



Sample Preparation Technique for Scanning Electron Microscopy in Analyzing Shrimp Shell Biodegradation by Actinomycetes through Solid-State Fermentation

Widyastuti ^{1*}, Annisa Ananda ², Rohimatul Anwar ³, Kurniawan Shidiq ⁴

¹⁻³ Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Bandar Lampung, 35145, Indonesia

⁴ Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Program Studi D4 Pengembangan Produk Agroindustri, Politeknik Negeri Tanah Laut, Kalimantan Selatan, 70815, Indonesia

widyastuti@fmipa.unila.ac.id ^{1*}, annisananda@fmipa.unila.ac.id ²,
rohimatul.anwar@fmipa.unila.ac.id ³, kurniawanshidiq@politala.ac.id ⁴

Alamat: Jl. Prof. Sumantri Brodjonegoro No. 1 Bandar Lampung, 35145, Indonesia

Korespondensi penulis: widyastuti@fmipa.unila.ac.id

Abstract. Shrimp shell waste is a chitin-rich biopolymer with high potential for microbial bioconversion into value-added products. This study aimed to analyze the microstructural degradation of shrimp shells by the actinomycete isolate 18D38A1 under solid-state fermentation, using Scanning Electron Microscopy (SEM). A fresh sample preparation method was applied, involving washing and immersion in 70% ethanol, followed by vacuum drying and gold sputter-coating. Fermentation was conducted over a period of 1 to 4 days. SEM analysis revealed progressive structural deterioration of the shrimp shell matrix, including increased surface erosion, pore formation, and breakdown of chitin fibers, which became more pronounced each day. These observations indicate active and time-dependent biodegradation by isolate 18D38A1. The sample preparation protocol proved effective in preserving morphological features and enhancing SEM image clarity, enabling precise visualization of degradation stages. The combination of solid-state fermentation and optimized SEM preparation provides a reliable approach to evaluate the biodegradation process of chitinous waste by actinomycetes over time. This study demonstrates a practical SEM sample preparation method for visualizing the progressive biodegradation of shrimp shell by actinomycete isolate 18D38A1 from day 1 to day 4.

Keywords: Actinomycetes, Sample Preparation, Scanning Electron Microscopy, Shrimp Shell Biodegradation, Solid-State Fermentation

Abstrak. Limbah kulit udang merupakan biopolimer kaya kitin yang berpotensi dikonversi secara mikrobiologis menjadi produk bernilai tambah. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis degradasi mikrostruktur kulit udang oleh isolat aktinomisetes 18D38A1 melalui fermentasi padat, menggunakan Mikroskop Elektron Pindai (SEM). Teknik preparasi sampel metode segar digunakan, meliputi pencucian dan perendaman dalam etanol 70%, dilanjutkan dengan pengeringan vakum dan pelapisan emas (gold coating). Fermentasi dilakukan selama 1 hingga 4 hari. Hasil pencitraan SEM menunjukkan degradasi struktur kulit udang yang semakin meningkat seiring waktu, ditandai dengan erosi permukaan, pembentukan pori, dan kerusakan serat kitin yang semakin jelas dari hari ke hari. Temuan ini menunjukkan aktivitas biodegradasi yang kuat dan bersifat waktu-dependen oleh isolat 18D38A1. Protokol preparasi sampel yang digunakan terbukti efektif dalam mempertahankan struktur morfologi dan menghasilkan citra SEM yang jelas, sehingga mampu mengidentifikasi setiap tahapan degradasi secara tepat. Kombinasi fermentasi padat dan teknik preparasi SEM yang dioptimasi merupakan pendekatan yang andal untuk mengevaluasi proses biodegradasi limbah kitin oleh aktinomisetes secara bertahap. Studi ini menunjukkan efektivitas metode preparasi SEM dalam memvisualisasikan biodegradasi progresif kulit udang oleh isolat aktinomisetes 18D38A1 dari hari ke-1 hingga hari ke-4.

Kata kunci: Aktinomisetes, Biodegradasi Kulit Udang, Fermentasi Padat, Preparasi Sampel, Scanning Electron Microscopy

1. LATAR BELAKANG

Limbah kulit udang merupakan salah satu biomassa yang melimpah di Indonesia sebagai hasil samping industri perikanan dan pengolahan hasil laut. Limbah ini mengandung

kitin dalam jumlah signifikan (20–30% berat kering), protein, dan mineral. Kitin sebagai polisakarida struktural dapat dikonversi menjadi produk bernilai seperti kitooligosakarida, kitinase, dan bahan antimikroba (Gao et al., 2024; Santos et al., 2020).

Upaya pemanfaatan limbah kulit udang secara kimia dan fisika seringkali terkendala oleh penggunaan bahan berbahaya, konsumsi energi tinggi, dan dampak terhadap struktur kitin. Oleh karena itu, pendekatan biodegradasi mikroba menjadi solusi yang lebih ramah lingkungan. Aktinomisetes dikenal memiliki kemampuan menghasilkan enzim hidrolitik termasuk kitinase, yang mampu mendegradasi kitin secara efisien (Setiawan et al., 2021).

Aktinomisetes merupakan bakteri Gram-positif yang menyerupai jamur, banyak ditemukan di tanah maupun lingkungan laut, dan mampu menghasilkan metabolit sekunder dan enzim industri penting. Beberapa isolat lokal telah menunjukkan efektivitas dalam mendegradasi kitin melalui fermentasi padat (solid-state fermentation), yaitu teknik kultivasi mikroorganisme pada substrat padat berkadar air rendah, yang cocok untuk mikroba seperti aktinomisetes (Widyastuti et al., 2022).

Selama proses fermentasi padat, permukaan kulit udang mengalami perubahan mikrostruktur akibat aktivitas enzimatik. Analisis perubahan ini memerlukan teknik karakterisasi permukaan resolusi tinggi, dan Scanning Electron Microscopy (SEM) menjadi metode yang unggul. Namun, keberhasilan pencitraan SEM sangat tergantung pada teknik preparasi sampel. Untuk sampel biologis seperti kulit udang, preparasi yang tidak tepat dapat menghasilkan artefak, distorsi, atau kehilangan detail struktur (Gao et al., 2024).

Metode konvensional mencakup fiksasi kimia dan pengeringan kritis, namun kompleks dan memerlukan bahan kimia khusus. Dalam penelitian ini digunakan metode preparasi segar, yaitu perendaman alkohol 70%, pengeringan vakum, dan pelapisan emas, untuk mempertahankan morfologi alami dan memperoleh citra berkualitas.

Meskipun penggunaan SEM dalam studi degradasi kitin telah dilaporkan, sebagian besar hanya membandingkan struktur permukaan sebelum dan sesudah fermentasi pada satu titik waktu. Kajian sistematis yang memantau dinamika degradasi harian masih terbatas, padahal observasi semacam itu penting untuk memahami pola degradasi dan efektivitas isolat. Penelitian ini mengamati proses fermentasi padat menggunakan isolat lokal aktinomisetes 18D38A1 selama 1 hingga 4 hari.

Beberapa gap penelitian sebelumnya antara lain: kurangnya teknik preparasi SEM yang dioptimalkan untuk sampel kulit udang, minimnya kajian yang menggabungkan fermentasi padat bertahap dan SEM, serta belum adanya dokumentasi menyeluruh tentang

perubahan struktur kulit udang dari hari ke hari selama fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisi celah tersebut dengan pendekatan baru.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengembangkan teknik preparasi SEM yang efektif, mengamati perubahan struktur mikro kulit udang selama fermentasi oleh isolat 18D38A1, dan mengevaluasi efektivitas biodegradasi berbasis SEM. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi dasar ilmiah untuk pengembangan teknologi pengolahan limbah berbasis mikroba dan pemanfaatan SEM dalam studi biokonversi biomassa.

2. KAJIAN TEORITIS

Teori dasar yang mendasari penelitian ini berkaitan dengan konsep biodegradasi biomassa oleh mikroorganisme, khususnya aktinomisetes, serta prinsip-prinsip fermentasi padat dan karakterisasi morfologi menggunakan mikroskop elektron. Biodegradasi merupakan proses alami yang dilakukan oleh mikroorganisme untuk menguraikan senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Dalam konteks limbah perikanan, seperti kulit udang, mikroba seperti aktinomisetes memiliki enzim kitinase yang secara spesifik memecah ikatan β -1,4-glikosidik pada struktur kitin, sehingga menghasilkan senyawa turunan seperti kitooligosakarida yang memiliki nilai ekonomi tinggi (Widyastuti et al., 2022).

Fermentasi padat adalah sistem fermentasi yang dilakukan pada substrat padat dengan kadar air rendah, yang sangat sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme filamentosa seperti aktinomisetes. Sistem ini memungkinkan peningkatan efisiensi produksi enzim serta mendekati kondisi alami pertumbuhan mikroba. Dalam fermentasi padat, perubahan substrat tidak hanya dapat diukur dari kandungan kimia tetapi juga melalui perubahan struktur fisik, yang menjadi dasar pemanfaatan teknik Scanning Electron Microscopy dalam penelitian ini.

Scanning Electron Microscopy (SEM) merupakan teknik karakterisasi permukaan yang sangat efektif untuk mengamati struktur mikroskopik dari bahan biologis. Teknik ini memberikan citra resolusi tinggi dan kedalaman fokus yang sangat baik. Namun, sampel biologis harus dipersiapkan secara hati-hati untuk mempertahankan struktur aslinya. Metode preparasi segar yang digunakan dalam penelitian ini bertujuan menghindari artefak struktur akibat perlakuan kimia agresif atau pengeringan yang tidak tepat.

Beberapa penelitian sebelumnya telah menunjukkan potensi besar aktinomisetes dalam mendegradasi limbah kitin melalui fermentasi padat (Setiawan et al., 2021; Helfenstein Rother et al., 2024). Namun, hanya sedikit studi yang menggabungkan teknik

SEM untuk mengamati degradasi struktural secara bertahap selama proses fermentasi. Bahkan lebih jarang lagi dilakukan pada isolat lokal, seperti 18D38A1 yang digunakan dalam studi ini. Oleh karena itu, penelitian ini menjadi penting untuk memperluas pemahaman tentang keterkaitan antara aktivitas mikroba dan perubahan morfologi substrat.

Penelitian ini berangkat dari asumsi bahwa semakin lama waktu fermentasi berlangsung, maka struktur kulit udang akan menunjukkan tingkat degradasi yang semakin tinggi, yang dapat dideteksi melalui perubahan tekstur dan permukaan dalam citra SEM. Asumsi ini menjadi dasar tidak langsung (implisit) dari hipotesis bahwa isolat lokal aktinomisetes memiliki efektivitas tinggi dalam mendegradasi kitin selama fermentasi padat.

Dengan menggabungkan landasan teoritis tentang fermentasi padat, aktivitas enzim mikroba, serta teknik SEM, penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan penting bagi pengembangan teknologi pemanfaatan limbah kulit udang yang berkelanjutan dan berorientasi pada nilai tambah.

3. METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan deskriptif. Tujuannya adalah untuk mengevaluasi perubahan morfologi dan komposisi unsur kulit udang yang difermentasi secara padat menggunakan isolat aktinomisetes lokal 18D38A1. Model penelitian yang digunakan berfokus pada hubungan waktu fermentasi terhadap tingkat degradasi struktural eksoskeleton.

Biomaterial

Limbah kulit udang diperoleh dari Gudang Lelang, Teluk, Bandar Lampung. Isolat mikroba yang digunakan adalah aktinomisetes berkode 18D38A1, deposit UPA LT yang telah diisolasi dari organisme laut meliputi sponge dan mangrove dengan kode 18D38A1, yang kemudian diremajakan pada media PDA (Diao et al., 2023).

Teknik Preparasi dan Instrumen Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan teknik observasi laboratorium terhadap sampel kulit udang yang difermentasi selama empat hari. Sampel diambil pada hari ke-0, ke-1, ke-2, dan ke-4. Instrumen utama yang digunakan adalah Scanning Electron Microscopy (SEM) dan Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX) yang mampu mengungkap perubahan morfologi dan komposisi unsur secara kualitatif. Preparasi sampel SEM dilakukan melalui Perendaman sampel kulit udang dalam alkohol 70% selama 10 menit, Pencucian kembali

dalam alkohol 70% untuk menghilangkan sisa kontaminan, Pemindahan ke stub aluminium sebagai media penyangga, dan pelapisan emas (gold coating) dengan sputter coater agar sampel konduktif dan siap diamati dengan SEM

Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif kualitatif dengan membandingkan perubahan struktur permukaan dan kandungan unsur antar waktu fermentasi. Hasil SEM berupa citra permukaan diamati secara visual untuk mengidentifikasi degradasi jaringan, sedangkan data EDX dianalisis untuk melihat dinamika unsur-unsur utama seperti karbon, oksigen, kalsium, dan seng. Teknik statistik eksploratif digunakan untuk mendukung pola degradasi yang diamati secara visual.

Model Penelitian dan Keterangan Simbol

Model penelitian yang digunakan adalah model hubungan waktu fermentasi (X) terhadap perubahan morfologi dan komposisi kimia eksoskeleton (Y). X merepresentasikan hari ke-0 hingga ke-4, sedangkan Y adalah hasil observasi berupa degradasi struktur dan komposisi unsur berdasarkan hasil SEM dan EDX. Model ini bersifat linier deskriptif dan digunakan untuk menunjukkan hubungan kausalitas non-kuantitatif.

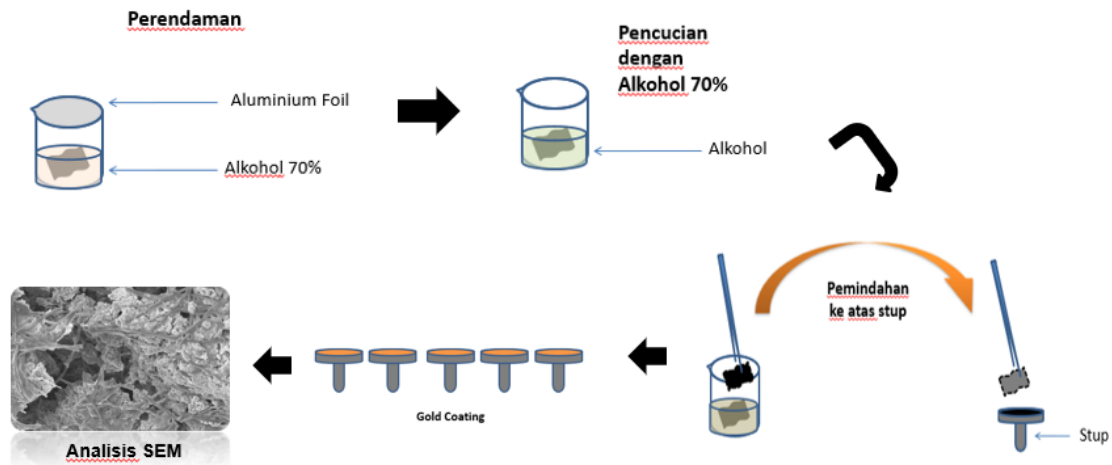
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses Pengumpulan Data

Penelitian ini dilakukan di Unit Pelaksana Akademik Laboratorium Terpadu (UPA LT), Universitas Lampung. Sampel yang digunakan adalah limbah kulit udang segar yang diperoleh dari gudang lelang, teluk, Bandar Lampung, Provinsi Lampung. Proses fermentasi dilakukan secara fermentasi padat menggunakan isolat aktinomisetes deposit UPA LT yang telah diisolasi dari organisme laut meliputi sponge dan mangrove dengan kode 18D38A1, yang kemudian diremajakan pada media PDA (Diao et al., 2023). Fermentasi padat dilakukan dengan menggunakan media limbah kulit udang yang kemudian dievaluasi perubahan pola degradasi selama 4 hari. Sampel dianalisis pada hari ke-0 (kontrol/blangko), ke-1, ke-2, dan ke-4. Setelah fermentasi, sampel dikeringkan, dipreparasi dengan metode fresh preparation (perendaman alkohol 70%, pengeringan vakum, dan pelapisan emas), kemudian dianalisis menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM) dan Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS).

Teknik Preparasi Sampel SEM

Pada penelitian ini menggunakan teknik preparasi seperti pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Teknik Preparasi SEM

Gambar yang ditampilkan menunjukkan tahapan sistematis dalam preparasi sampel kulit udang sebelum dianalisis menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM). Proses ini bertujuan untuk mempersiapkan sampel agar struktur permukaannya dapat diamati secara optimal dan menghasilkan citra morfologi dengan resolusi tinggi. Tahap pertama adalah perendaman dalam alkohol 70%, di mana potongan kulit udang yang telah dibungkus dengan aluminium foil direndam selama kurang lebih 10 menit. Tujuannya adalah untuk melakukan fiksasi awal serta mencegah pertumbuhan mikroba kontaminan yang dapat mengganggu keutuhan jaringan permukaan.

Setelah perendaman, sampel dicuci kembali menggunakan alkohol 70%. Tahap ini bertujuan menghilangkan residu dari proses sebelumnya serta menjaga sterilitas dan kekeringan jaringan agar tidak terjadi artefak selama proses vakum. Alkohol 70% juga berfungsi untuk mengeluarkan sisa air dari struktur kitin yang dapat menyebabkan artefak pada pengamatan SEM. Selanjutnya, sampel dipindahkan ke atas stub, yaitu tempat dudukan khusus berbahan konduktif aluminium. Pemindahan dilakukan secara hati-hati menggunakan pinset steril untuk memastikan permukaan utama yang ingin diamati menghadap ke atas.

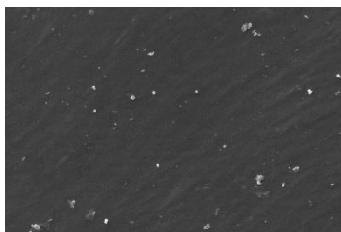
Setelah sampel terpasang di atas stub, dilakukan proses gold coating, yaitu pelapisan tipis dengan emas menggunakan alat sputter coater. Proses ini bertujuan menjadikan sampel bersifat konduktif agar tidak menumpuk muatan saat ditembak dengan elektron dalam ruang SEM. Pelapisan ini sangat penting terutama untuk sampel biologis seperti kulit udang yang secara alami tidak bersifat konduktif. Tahapan terakhir adalah analisis menggunakan SEM. Sampel yang telah terlapisi emas dimasukkan ke dalam ruang vakum dan ditembak dengan

sinar elektron. Proses ini menghasilkan citra dengan resolusi tinggi yang memperlihatkan perubahan morfologi kulit udang setelah difermentasi.

Dari gambar SEM di bagian akhir diagram, dapat diamati bahwa struktur permukaan sampel telah mengalami perubahan morfologi, yang menunjukkan indikasi awal keberhasilan proses biodegradasi. Citra ini akan dibandingkan dengan kontrol (tanpa perlakuan fermentasi) untuk mengamati tingkat kerusakan atau penguraian jaringan eksoskeleton. Secara keseluruhan, alur pada gambar ini menggambarkan integrasi antara metode preparasi dan teknik analisis yang mendukung kajian biodegradasi kulit udang, sekaligus menjamin kualitas dan validitas hasil pengamatan SEM. Proses ini sejalan dengan protokol standar yang dilaporkan dalam literatur seperti oleh Tanaka et al. (2020) dan Widiyanti et al. (2021), yang menyebutkan bahwa preparasi dengan gold coating dan fiksasi alkohol mampu meningkatkan kontras dan menghindari charging efek pada sampel biologis.

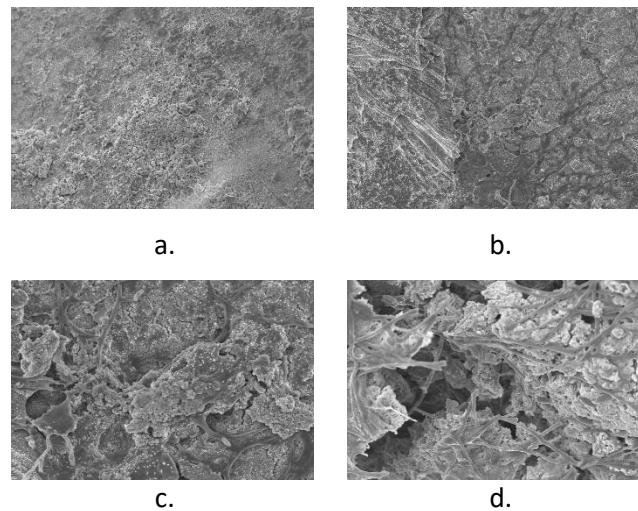
Analisis Morfologi Permukaan Berdasarkan SEM

Hasil pengamatan SEM terhadap kulit udang tanpa fermentasi (hari ke-0) menunjukkan permukaan yang halus dan homogen tanpa tanda-tanda degradasi mikroba seperti yang terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Blangko Media Kulit Udang

Sebaliknya, pada hari ke-1 hingga ke-4, ditemukan kerusakan permukaan yang semakin intens, seperti adanya retakan, lubang, dan jaringan serat yang terlepas. Gambar 2 dan Gambar 3 memperlihatkan transformasi struktural akibat aktivitas enzimatik isolat aktinomisetes 18D38A1.

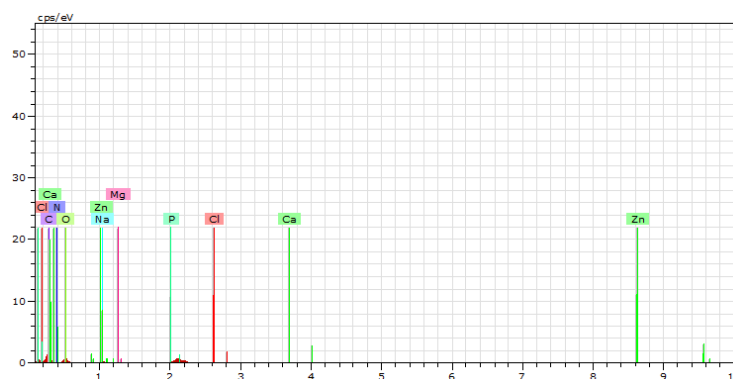


Gambar 3. Degradasi Kulit Udang oleh Aktinomisetes: a. Hari ke 1; b. Hari ke 2; c. Hari ke 3; dan c. Hari ke 4

Temuan ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, semakin tinggi tingkat degradasi permukaan. Aktivitas mikroba, khususnya produksi enzim kitinase dan protease, diduga berperan besar dalam perombakan struktur eksoskeleton kulit udang. Hasil ini sesuai dengan penelitian Helfenstein Rother et al. (2024), yang melaporkan bahwa aktinomisetes memiliki kemampuan mendegradasi substrat kitin secara efisien dalam sistem fermentasi padat.

Analisis Komposisi Unsur Berdasarkan EDX

Spektrum EDX dari dua sampel hasil fermentasi memperlihatkan perbedaan intensitas dan keberagaman unsur kimia yang signifikan. Gambar 4 menunjukkan spektrum sampel pertama yang kaya akan unsur C, O, Ca, Zn, K, dan Mg, sedangkan Gambar 4 menunjukkan spektrum sampel kedua dengan intensitas Zn yang jauh lebih tinggi dan keberadaan Cl yang lebih jelas.



Gambar 4. Hasil Analisis Komposisi Unsur

Keberadaan karbon dan oksigen tetap mendominasi, mencerminkan struktur organik utama pada kitin. Peningkatan intensitas kalsium dan zinc pada Gambar 4 menunjukkan bahwa proses fermentasi yang berlangsung lebih lama berkontribusi terhadap peluruhan

mineral, pelepasan senyawa bioaktif, atau kemungkinan deposit ion dari aktivitas enzimatis mikroba. Keberadaan klor (Cl) pada sampel hari ke-4 dapat berasal dari sisa media atau aktivitas mikroba, yang sejalan dengan temuan Li et al. (2022) mengenai perubahan profil unsur akibat aktivitas mikroorganisme dalam kondisi fermentatif.

Keberadaan unsur fosfor (P), magnesium (Mg), dan natrium (Na) mendukung hipotesis bahwa aktivitas metabolik mikroorganisme selama fermentasi meningkatkan kompleksitas kimia permukaan kulit udang. Unsur-unsur ini diketahui berperan penting dalam metabolisme mikroba dan dapat berasal dari aktivitas sekresi enzim atau senyawa metabolit sekunder.

Hasil analisis SEM dan EDX yang saling melengkapi membuktikan bahwa proses fermentasi padat oleh isolat aktinomisetes 18D38A1 mampu mendegradasi kulit udang secara efektif dalam waktu 4 hari. Pola degradasi struktur dan komposisi kimia menguatkan teori bahwa proses biokonversi kitin dan protein eksoskeleton udang terjadi secara simultan. Temuan ini konsisten dengan Setiawan et al. (2021), yang juga menunjukkan peran aktinomisetes dalam merombak struktur eksoskeleton krustasea. Selain itu, akumulasi Zn yang tinggi dalam Gambar 4 mendukung pendapat dari Gao et al. (2024) bahwa fermentasi mikroba berpotensi memperkaya biomaterial dengan unsur bioaktif.

Perubahan komposisi ini menunjukkan bahwa fermentasi padat tidak hanya mempengaruhi struktur fisik tetapi juga mengubah kandungan kimia kulit udang. Temuan ini mendukung penelitian Zhao et al. (2020) dan Li et al. (2022) mengenai peran unsur mikro dalam aktivitas mikroorganisme selama proses biokonversi. Proses degradasi kulit udang yang terjadi secara bertahap menunjukkan bahwa fermentasi padat dengan aktinomisetes efektif dalam menghidrolisis kitin menjadi komponen yang lebih kecil, seperti kitooligosakarida. Aktivitas enzimatis dari isolat 18D38A1 yang tergolong aktinomisetes memiliki kemampuan menghasilkan kitinase dan protease yang mampu mendegradasi komponen struktural kulit udang.

Hasil ini mendukung literatur seperti Suresh & Anil Kumar (2018) dan Setiawan et al. (2021) yang menunjukkan bahwa isolat lokal aktinomisetes efektif digunakan dalam fermentasi padat untuk menghasilkan enzim hidrolitik. SEM dan EDX terbukti menjadi metode karakterisasi yang sangat berguna untuk mengamati proses biodegradasi secara visual dan kimiawi. Secara teoritis, penelitian ini menguatkan bahwa fermentasi padat dengan aktinomisetes merupakan metode bioteknologi yang ramah lingkungan dan berpotensi dalam konversi limbah perikanan menjadi produk bernilai tambah. Penemuan ini mendukung pemahaman bahwa degradasi biomaterial seperti kitin dapat dikaji secara

morfologis dan kimiawi dengan metode SEM dan EDX. Secara terapan, hasil ini membuka peluang pemanfaatan limbah kulit udang sebagai sumber bahan baku untuk produksi bioaktif seperti kitooligosakarida. Aplikasi lebih lanjut dapat diarahkan pada industri pangan, pertanian, dan farmasi. Namun, diperlukan penelitian lanjutan terkait pemisahan senyawa hasil degradasi dan pengujian bioaktivitasnya.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi permukaan dan komposisi kimia melalui analisis Scanning Electron Microscopy (SEM) dan Energy Dispersive X-ray (EDX), penelitian ini menunjukkan bahwa teknik preparasi sampel yang dilakukan mampu menampilkan secara jelas dinamika degradasi kulit udang selama proses fermentasi padat menggunakan isolat aktinomisetes lokal 18D38A1. Proses biodegradasi berlangsung progresif dari hari ke-1 hingga hari ke-4, ditandai dengan perubahan morfologi permukaan dari halus menjadi keropos dan hancur, serta perubahan kandungan unsur-unsur penyusunnya. Hasil ini memberikan bukti bahwa metode fermentasi padat berpotensi sebagai pendekatan biologis yang ramah lingkungan untuk pengolahan limbah kulit udang dan produksi produk turunan bernilai tambah. Penelitian ini masih memiliki keterbatasan pada aspek kuantifikasi degradasi secara kimia dan pemisahan produk turunan secara spesifik, sehingga diperlukan studi lanjutan untuk identifikasi senyawa hasil degradasi dan evaluasi aplikasinya secara lebih mendalam dalam bidang pangan, pertanian, maupun farmasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, serta Unit Pelaksana Akademik Laboratorium Terpadu Universitas Lampung atas fasilitas dan dukungan yang telah diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR REFERENSI

- Aranaz, I., Acosta, N., Civera, C., et al. (2020). Chitosan: An overview of its properties and applications. *Polymers*, 12(2), 449.
- Chen, Y., Zhang, L., & Ma, H. (2023). Solid-state fermentation: A review of its application in biowaste management. *Bioresources and Bioprocessing*, 10, 42.

- Duan, J., Chen, S., Li, Y., et al. (2021). Recent advances in extraction and modification of chitosan from marine resources: A review. *Marine Drugs*, 19(4), 191.
- Gao, Y., Li, S., Zhou, Q., & Chen, W. (2024). Sustainable valorization of crustacean shells via microbial fermentation: Progress and prospects. *Bioresource Technology*, 388, 129866. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.129866>
- Helfenstein Rother, L., Hettwer, J., Schneider, K., et al. (2024). Structural insights into chitin degradation by actinobacteria in solid-state systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(3), 621–634. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-12770-x>
- Li, M., Xue, Y., Wang, H., & Liu, Y. (2022). Zinc as a cofactor in microbial enzymatic systems: Its role in biodegradation of biopolymers. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 194, 112420. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2022.112420>
- Li, X., Liu, Y., Wang, Y., et al. (2023). Application of scanning electron microscopy in analyzing biomaterials: A review. *Micron*, 172, 103396.
- Pagnucco, C., Radice, M., & Greco, M. (2021). Actinomycetes and their bioactive compounds for biotechnological applications. *Frontiers in Microbiology*, 12, 699127.
- Pradhan, B., Nayak, R., Patra, S., et al. (2021). Bioactive compounds from marine crustaceans and their potential applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 169, 308–321.
- Salih, A. B., Osman, G., & Abdelwahab, M. A. (2020). Structural analysis of biopolymers using electron microscopy. *Microscopy Research and Technique*, 83(5), 539–548.
- Sarwar, A., Brader, G., & Sessitsch, A. (2021). Actinobacteria: Role in plant growth promotion and biocontrol. *Microorganisms*, 9(1), 123.
- Setiawan, F., Widyastuti, W., Hanafi, M. I., et al. (2021). Actinomycetes from shrimp waste as potential chitinase producers in solid-state fermentation. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 26(2), 102–110. <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.65723>
- Shankar, S., & Rhim, J. W. (2021). Chitosan-based biodegradable functional films for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology*, 112, 202–216.
- Suresh, P. V., & Anil Kumar, P. K. (2018). Enhanced production of chitinolytic enzymes by actinomycetes using shrimp waste under solid-state fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 322–329.
- Tran, T. T., Quyen, D. T., & Nguyen, T. H. (2023). Recent advances in microbial production of chitosan and its oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 302, 120260.
- Vuong, Q. V., & Bowyer, M. C. (2021). Utilization of shrimp waste in sustainable bioprocessing. *Waste and Biomass Valorization*, 12(8), 4345–4356.
- Widyastuti, W., Laila, A., Setiawan, A., et al. (2022). Chitin bioconversion through native actinomycetes: SEM and bioactivity correlation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 43, 102404. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102404>

- Yang, W., Fortunati, E., Giovanale, G., et al. (2020). Chitosan-based materials with antimicrobial activity. *Molecules*, 25(3), 498.
- Zhao, D., Yu, S., Sun, J., et al. (2020). Role of zinc ions in bacterial metabolism and pathogenesis. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 23(2), 154–162.
- Zhu, Y., Wang, Y., Jin, Z., et al. (2022). Advances in characterization of biopolymers using SEM and EDX. *Polymer Testing*, 110, 107571.