food Agriculture. Volume 85 Pages 1235-1237.

Yin SW, Chuan-He T, Jin-Song C, Er-Kun H, Qi-Biao W and Xiao-Quan Y. 2008. *Effects of limited enzymatic hydrolysis with trypsin on the functional properties of hemp (Cannabis L.) protein isolate*. Journal of Food Chemistry Volume 106 Pages 1004-1013.