



PREPARASI KITOSAN DARI LIMBAH KULIT UDANG VANNAMEI

(Litopenaeus vannamei)

DAN OPTIMASI APLIKASINYA SEBAGAI ANTIMIKROBA

Skripsi

disajikan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

Program Studi Kimia

oleh

Fransiska Hesti Pamungkas

4311411014

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

2015

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “Preparasi Kitosan dari Limbah Kulit Udang *Vannamei* (*Litopenaeus Vannamei*) dan Optimasi Aplikasinya sebagai Antimikroba” ini bebas dari plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, 29 September 2015



Fransiska Hesti Pamungkas

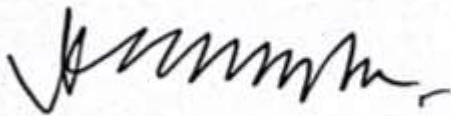
4311411014

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan dihadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

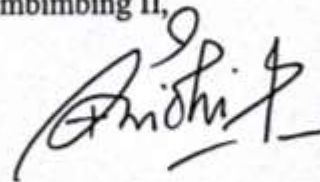
Semarang, 29 September 2015

Pembimbing I,



Prof. Dr. Supartono, M.S
NIP. 195412281983031003

Pembimbing II,



F. Widhi Mahatmanti, S.Si., M.Si.
NIP. 196912171997022001

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Preparasi Kitosan dari Limbah Kulit Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dan Optimasi Aplikasinya sebagai Antimikroba

disusun oleh

Fransiska Hesti Pamungkas

4311411014

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi FMIPA UNNES pada tanggal 29 September 2015

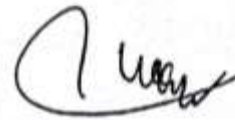
Panitia:



Ketua
Prof. Dr. Wiyanto, M.Si

NIP. 196310121988031001

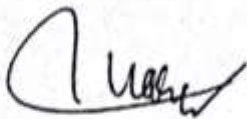
Sekretaris



Dra. Woro Sumarni, M.Si

NIP 196507231993032001

Ketua Penguji

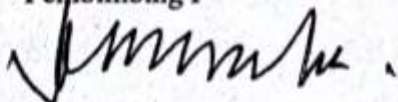


Dra. Woro Sumarni, M.Si

NIP 196507231993032001

Anggota Penguji/

Pembimbing I

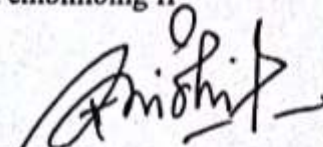


Prof. Dr. Supartono, M.S

NIP 195412281983031003

Anggota Penguji/

Pembimbing II



F. Widhi Mahatmanti, S.Si., M.Si

NIP 196912171997022001

MOTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

1. *Mengenal diri sendiri membuat kita berlutut dengan rendah hati (Ibu Teresa).*
2. *I have learned....that it is those small daily happenings that make life so spectacular.*

PERSEMBAHAN

Kupersembahkan karya ini untuk:

1. *Bapak dan ibu Petrus Poernomo tercinta yang tak kenal lelah mengasahi, mencintai, dan selalu mendukung tiap langkahku.*
2. *Saudara dan sahabat yang terus memberikan semangat dan turut menemani suka dan duka.*
3. *Teman-teman kimia 2011 atas kebersamaan indah selama empat tahun ini.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis sampaikan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Preparasi Kitosan dari Limbah Kulit Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) dan Optimasi Aplikasinya sebagai Antimikroba”.

Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Program Studi Kimia di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Pada kesempatan kali ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu, baik dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan kesempatan menyelesaikan studi strata 1 Jurusan Kimia FMIPA UNNES.
2. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan ijin untuk melaksanakan penelitian.
3. Dra. Woro Sumarni, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah membantu dalam hal administrasi.
4. Prof. Dr. Supartono, M.S dan F. Widhi Mahatmanti, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing yang berkenan dengan setia memberikan perhatian, bimbingan, arahan, dan saran kepada penulis selama penyusunan skripsi.
5. Agung Tri Prasetya, S.Si, M.Si selaku Kepala Laboratorium Kimia Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan ijin penelitian.

6. Dra. Woro Sumarni, M.Si selaku dosen penguji yang dengan rendah hati telah memberikan saran dan arahan kepada penulis.
7. Dosen-dosen dan Teknisi-teknisi Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang atas ilmu, bantuan, serta dukungan yang telah diberikan selama menempuh studi.
8. Kedua orang tua serta keluarga besar tercinta atas kasih sayang, kepedulian dan doa tulus yang selalu mengiringi setiap langkah penulis.
9. Komisi Pengembangan Ekonomi Keuskupan Agung Semarang yang telah membantu dalam pengadaan dana penelitian.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Demikian ucapan terima kasih dari penulis, semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan dapat memberikan kontribusi positif bagi para pembaca dan perkembangan ilmu pengetahuan dalam dunia penelitian.

Semarang, September 2015

Penulis

ABSTRAK

Pamungkas, F.H. 2015. *Preparasi Kitosan dari Limbah Kulit Udang Vannamei (Litopenaeus vannamei) dan Optimasi Aplikasinya sebagai Antimikroba*. Skripsi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Prof. Dr. Supartono, M.S dan F. Widhi Mahatmanti, S.Si., M.Si.

Kata kunci: Udang Vannamei, Kitosan, Antimikroba

Limah kulit udang vannamei yang berlimpah dan mengganggu kualitas udara sekitar kawasan industri pengupasan kulit udang kelurahan Tambakrejo dapat diolah menjadi produk yang berdaya guna tinggi yaitu sebagai antimikroba pada ikan bandeng. Kitin diekstraksi dari limbah kulit udang vannamei melalui tahapan demineralisasi, deproteinasi, dan depigmentasi. Sintesis kitosan dilakukan melalui reaksi deasetilasi kitin. Kondisi refluk pada reaksi ini dengan menggunakan NaOH 60% pada suhu 120⁰C selama 4 jam dengan kecepatan pengadukan 500 rpm. Serbuk kitin dan kitosan yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi kadar air, kadar abu, kadar nitrogen, dan derajat deasetilasi. Pada kitin, secara berurutan nilainya adalah 7,71%, 0,54%, 20,98%, 71,35% sedangkan pada kitosan nilainya adalah 9,17%, 0,64%, 25,63%, 88,19%. Hasil uji mikroba menunjukkan bahwa kondisi optimum larutan kitosan 2% dengan perendaman selama 10 jam mampu menghambat pertumbuhan mikroba pada ikan bandeng, dengan jumlah mikroba 7.10⁵ koloni/mL.

ABSTRACT

Pamungkas, F.H. 2015. Chitosan Preparation from Waste of Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Shrimp's Skin and Its Antimicrobial Activity Optimization. Final Project. Chemistry Department Mathematics and Science Faculty. Semarang State University. Advisor I. Prof. Dr. Suparsono, M.S. II. F. Widhi Mahatmanti, S.Si.,M.Si.

Keywords: Vannamei Shrimp, Chitosan, Antimicrobial

The wastes of Vannamei shrimp skins are abundant and interfering with the air quality surrounding the shrimp skin peeling industrial district in Tambakrejo. These skins can be processed into a highly efficient antimicrobial compound used on milkfish. Chitin were extracted from the Vannamei shrimp skin by demineralization, de-proteinase, and a depigmentation process. The chitosan synthesis involved a chitin de-acetylation reaction. This reaction is achieved by applying 4 hours of reflux process with 60% NaOH at 120⁰C and 500 rpm stirring speed. Chitin and Chitosan powders were characterized by water content, ash content, nitrogen content, and de-acetylation degree. On chitin the results were, respectively, 7.71%, 0.54%, 20.98%, 71,35% and on chitosan the results were 9,17%, 0,64%, 25,63%, 88,19%. The result of the microbial tests showed 7.10⁵ colonies/mL growth inside the optimum conditions, to inhibit the contamination of microbial growth on milkfish there was a 2% chitosan solution with 10 hours of soaking.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN.....	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	iii
PENGESAHAN	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB	
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Udang vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	6

2.2 Kitin - Kitosan.....	8
2.3 Bahan Antimikroba	11
2.4 Ikan Bandeng	13
2.5 Penentuan Jumlah Mikroba dengan Hitungan Cawan	20
3. METODE PENELITIAN.....	23
3.1 Lokasi Penelitian.....	23
3.2 Variabel Penelitian.....	23
3.3 Alat dan Bahan Penelitian.....	24
3.4 Prosedur Penelitian	25
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
4.1 Ekstraksi Kitin.....	33
4.1.1 Persiapan serbuk limbah kulit udang vannamei.....	33
4.1.2 Proses Demineralisasi	34
4.1.3 Proses Deproteinasi.....	36
4.1.4 Proses Depigmentasi.....	36
4.2 Sintesis Kitosan.....	37
4.3 Karakterisasi Kitin dan Kitosan	40
4.3.1 Kadar air.....	40
4.3.2 Kadar abu	40
4.3.3 Kadar nitrogen	41
4.3.4 Nilai derajat deasetilasi	42
4.4 Aplikasi Kitosan sebagai antimikroba pada ikan bandeng	46
5. PENUTUP.....	51

5.1 Simpulan	51
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kualitas Standar Kitosan.....	10
2.2 Komposisi Ikan Segar per 100 g Bahan	16
2.3 Persyaratan Mutu dan Keamanan Ikan Segar	19
4.1 Karakterisasi kitin dan kitosan dari limbah kulit udang.....	45
4.2 Data Penelitian tentang Sintesis Kitosan beserta % DD	45
4.2 Jumlah Total ikan bandeng	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi Udang Vannamei	7
2.2 Struktur Molekul Kitin dan Struktur Molekul Kitosan	10
2.3 Ikan Bandeng	14
4.1 Limbah Kulit udang vannamei dan serbuk kulit udang vannamei....	34
4.2 Kitin dari limbah kulit udang vannamei.....	37
4.3 Mekanisme reaksi sintesis Kitosan	38
4.4 Kitosandari limbah kulit udang vannamei	39
4.5 Spektra infra merah kitin dari udang vanamei	43
4.6 Spektra infra merah kitosan dari udang vanamei.....	44
4.7 Grafik hubungan pengaruh konsentrasi kitosan terhadap jumlah mikroba ikan bandeng	47
4.8 Struktur Peptidoglikan dan Asam Amino penyusun dinding sel	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Preparasi sampel serbuk udang vannamei	55
2. Ekstraksi kitin dari limbah kulit udang vannamei	56
3. Pembuatan kitosan dari limbah kulit udang vannamei	57
4. Uji larutan kitosan dari limbah udang vannamei	58
5. Pembuatan Media Nutrien Agar	59
6. Persiapan larutan pengencer.....	59
7. Penentuan kadar air kitin-kitosan dari kulit udang vannamei.....	60
8. Penentuan kadar abu kitin-kitosan dari kulit udang vannamei	61
9. Penentuan kadar nitrogen kitin-kitosan dari kulit udang vannamei.	62
10. Prosedur penentuan Derajat Deasetilasi kitin-kitosan dari kulit udang vannamei	63
11. Hasil spektroskopi inframerah kitin dan kitosan dari kulit udang vannamei	64
12. Penentuan Derajat Deasetilasi kitin metode base line	68
13. Penentuan Derajat Deasetilasi kitosan metode base line	69
14. Pengujian jumlah mikroba	70
15. Hasil perhitungan koloni pada ikan bandeng.....	71
16. Hasil karakterisasi kitin dan kitosan	71
17. Pembuatan larutan.....	72
18. Dokumentasi uji mikroba pada ikan bandeng.....	73

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Kitosan adalah produk terdeasetilasi dari kitin yang merupakan biopolimer alami kedua terbanyak di alam setelah selulosa. Biopolimer ini merupakan bahan yang memiliki sumber melimpah dan dapat diperbarui maka dalam situasi pengurangan sumber alam yang berkelanjutan serta perkembangan bioteknologi yang demikian pesat menjadikan pemanfaatan sumber daya alam alternatif seperti kitosan merupakan hal yang sangat perlu dilakukan. Kitosan memiliki sifat fungsional yang potensial serta kemungkinan pemanfaatan yang sangat luas diberbagai bidang. Pemanfaatan kitosan diantaranya dalam industri farmasi, biokimia, bioteknologi, pangan, gizi, kertas, tekstil, pertanian, kosmetik, membran dan kesehatan. Pemanfaatan tersebut didasarkan atas sifat-sifatnya yang dapat digunakan sebagai bahan pengemulsi, pengkoagulasi, pengkelat termasuk memiliki sifat fisik yang khas yaitu mudah dibentuk menjadi spons, larutan, gel, pasta serat yang bermanfaat dalam aplikasinya (Yuliati & Adiarto, 2007).

Hasil laut yang mengandung kitin dan dapat diolah menjadi kitosan banyak terkandung pada cangkang kepiting, kulit udang atau hewan laut lainnya. Selama ini limbah cangkang udang belum tertangani secara maksimal sehingga banyak yang terbuang sia-sia akhirnya menimbulkan masalah lingkungan. Di Indonesia sebagian limbah udang telah dimanfaatkan untuk pembuatan kerupuk

udang, terasi, dan bahan pencampur pakan ternak. Pada negara maju seperti Amerika dan Jepang, limbah udang telah dimanfaatkan antara lain pada industri farmasi, biokimia, biomedikal, pangan, pertanian, dan kesehatan (Sedjati, 2006).

Kulit udang mengandung protein 25-40%, kalsium karbonat 45-50%, dan kitin 15- 20%, tetapi besarnya kandungan komponen tersebut tergantung pada jenis udang dan tempat hidupnya (Marganov, 2003). Menurut hasil penelitian Nicholas (2003), penggunaan kitosan untuk pengawetan hasil perikanan dengan menggunakan larutan kitosan 1% dalam asam asetat 1% mampu menurunkan jumlah mikroba pada *fillet* ikan salmon yang disimpan pada suhu 4°C selama 6 hari. Pada kontrol jumlah bakteri mencapai $1,97 \times 10^8$, sedangkan yang diberi perlakuan kitosan jumlah bakteri hanya 53×10^3 . Pencelupan dilakukan selama 30 detik, ditiriskan selama 15 detik dan dikemas dalam plastik sebelum dimasukkan dalam wadah *styrofoam*. Uji aktifitas antimikroba juga telah diteliti oleh Mahatmanti *et al.*, (2010) yang menunjukkan bahwa reaksi deasetilasi kitin oleh NaOH 50% dengan perbandingan (1:10) pada temperatur 100°C selama 30 menit menjadi kitosan nilai DD 81,11% efektif memperpanjang umur simpan pada ikan nila selama 10 jam dengan jumlah mikroba sebesar 38×10^4 sel/mL.

Berbagai penelitian tentang antimikroba yang aman digunakan tidak diimbangi dengan pengetahuan masyarakat yang lebih memilih menggunakan bahan kimia berbahaya. Pengawet yang lagi ramai dibicarakan dikalangan masyarakat adalah penggunaan formalin sebagai pengawet bahan makanan. Beberapa bahan makanan tersebut diantaranya seperti tahu, bakso, mie basah, kerupuk, dan ikan segar. Ikan laut yang lama waktu penangkapannya masih

dijumpai menggunakan formalin sebagai bahan pengawet (Departemen Kesehatan RI, 1989). Formaldehid yang lebih dikenal dengan nama formalin ini adalah salah satu zat tambahan makanan yang dilarang. Formalin dapat bereaksi cepat dengan lapisan lendir saluran pencernaan dan saluran pernafasan, di dalam tubuh cepat teroksidasi membentuk asam format terutama di hati dan sel darah merah. Pemakaian pada makanan dapat mengakibatkan keracunan pada tubuh manusia, yaitu rasa sakit perut yang akut disertai muntah-muntah, timbulnya depresi susunan syaraf atau kegagalan peredaran darah (Effendi & Supli, 2009).

Kasus penggunaan bahan pengawet berbahaya yang marak di pasaran, mendorong peneliti untuk memanfaatkan limbah kulit udang sebagai alternatif pengawet pada ikan hasil tangkapan nelayan khususnya di daerah Tambakrejo. Seperti halnya produk ikan lainnya, keberadaan mikroba dalam ikan bandeng adalah merupakan faktor utama penyebab kerusakan dan menjadi permasalahan yang harus ditanggulangi. Kulit udang yang melimpah yang ada di daerah Tambakrejo biasanya hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan bahan pembuat terasi. Oleh karena keterkaitan satu dengan yang lain bahwa kawasan yang juga terkenal sebagai sentra bandeng presto ini, pemanfaatan limbah kulit udang sangat cocok sebagai antimikroba pada ikan bandeng.

Dari permasalahan diatas, tujuan dari penelitian ini adalah preparasi kitosan dari kitin yang berasal dari limbah kulit udang vannamei dengan NaOH 60% pada temperatur 120°C selama 4 jam serta mencari konsentrasi larutan kitosan yang optimum dalam aplikasi sebagai antimikroba/ pengawet pada ikan bandeng.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana karakteristik kitin dan kitosan dari limbah kulit udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*)?
2. Berapakah konsentrasi larutan kitosan yang optimum sebagai senyawa antimikroba ikan bandeng?

1.3 Tujuan penelitian

Berdasarkan permasalahan yang sudah dirumuskan, maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Untuk mengetahui karakteristik kitin dan kitosan dari limbah kulit udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*).
2. Untuk mengetahui konsentrasi larutan kitosan yang optimum sebagai senyawa antimikroba ikan bandeng.

1.4 Manfaat penelitian

Setelah mengetahui tujuan penelitian, maka diharapkan manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Bagi Peneliti
Sebagai acuan untuk mengetahui konsentrasi larutan kitosan yang optimum sebagai senyawa antimikroba ikan bandeng.
2. Bagi Masyarakat
 - a. Memberikan informasi tentang penggunaan kitosan sebagai alternatif senyawa antimikroba ikan bandeng yang alami dan aman.

- b. Memberikan informasi tentang konsentrasi kitosan yang optimum sebagai bahan pengawet ikan bandeng.

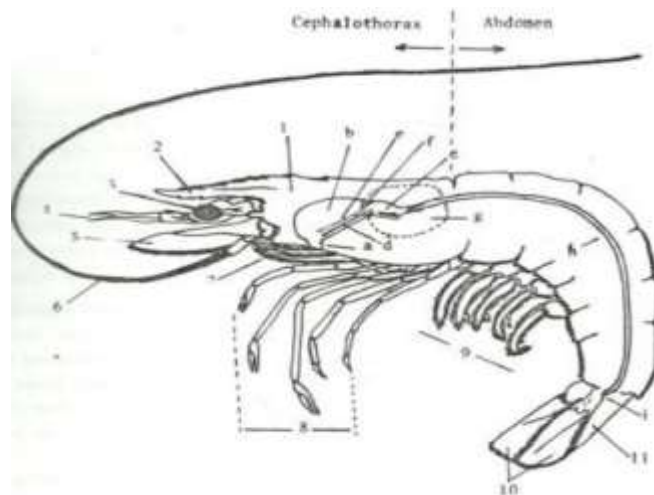
BAB 2

TINJUAN PUSTAKA

2.1 Udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*)

Klasifikasi dan morfologi udang vannamei menurut Kepala Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan (2011) sebagai berikut:

Phylum	: Arthropoda
Kelas	: Crustacea
Sub-kelas	: Malacostraca
Series	: Eumalacostraca
Super order	: Eucarida
Order	: Decapoda
Sub order	: Dendrobranchiata
Infra order	: Penaeidea
Famili	: Penaeidae
Genus	: Penaeus
Sub genus	: Litopenaeus
Spesies	: Litopenaeus vannamei



Gambar 2.1 Morfologi Udang Vannamei

Keterangan gambar:

- | | |
|------------------|-----------------------|
| (1) Carapace | (a) Oesophagus |
| (2) Rostrum | (b) Ruang cardiac |
| (3) Mata majemuk | (c) Ruang pyloric |
| (4) Antennules | (d) Cardiac plate |
| (5) Prosartema | (e) Gigi-gigi cardiac |
| (6) Antena | (f) Cardiac ossicle |
| (7) Maxilliped | (g) Hepatopancreas |
| (8) Pereopoda | (h) Usus (mid gut) |
| (9) Pleopoda | (i) Anus. |
| (10) Uropoda | |
| (11) Telson | |

Udang vannamei adalah binatang catadroma, artinya ketika dewasa ia bertelur dilaut lepas berkadar garam tinggi. Pada awalnya udang vanamei ditemukan setelah matang kelamin akan melakukan perkawinan di laut dalam sekitar 7 m di wilayah Pasifik lepas pantai Mexico dan Amerika Tengah dan Selatan pada suhu air 26-28°C dan salinitas 35 ppt. Udang vannamei memerlukan pakan dengan kandungan protein 35%. Ini lebih rendah dibanding dengan kebutuhan untuk udang *P.monodon* dan *P.japonicus* yang kebutuhan protein pakannya mencapai 45% untuk tumbuh baik. Ini berarti dari segi pakan *L.vannamei* lebih ekonomis, sebab bahan pangan yang mengandung protein banyak tentu lebih mahal juga tentunya akan lebih mudah pada proses deproteinasi kitin. Kecepatan tumbuh pada udang dipengaruhi oleh 2 faktor, yaitu frekuensi molting (ganti kulit) dan kenaikan berat tubuh setelah setiap kali ganti kulit. Hal ini dikarenakan daging tubuh tertutup oleh kulit yang keras, secara periodik kulit keras itu akan lepas dan diganti dengan kulit baru yang semula lunak untuk beberapa jam, memberi kesempatan daging untuk bertambah besar, lalu kulit menjadi keras kembali. Udang yang masih kecil, kulitnya yang baru akan mengeras dalam 1-2 jam, pada udang yang besar bisa sampai 1-2 hari. Ukuran keras pada kulit udang menurut Sedjati (2006), mempengaruhi kandungan mineral dalam cangkang tersebut, semakin keras maka semakin besar kandungan mineralnya, udang vannamei ini termasuk memiliki kulit yang tidak begitu keras.

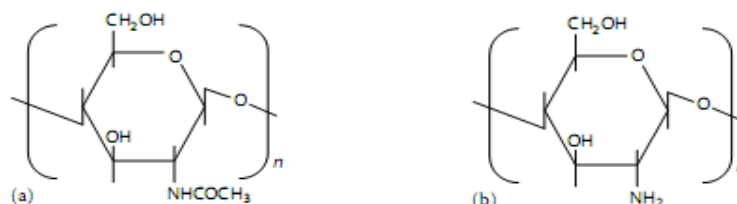
2.2 Kitin - Kitosan

Kitin merupakan biopolimer rantai panjang yang lurus tersusun dari 2000–3000 monomer (2-asetamida-2-deoksi-D-glukosa) yang terangkai dengan ikatan

1,4- β -glikosida. Kitin memiliki rumus molekul $[C_8H_{13}NO_5]_n$ memiliki berat molekul $1,2 \times 10^6$ Dalton juga gugus asetamida ($-NHCOCH_3$) yang merupakan polimer berunit N-asetilglukosamin. Kitin banyak terdapat pada kulit luar hewan Artropoda, Molusca, Anellida, Crustacea dan dinding sel fungi (Yunarsih, 2013). Kitin merupakan zat padat yang tak berbentuk (amorphous), tak larut dalam air, asam anorganik encer, alkali encer dan pekat, alkohol, dan pelarut organik lainnya tetapi larut dalam asam-asam mineral yang pekat. Kitin kurang larut dibandingkan dengan selulosa dan merupakan N-glukosamin yang terdeasetilasi sedikit, sedangkan kitosan adalah kitin yang terdeasetilasi sebanyak mungkin. Kitin diisolasi dari limbah udang dengan cara demineralisasi, deproteinasi dan depigmentasi. Proses ini diberikan perlakuan pemanasan dan penggilingan supaya dapat mempercepat reaksi.

Kitosan yang disebut juga dengan β -(1,4)-2 amino-2-dioksi-D-glukosa merupakan turunan dari kitin melalui proses deasetilasi (Puspawati, 2010). Kitosan juga merupakan suatu polimer multifungsi karena mengandung tiga jenis gugus fungsi yaitu asam amino, gugus hidroksil primer dan sekunder. Adanya gugus fungsi ini menyebabkan kitosan mempunyai reaktifitas kimia yang tinggi. Kitosan merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, larutan basa kuat, sedikit larut dalam HCl dan HNO_3 , dan H_3PO_4 , dan tidak larut dalam H_2SO_4 . Kitosan tidak beracun, mudah mengalami biodegradasi dan bersifat polielektrolitik. Kitosan dapat dengan mudah berinteraksi dengan zat-zat organik lainnya seperti protein. Oleh karena itu, kitosan relatif lebih banyak digunakan pada berbagai bidang industri terapan dan industri kesehatan (Sedjati, 2006).

Struktur kitin dan kitosan disajikan dalam Gambar 2.2



Gambar 2.2 (a) Struktur Molekul Kitin, (b) Struktur Molekul Kitosan (Kim, 2011)

Kitosan mempunyai reaktivitas tinggi daripada kitin karena memiliki gugus amina bebas yang bersifat nukleofil kuat. Gugus amina ini mudah terprotonasi pada pH kurang dari 6,5 yang menjadikan kitosan bersifat kationik sehingga dapat berikatan dengan material bermuatan negatif seperti enzim, sel, polisakarida, asam nukleat, kulit, dan rambut (Marganov, 2003). Kualitas kitosan dapat ditentukan berdasarkan parameter fisika dan kimia, parameter fisika diantaranya penampakan, ukuran (mesh size) dan viskositas, sedangkan parameter kimia yaitu nilai proksimat dan derajat deasetilasi (DD). Standar nilai DD kitosan sebagai antimikroba berkisar antara 70%-95% (Weska, 2007: 749).

Besarnya nilai parameter standar yang dikehendaki untuk kitosan dalam dunia perdagangan dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Kualitas Standar Kitosan

Sifat-sifat Kitosan	Nilai yang dikehendaki
Ukuran partikel	Butiran-bubuk
Kadar abu	≤ 10 %
Kadar air	≤ 2 %
Kadar N	>5,0%
Derajat Deasetilasi	≥ 70 %

Sumber : Protan laboratories dalam Sedjati (2006)

Hasil penelitian Puspawati (2010) dengan variasi konsentrasi NaOH pada proses deasetilasi yakni 50%, 55%, dan 60% (temperatur dan waktu yang sama) menunjukkan konsentrasi yang optimum pada NaOH 60% suhu 120⁰C selama 4 jam. Kitosan diperoleh dengan derajat deasetilasi sebesar 88,04%. Kondisi optimum pada reaksi deasetilasi juga telah dilaporkan oleh Weska (2007) yakni pada temperatur 130⁰C selama 90 menit diperoleh nilai DD 90%. Semakin besar konsentrasi NaOH maka gugus asetil dapat lebih banyak dihilangkan melalui pemutusan ikatan antara karbon pada gugus asetil sehingga nilai DD nya makin tinggi. Hal inilah yang membuktikan semakin besar konsentrasi zat yang bereaksi, makin cepat reaksinya berlangsung. Besar kemungkinan terjadinya tumbukan, dengan demikian semakin besar pula kemungkinan terjadinya reaksi (Puspawati, 2010).

Muatan positif yang dimiliki kitosan juga menyebabkan kitosan dapat larut dan tidak terdegradasi dalam larutan asam-netral, seperti asam asetat (Herliana, 2010). Kerja asam asetat dalam melarutkan kitosan, yakni sebagai kation kitosan mempunyai potensi untuk mengikat banyak komponen, seperti protein, pektin, alginate dan polielektrolit anorganik (Sarjono, 2008). Oleh karena itu kitosan relatif lebih banyak digunakan pada berbagai bidang industri terapan dan industri kesehatan.

2.3 Bahan Antimikroba

Pada tahun 1817, *Joseph Lister* menggunakan desinfektan yang mengandung persenyawaan fenol, yaitu asam karbol untuk mendesinfeksi peralatan bedahnya. Daya kerja antimikroba bahan kimia seringkali disetarakan

dengan fenol. Kemampuan bahan kimia dibandingkan dengan fenol disebut koefisien fenol. Bahan kimia yang memiliki nilai koefisien fenol lebih dari 1 mempunyai daya kerja antimikroba yang lebih baik dibandingkan fenol. Bahan kimia yang digunakan dalam pengolahan (kemoterapeutik) menjadi pilihan bila dapat mematikan dan bukan hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Suatu antimikroba yang hanya bersifat menghambat pertumbuhan suatu inokulum bakteri contohnya adalah tetrasiklin, sulfonamida dan kloramfenikol sedangkan disebut *bakterisidal* jika mampu membunuh bakteri tersebut contohnya penicilin dan polymyxin (Lay, 1994: 67-68).

Menurut Ristiati (2000) penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba adalah melalui beberapa mekanisme tertentu sebagai berikut:

2.3.1 Denaturasi Protein

Denaturasi protein adalah perubahan molekul protein dan asam nukleat. Kehidupan sel tergantung pada pemeliharaan molekul protein dan asam nukleat. Antimikroba dapat mengakibatkan koagulasi protein sehingga dapat menghambat proses kerja sel.

2.3.2 Kerusakan pada Dinding Sel

Susunan dinding sel dapat dirusak dengan jalan merintang pembentukan atau perubahan sesudah terbentuk.

2.3.3 Perubahan Permeabilitas Sel

Membran sitoplasma menahan bahan-bahan tertentu didalam sel dan mengatur pemasukan dan pengeluaran bahan-bahan lainnya memelihara keseluruhan sel. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya

pertumbuhan sel atau kematian sel. Konsentrasi zat terlarut akan menentukan tekanan osmosis suatu larutan. Tekanan osmosis mempengaruhi sel mikroba karena berkaitan dengan ketersediaan air bagi sel sebagai media hidupnya.

2.3.4 Penghambatan Kerja Enzim

Enzim merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Penghambatan ini dapat menimbulkan terganggunya metabolisme sel sehingga mengakibatkan kematian sel.

2.3.5 Penghambatan Sintesis Asam Nukleat dan Protein

Protein, DNA dan RNA memegang peranan penting didalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti gangguan terjadi pada pembentukan atau fungsi zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan pada sel.

2.4 Ikan Bandeng (*Chanos chanos Forsk*)

2.4.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi ikan bandeng (*Chanos chanos Forsk*) menurut Kepala Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan (2011) sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Pisces
Sub class	: Teleostei
Ordo	: Malacopterygii
Famili	: Chanidae
Genus	: Chanos
Species	: <i>Chanos chanos Forsk</i>



Gambar 2.3 Ikan Bandeng (Kepala Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan , 2011)

Ikan bandeng mempunyai ciri-ciri seperti badan memanjang, padat, kepala tanpa sisik, mulut kecil terletak di depan mata. Mata diselaputi oleh selaput bening (*subcutaneous*), menurut Ghufron (1994), ikan Bandeng (*Chanos chanos Forsk*) dapat tumbuh hingga mencapai 1,8 m, anak ikan Bandeng (*Chanos chanos Forsk*) yang biasa disebut nener yang biasa ditangkap di pantai panjangnya sekitar 1-3 cm, sedangkan gelondongan berukuran 5-8 cm. Usaha pembudidayaan ikan bandeng yakni dengan lingkungan perairan yang cukup luas merupakan nilai lebih yang dimiliki Indonesia. Peningkatan budidaya perikanan dalam hal ini budidaya ikan bandeng biasa dijadikan alternatif upaya pemenuhan gizi dan pangan serta upaya peningkatan taraf hidup masyarakat (Kepala Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan, 2011).

Bagi masyarakat pesisir, ikan bandeng merupakan jenis ikan yang sudah tidak asing lagi, hanya saja masyarakat pedalaman yang berlokasi jauh dari pantai belum tentu mengenal ikan ini. Secara umum gambaran fisik (morfologi) ikan bandeng mudah dikenali, yakni berbentuk seperti peluru torpedo dengan sirip ekor yang bercabang, bermata bundar warna hitam dengan bagian tengahnya berwarna putih jernih, serta memiliki sisik yang berwarna putih keperakan. Dagingnya yang

berwarna putih susu sehingga juga dikenal dengan sebutan milkfish. Ikan bandeng memiliki banyak nama, misalnya di Sumatera dikenal dengan sebutan banding, atau agam, di Bugis disebut bolu, di Filipina disebut bangos, dan di Taiwan disebut sabahi. Ikan bandeng merupakan salah satu komoditas perikanan yang dianggap bernilai ekonomis tinggi sehingga sangat potensial untuk dibudidayakan secara optimal (Kepala Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan, 2011) seperti halnya di daerah Kelurahan Tambakrejo cukup banyak warga yang memiliki usaha bandeng presto.

2.4.2 Kualitas Ikan (Adawyah, 2007: 18-20)

Ikan yang baik adalah ikan yang masih segar. Ikan segar adalah ikan yang masih mempunyai sifat sama seperti ikan hidup, baik rupa, bau, rasa, maupun teksturnya. Parameter untuk menentukan tingkat kesegaran ikan terdiri atas faktor-faktor fisikawi, sensoris/ organoleptik/ kimiawi, dan mikrobiologi. Metode sederhana yakni dengan melihat kondisi fisik, yaitu sebagai berikut:

2.4.2.1 Kenampakan luar

Ikan yang masih segar mempunyai penampakan cerah dan tidak suram. Keadaan itu dikarenakan belum banyak perubahan biokimia yang terjadi. Metabolisme dalam tubuh ikan masih berjalan sempurna. Warna berangsur-angsur akan suram karena adanya lendir sebagai akibat berlangsungnya proses biokimiawi dan berkembangnya mikrobia.

2.4.2.2 Lenturan daging ikan

Daging ikan segar jika dibengkokkan akan segera kembali seperti semula. Hal ini dikarenakan belum terputusnya jaringan pengikat pada daging, sedangkan

pada ikan busuk jaringan pengikat banyak mengalami kerusakan dan dinding selnya banyak yang rusak.

2.4.2.3 Keadaan mata

Parameter ini merupakan yang paling mudah dilihat. Perubahan kesegaran ikan akan menyebabkan perubahan yang nyata pada kecerahan matanya.

2.4.2.4 Keadaan daging

Daging yang segar jika ditekan akan kembali ke bentuk semula, hal ini berkaitan pula jaringan pada ikan. Kerusakan jaringan pada ikan menyebabkan kesegaran ikan hilang.

2.4.2.5 Keadaan insang dan sisik

Warna insang pada ikan segar adalah merah cerah, sebaliknya jika ikan tidak segar akan berwarna coklat gelap. Insang merupakan pusat darah mengambil oksigen dari dalam air. Sisik ikan dapat menjadi parameter kesegaran ikan yakni segar bila sisik masih menempel kuat pada tubuh ikan.

2.4.3 Kerusakan Ikan

Ikan merupakan sumber protein hewani dan juga memiliki kandungan gizi yang tinggi diantaranya mineral, vitamin, dan lemak tak jenuh. Protein dibutuhkan tubuh untuk pertumbuhan dan pengganti sel-sel tubuh kita yang telah rusak. Komposisi ikan segar berikut ditampilkan dalam Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komposisi Ikan Segar per 100 g Bahan (Nuraini, 2008)

Komposisi	Kadar (%)
Kandungan air	76,0
Protein	17,0
Lemak	4,50
Mineral dan vitamin	2,52-4,50

Penyebab utama kerusakan bahan pangan menurut Adawyah (2007: 6-7) terutama pada ikan disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain :

2.4.3.1 Pertumbuhan dan Aktifitas Mikroba

Mikroba adalah jasad hidup yang sangat kecil ukurannya, sukar diamati tanpa menggunakan pembesaran. Pertumbuhan mikroorganisme tertentu menyebabkan perubahan-perubahan pada ikan, misalnya menimbulkan bau asam, bau busuk dan lain-lain.

2.4.3.2 Aktivitas Enzim yang Terdapat dalam Bahan Pangan

Enzim merupakan senyawa protein yang berfungsi sebagai katalis biologis yang dapat mengendalikan berbagai reaksi biokimia yang terdapat di dalam jaringan hidup. Enzim dapat berasal secara alami di dalam bahan pangan, atau dapat pula berasal dari mikroba yang mencemari bahan pangan yang bersangkutan.

Jaringan hidup aktifitas enzim dapat terkontrol tetapi setelah ikan mengalami kematian pengendalian berkurang padahal enzim tetap aktif. Enzim yang biasanya aktif pada makanan menjadi aktif pada otot sehingga mengakibatkan daging menjadi lunak dan menimbulkan perubahan bau, warna dan tekstur pada bahan pangan.

2.4.3.3 Kandungan Air dalam Bahan Pangan

Air yang terkandung dalam bahan pangan merupakan salah satu penyebab kerusakan bahan pangan. Air dibutuhkan oleh mikroba untuk pertumbuhannya dan untuk berlangsungnya reaksi-reaksi biokimia yang terjadi di dalam bahan pangan, misalnya reaksi-reaksi yang dikatalisis oleh enzim.

2.4.3.4 Suhu

Pada ikan, suhu harus dikontrol dengan baik karena pada suhu ruang pertumbuhan mikroba akan meningkat dengan cepat sehingga mempercepat kerusakan. Oleh karena itu, jika proses pendinginan atau pemanasan tidak dikendalikan dengan benar, maka dapat menyebabkan kerusakan bahan pangan.

2.4.3.5 Sinar

Kerusakan bahan pangan karena sinar terlihat jelas pada makanan yang berwarna. Warna bahan pangan atau makanan dapat menjadi pucat karena pengaruh sinar sehingga menimbulkan bau tengik akibat proses oksidasi.

2.4.3.6 Waktu Penyimpanan

Bahan pangan setelah dipanen atau disembelih (daging), ada waktu sesaat yang dipunyai bahan pangan untuk memberikan mutu puncaknya akan tetapi sesudah itu mutu akan turun terus-menerus. Kerusakan ikan diawali dengan terjadinya *autolisis* yang disebabkan oleh enzim yang berasal dari ikan itu sendiri, yang diikuti dengan kerusakan secara mikrobiologis, fisik, atau secara kimiawi. Kerusakan *autolisis* pada ikan dimulai segera setelah ikan mati. Beberapa jam kemudian, otot ikan akan mengejang sehingga ikan menjadi kaku akibat terhentinya pasok oksigen dan energi setelah ikan mati. Keadaan ini, yang disebut dengan *rigor-mortis*, berlangsung selama beberapa jam, setelah *rigor-mortis* selesai, otot ikan kembali lemas dan elastis. Kerusakan *autolisis* berikutnya adalah pemecahan senyawa-senyawa penyusun ikan menjadi senyawa lain dengan berat molekul yang lebih kecil. Pemecahan penyusun jaringan ikan ini akan berakibat

pada penurunan sifat organoleptik seperti bau, rasa, tekstur, dan kadang-kadang warna.

Persyaratan baku mutu dan keamanan ikan segar menurut SNI.2729-2013 sebagai berikut:

Tabel 2.3 Persyaratan Mutu dan Keamanan Ikan Segar

No	Parameter	Satuan	Persyaratan
1	Organoleptik	-	Min 7 (skor 1-9)
2	Cemaran mikroba *		
	ALT	Koloni/g	$5,0 \times 10^5$
	<i>Escherichia coli</i>	APM/g	< 3
	<i>Salmonella</i>	-	Negatif/ 25g
	<i>Vibrio cholera</i>	-	Negatif/ 25g
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	APM/g	< 3
3	Cemaran logam *		
	Arsen (As)	mg/kg	Maks 1,0
	Kadmium (Cd)	mg/kg	Maks 0,1
		mg/kg	Maks 0,5 **
	Merkuri (Hg)	mg/kg	Maks 0,5
		mg/kg	Maks 1,0**
	Timah (Sn)	mg/kg	Maks 40,0
	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks 0,3
		mg/kg	Maks 0,4**
4	Kimia*		
	Histamin ***		Maks 100
5	Residu kimia*		
	Kloramfenikol****	-	Tidak boleh ada
	Malachite green dan leucomalachite green****	-	Tidak boleh ada
	Nitrofurantoin (SEM,AHD,AOZ,AMOZ)****	-	Tidak boleh ada
6	Racun hayati*		
	Ciguatoksine****	-	Tidak boleh ada
7	Parasit*	-	Tidak boleh ada

Keterangan tabel:

* bila diperlukan

** untuk ikan predator

*** untuk ikan scombroidae (scombroid), clupeidae, pomatomidae, coryphaenedae

**** untuk ikan karang

ALT : Angka Lempeng Total

APM : Angka Paling Memungkinkan

2.5 Penentuan Jumlah Mikroba dengan Hitungan Cawan (Fardiaz, 1992)

Prinsip dasar dari metode hitungan cawan adalah jika sel jasad renik yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel jasad renik tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dapat dihitung dengan mata tanpa mikroskop. Metode hitungan cawan merupakan cara yang paling sensitif untuk menentukan jumlah jasad renik karena beberapa hal:

1. Hanya sel yang masih hidup yang dihitung.
2. Beberapa jenis jasad renik dapat dihitung sekaligus.
3. Dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi jasad renik karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari jasad renik yang mempunyai penampakan pertumbuhan spesifik.

Dalam metode hitungan cawan, bahan pangan yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 sel jasad per mL atau per gram atau per cm (jika pengambilan contoh dilakukan pada permukaan) memerlukan perlakuan pengenceran sebelum ditumbuhkan pada media agar. Setelah inkubasi akan terbentuk koloni dengan jumlah yang terbaik adalah 30-300 koloni. Pengenceran biasanya secara desimal yaitu 1:10; 1:100; 1:1000, dan seterusnya. Larutan yang

digunakan untuk mengencerkan dapat berupa larutan buffer fosfat, garam fisiologis (0,85% larutan NaCl) atau larutan Ringer.

Penentuan jumlah mikroba dengan metode hitungan cawan dapat dibedakan atas dua cara yaitu (1) metode tuang (pour plate), dan (2) metode tabur (*surface/spread plate*). Pada metode tuang, sejumlah contoh (1 mL atau 0,1 mL) dari pengenceran yang dikehendaki dimasukkan kedalam cawan petri, kemudian ditambah agar cair steril yang telah didinginkan (45-50°C) sebanyak 15-20 mL dan digoyangkan supaya contoh menyebar rata. Pada pemupukan dengan metode batang gelas melengkung steril. Jumlah koloni dapat dihitung:

$$\text{Koloni mL/gram} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Untuk melaporkan hasil analisis mikrobiologi dengan cara hitungan cawan digunakan suatu standar yang disebut *standart plate counts* (SPC) sebagai berikut:

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300 koloni.
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
3. Satu deretan rantai koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung satu koloni.

Dalam SPC ditentukan cara pelaporan dan perhitungan koloni sebagai berikut:

1. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka yaitu angka pertama (satuan) dan angka kedua (desimal). Jika angka ketiga sama dengan atau

lebih besar dari 5, maka dibulatkan satu angka lebih tinggi pada angka ke dua

2. Jika pada semua pengenceran dihasilkan kurang dari 30 koloni pada cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu tinggi, oleh karena itu jumlah koloni pada pengenceran yang terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan faktor pengenceran tetapi jumlah yang sebenarnya harus ditampilkan dalam tanda kurung
3. Jika pada semua pengenceran dihasilkan lebih dari 300 koloni dalam cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu rendah, oleh karena itu jumlah koloni pada pengenceran tertinggi yang dihitung, hasilnya dilaporkan sebagai lebih dari 300 dikalikan faktor pengenceran tetapi jumlah yang sebenarnya harus ditampilkan dalam tanda kurung
4. Jika pada cawan dari dua tingkat pengenceran dihasilkan koloni dengan jumlah antara 30-300 koloni dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut kurang atau sama dengan 2, hasilnya dilaporkan dari rata-rata kedua nilai tersebut dengan mengalikan faktor pengenceran. Jika perbandingannya lebih dari 2 yang dilaporkan hanya hasil terkecil
5. Jika digunakan dua cawan petri (duplo) per pengenceran, hasil yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh diambil salah satu. Oleh karena itu harus dipilih tingkat pengenceran yang menghasilkan kedua cawan duplo dengan koloni antara 30- 300 koloni.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Universitas Negeri Semarang dan Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang.

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel terikat

Variabel terikat yaitu variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas dan menjadi titik pusat penelitian. Pada penelitian ini variabel terikatnya adalah optimasi kitosan sebagai antimikroba pada ikan bandeng.

3.2.2 Variabel bebas

Variabel bebas yaitu variabel yang akan diselidiki, pengaruhnya terhadap variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi kitosan pada optimasi aplikasinya sebagai antimikroba. Konsentrasi kitosan akan dibuat 0%, 1%, dan 2%.

3.2.3 Variabel terkendali

Variabel terkendali yaitu variabel yang dijaga atau dikendalikan agar selalu konstan. Variable ini meliputi suhu, waktu, massa sampel ikan, jenis ikan (bandeng), volume perendaman, peralatan dan lain sebagainya.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi atas tiga bagian proses. Pada proses sintesis kitosan, alat yang digunakan meliputi oven, blender, ayakan 50 mesh, alat gelas (pyrex, Iwaki), neraca analitik (Ohaus Explorer), *hot plate*, *magnetic stirrer*, termometer, kertas saring, pH meter, bola hisap, desikator, statif, klem dan panci. Pada proses karakterisasi kitin dan kitosan, alat yang digunakan meliputi neraca analitik (Ohaus Explorer), cawan porselin, alat gelas (pyrex, Iwaki), oven, desikator, krus porselin, furnace, bola hisap, pemanas, almari asam, tripot, kasa asbes, alat destilasi, statif, dan seperangkat alat uji Fourier Transform Infra-Red (FTIR) merk Shimadzu. Pada proses aplikasi kitosan sebagai antimikroba, alat yang digunakan meliputi alat gelas (pyrex, Iwaki), *autoclave*, neraca digital, vortex, tip, mikropipet, penangas spiritus, bola hisap, kapas steril, kompor, inkubator, *colony counter*, dan pinset.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi atas tiga bagian proses. Pada proses sintesis kitosan, bahan yang digunakan meliputi kulit udang vannamei, aquades, asam klorida pekat (HCl 37%) (p.a), natrium hidroksida (NaOH), aseton (p.a), etanol (p.a), perak nitrat (AgNO_3), asam sulfat (H_2SO_4), kalium iodida (KI), dan iodium (I_2). Pada proses karakterisasi kitin dan kitosan, bahan yang digunakan meliputi sampel kitin dan kitosan, kalium sulfat (K_2SO_4), perak oksida (HgO), asam sulfat (H_2SO_4), aquades, lempeng Zn, kalium sulfida (K_2S) 4%, natrium hidroksida (NaOH), asam klorida (HCl) (p.a), indikator metil

merah, dan kalium bromida (KBr). Pada proses aplikasi kitosan sebagai antimikroba, bahan yang digunakan meliputi sampel kitosan, asam asetat (CH_3COOH) (2%), sampel ikan bandeng, *Nutrient Agar* (p.a), alkohol 70%, dan aquades.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan kitin dan kitosan

3.4.1.1 Persiapan sampel

Kulit udang vannamei yang diambil dari limbah pabrik pengupasan udang Kelurahan Tambakrejo ditimbang sebanyak 2 kg, dicuci bersih, direbus, kemudian kembali dicuci dengan air agar kotoran yang melekat hilang, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 120°C selama kurang lebih satu jam. Setelah kering kemudian digiling dan diayak menggunakan ayakan 50 mesh (diameter lubang 0,3 mm) sehingga diperoleh serbuk dengan ukuran partikel yang lebih kecil dari 0,3 mm. Hasil ayakan digunakan sebagai sampel (Puspawati, 2010).

3.4.1.2 Ekstraksi kitin dari kulit udang vannamei

Sebanyak 100 g serbuk kulit udang ditambahkan dengan 1500 mL HCl 1,5 M dengan perbandingan 1:15 (w/v) antara sampel dengan pelarut lakukan dalam beaker glass. Campuran dipanaskan pada temperatur 75°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan pada 50 rpm kemudian disaring. Padatan yang diperoleh dicuci dengan aquades untuk menghilangkan HCl yang tersisa. Filtrat terakhir yang diperoleh diuji dengan larutan AgNO_3 , bila sudah tidak terbentuk endapan putih maka sisa ion Cl^- yang terkandung sudah hilang (netral). Padatan yang dihasilkan dikeringkan pada oven dengan temperatur 70°C selama 24 jam

sehingga diperoleh serbuk kulit udang tanpa mineral yang kemudian didinginkan dalam desikator. Serbuk hasil proses demineralisasi, dimasukkan ke dalam labu leher tiga dan ditambahkan larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 1:10 (^{w/v}) antara sampel dengan pelarut. Campuran tersebut dipanaskan pada temperatur 68°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan pada 50 rpm. Larutan kemudian disaring dan didinginkan sehingga diperoleh kitin, yang kemudian dicuci dengan aquades sampai pH netral. Filtrat yang diperoleh diuji dengan pereaksi biuret, bila filtrat berubah menjadi biru berarti protein yang terkandung sudah hilang. Kitin dicuci kembali dengan aquades panas dan aseton untuk menghilangkan warna sebanyak dua kali masing-masing 100 mL, lalu dikeringkan pada suhu 80°C selama 24 jam kemudian didinginkan dalam desikator. Adanya kitin dapat dideteksi dengan reaksi warna Van Wesslink. Pada cara ini, kitin direaksikan dengan larutan I₂-KI 1% yang memberikan warna coklat, kemudian jika ditambahkan H₂SO₄ 1M berubah menjadi violet, ini menunjukkan reaksi positif adanya kitin (Marganov, 2003). Kitin yang diperoleh masing-masing dikarakterisasi dengan FTIR dihitung derajat deasetilasinya, dan disintesis menjadi kitosan (Puspawati, 2010).

3.4.1.3 Pembuatan kitosan

Kitin hasil demineralisasi, deproteinasi, dan depigmentasi kemudian dideasetilasi dengan menambahkan NaOH pekat dengan konsentrasi 60% dengan perbandingan 1:20 (^{w/v}) antara kitin dengan pelarut lakukan dalam labu alas datar. Campuran diaduk dan dipanaskan pada suhu 120°C selama 4 jam. Larutan dipisahkan dan disaring, residu dicuci dengan aquades hingga pH netral. Residu

yang telah netral kemudian dikeringkan dalam oven pada 65°C (Puspawati, 2010). Kitosan selanjutnya dikarakterisasi gugus aktifnya menggunakan Spektrofotometri Infra Merah (FTIR) dan dilakukan karakterisasi kadar air, kadar abu, dan kadar nitrogen (Mahatmanti *et al.*, 2001).

3.4.2 Karakterisasi kitin dan kitosan

3.4.2.1 Analisis Derajat Deasetilasi

Kitin dan kitosan masing-masing di analisis nilai derajat deasetilasinya dengan mencampur masing-masing 1 mg sampel dan 100 mg KBr. Campuran kemudian dihaluskan dengan mortal alu dan dimasukkan dalam pellet dan ditekan hingga membentuk lapisan yang transparan. Selanjutnya pellet dimasukkan ke tempat sampel dan diuji dengan menggunakan spektroskopi FTIR pada daerah spektra 300-4000 cm⁻¹ (Wafiroh, 2012).

$$\% \text{ Derajat deasetilasi} = 100 - \left(\frac{A_{1655} \times 100}{A_{3450} \times 1,33} \right) \%$$

Keterangan:

A₁₆₅₅ : Serapan pita amida

A₃₄₅₀ : Serapan pita hidroksi

3.4.2.2 Pengujian kadar air (Sudarmadji & Suhardi, 1994)

1. Ditimbang sampel sebanyak 1-2 g dalam cawan porselin atau gelas arloji yang telah diketahui massanya
2. Dimasukkan dalam oven pada suhu (100-105)⁰C selama 1-2 jam tergantung bahannya. Kemudian didinginkan dalam eksikator selama kurang lebih 30 menit dan ditimbang.

3. dipanaskan lagi dalam oven, didinginkan dalam desikator dan diulangi hingga massa konstan

Perhitungan kadar air dapat dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kadar air} = \frac{a - b}{c} \times 100\%$$

Keterangan:

- a : massa cawan dan sampel awal (g)
 b : massa cawan dan sampel setelah kering (g)
 c : massa sampel awal (g)

3.4.2.3 Pengujian kadar abu (Sudarmadji & Suhardi, 1994)

1. Ditimbang sampel sebanyak 1-2 g dalam krus porselin yang kering dan telah diketahui massanya.
2. Memasukkan dalam furnace pada suhu 400⁰C selama ± 4 jam sampai diperoleh abu berwarna keputih-putihan.
3. Kemudian krus dan abu didinginkan dalam desikator selama 30 menit.
4. Setelah dingin abu ditimbang

Perhitungan kadar abu dapat dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{(a - b)}{c} \times 100\%$$

Keterangan:

- a : massa cawan dan sampel awal (g)
 b : massa cawan dan sampel setelah menjadi abu (g)
 c : massa sampel awal (g)

3.4.2.4 Penentuan kadar N (Sudarmadji & Suhardi, 1994)

1. Ditimbang 1 g bahan yang telah dihaluskan, masukkan ke dalam labu kjeldahl.
2. Ditambahkan 7,5 g K_2SO_4 dan 0,35 g HgO dan ditambah 15 mL H_2SO_4 pekat.
3. Dicampur pada labu kjeldahl dipanaskan dalam almari asam sampai berhenti berasap, dipanaskan sampai cairan menjadi jernih dan kemudian dinginkan.
4. Ditambahkan 100 mL aquades dalam labu kjeldahl yang didinginkan dalam air es dan beberapa lempeng Zn, ditambahkan juga 15 mL larutan K_2S 4% (dalam air) dan akhirnya ditambahkan pelan-pelan larutan NaOH 50% sebanyak 50 mL yang sudah didinginkan dalam almari es. Pasang labu kjeldahl dengan segera pada alat destilasi.
5. Labu kjeldahl dipanaskan pelan-pelan sampai cairan tersebut tercampur, kemudian dipanaskan dengan cepat sampai mendidih dan tampung hasil destilasi.
6. Distilat ditampung dalam erlenmeyer yang telah diisi dengan 50 mL larutan standar HCl 0,1 N dan 5 tetes indikator metil merah. Lakukan destilasi sampai destilat yang tercampur sebanyak 75 mL.
7. Destilat yang diperoleh selanjutnya dititrasi dengan larutan standar NaOH 0,1 N dan melakukan prosedur yang sama untuk larutan blangko dengan mengganti bahan dengan aquades.

Perhitungan kadar N dapat dilakukan dengan rumus sebagai berikut :

$$\%N = \frac{ml \ NaOH \ (blanko - sampel)}{berat \ sampel \ (gr) \times 1000} \times N \ NaOH \times 14,008 \times 100\%$$

3.4.3 Pemanfaatan kitosan sebagai bahan antimikroba

Kitosan hasil deasetilasi kitin dengan NaOH 60% selanjutnya digunakan untuk mencari optimalisasi kitosan sebagai bahan antimikroba. Bahan antimikroba berupa larutan kitosan yang divariasikan konsentrasinya dengan cara melarutkan kitosan ($^{w/v}$) ke dalam asam asetat 2% ($^{v/v}$) (Ahmad M dan Mazidah, 2003). Sampel ikan bandeng yang diambil dari tambak dimatikan kemudian ditimbang untuk diketahui massanya. Sampel ikan masing-masing direndam dalam larutan kitosan dengan konsentrasi yang bervariasi dengan perbandingan 1 kg ikan/l L larutan kitosan. Konsentrasi larutan dibuat variasi 1%, 1,5%, dan 2% yang dilarutkan dalam asam asetat 2% ($^{w/v}$). Penyimpanan dilakukan temperatur kamar dan waktu yang konstan yakni 10 jam. Ikan hasil perlakuan selanjutnya dihitung jumlah mikroba. Batas aman yang ditetapkan SNI untuk jumlah mikroba dalam ikan beku adalah 5×10^5 koloni/g.

3.4.3.1 Sterilisasi Alat-alat Gelas (Rahayu & Nurwiti, 2014)

1. Alat-alat yang akan disterilisasi dibungkus dengan kertas koran hingga tertutup semua dengan rapi.
2. Alat-alat dimasukkan dalam *autoclave* dan dipanaskan pada suhu 121°C dengan tekanan 1-2 atm selama 10-15 menit.
3. *Autoclave* dimatikan dan dibiarkan sampai suhunya dingin.
4. Alat-alat diambil dan dipergunakan atau disimpan dalam tempat yang aman dan masih dalam keadaan terbungkus.

3.4.3.2 Pembuatan Medium Nutrien Agar (NA) (Rahayu& Nurwiti, 2014)

1. Menimbang 5 g Nutrien Agar (p.a).
2. Dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan aquades 250 mL dan dipanaskan sampai homogen.
3. Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan kertas.
4. Disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C , tekanan 1-2 atm selama 5-10menit.
5. Setelah disterilkan masih dalam keadaan hangat (suhu $45-50^{\circ}\text{C}$) dituangkan ke dalam *petridish* untuk medium nutrient agar datar sedangkan tabung reaksi untuk agar miring.

3.4.3.3 Pengujian Jumlah Mikroba (Rahayu& Nurwiti, 2014)

1. Dilarutkan 1 g sampel ke dalam 9 mL larutan aquadest steril (larutan 1).
2. Mengambil sampel 1 mL diencerkan menjadi $1/10^2$ dengan menambahkan 9 mL larutan aquadest steril (larutan 2).
3. Dibuat pengenceran $1/10^3$ dengan mengencerkan 1 mL larutan 2 ditambah 9 mL larutan aquadest steril (larutan 3).
4. Dibuat pengenceran $1/10^4$ dengan mengencerkan 1 mL larutan 3 ditambah 9 mL larutan aquadest steril (larutan 4).
5. Dibuat pengenceran $1/10^5$ dengan mengencerkan 1 mL larutan 4 ditambah 9 mL larutan aquadest steril (larutan 5).
6. Larutan 5 Dipipet 1 mL ke dalam cawanpetri

7. Dituangkan ± 15 mL NA yang telah dipanaskan ($47-50^{\circ}\text{C}$) ke dalam cawan petri sambil digoyangkan supaya campuran merata ke seluruh dasar petri.
8. Cawan petri didiamkan selama 30 menit dan setelah beku dimasukkan ke *inkubator* dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam. Dihitung jumlah koloni yang tumbuh dengan *colony counter*.

BAB 5

PENUTUP

5.1 Simpulan

1. Karakteristik kitin dan kitosan dari limbah kulit udang vannamei meliputi pengukuran kadar air, kadar abu, kadar nitrogen, dan derajat deasetilasi telah memenuhi standar yang ditetapkan Protan Laboratories.
2. Variasi konsentrasi larutan kitosan yang memberikan hasil maksimal sebagai senyawa antimikroba ikan bandeng adalah BAC₂ (larutan kitosan 2%) masa simpan 10 jam dengan jumlah mikroba 7.10^5 koloni/mL.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan variasi konsentrasi kitosan lebih tinggi untuk mengetahui konsentrasi optimumnya.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan waktu perendaman yang lebih lama menggunakan pelarut kitosan 2% .

DAFTAR PUSTAKA

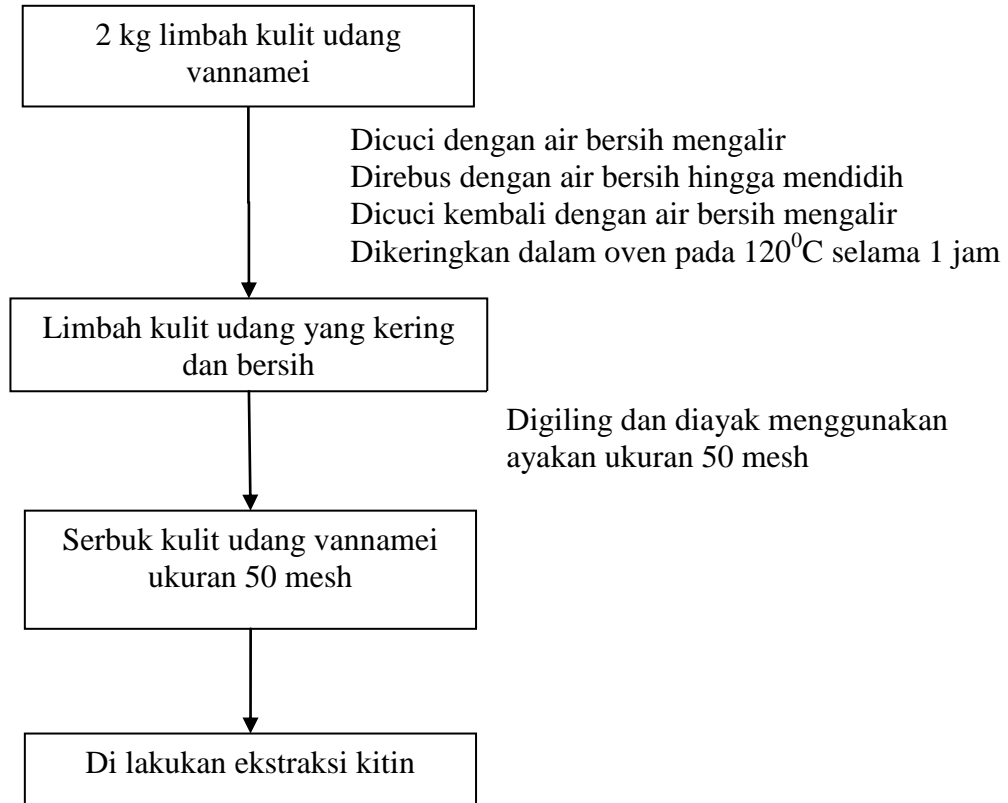
- Adawyah, R. 2007. *Pengolahan dan Pengawetan Ikan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Apriyanti, A.F. 2013. *Kajian Sifat Fisik-Mekanik dan Antibakteri Plastik Kitosan Termodifikasi Gliserol*. Skripsi. Semarang: Unnes.
- Ardiato, T. 2007. *Upaya Pemanfaatan Limbah Kulit Rajungan (*Portunus pelagicus*) sebagai membran kitosan crosslinked formaldehid*. Skripsi. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Azhar, M., J. Efendi, dan E. Syofyeni. 2010. Pengaruh konsentrasi NaOH dan KOH terhadap Derajat Deasetilasi Kitin dari Limbah Kulit Udang. *Eksakta*, 1(9): 1-8.
- Basuki, B.R., dan I.G.M. Sanjaya. 2009. Sintesis Ikatan Silang Kitosan dengan Glutaraldehyd serta identifikasi Gugus Fungsi dan Derajat Deasetilasinya. *Jurnal Ilmu Dasar*, 1 (10): 93-101.
- Darmawan, E., Mulyningsih, S., dan Firdaus, F. 2007. Karakteristik Khitosan yang dihasilkan dari Limbah Kulit Udang dan Daya Hambatnya terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal LOGIKA*, 4 (2): 28-40.
- Departemen Kesehatan RI. 1989. *Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/MenKes/Per/IX/1988, tentang Bahan Tambahan Makanan*. Jakarta: DepKes RI.
- Effendi, dan M. Supli. 2009. *Teknologi Pengolahan dan Pengawetan Pangan*. Bandung : Alfabeta
- Fardiaz, S. 1992. *Petunjuk Laboratorium Pengolahan Pangan*. Bogor: IPB Press
- Haryanti, R.S. 2014. Kitosan dari Limbah Udang sebagai Bahan Pengawet Ayam Goreng. *Jurnal Rekayasa Proses*, 8 (1): 12-19.
- Herliana P. 2010. Potensi Khitosan Sebagai Anti Bakteri Penyebab Periodontitis. *Jurnal UI Untuk Bangsa Seri Kesehatan, Sains, dan Teknologi*, Vol (1): 12-24.
- Hidayati, S. 2007. Bilangan Iod dan Bilangan Asam Surfaktandari Minyak Inti Sawit. *Jurnal Teknik Industri*, 15 (3): 96-100.
- Iswadi, D. 2012. *Penggunaan Khitosan sebagai Pengganti Formalin untuk Pengawetan Ikan Teri*. Skripsi. Semarang: Unnes

- Kepala Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan. 2011. *Budidaya Udang Vaname (Litopenacus Vannamei)*. Jakarta: Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan
- Kepala Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan. 2011. *Potensi, Karakteristik, dan Pengolahan Ikan Bandeng*. Jakarta: Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan
- Kim, S. K. 2011. *Chitin, Chitosan, Oligo Saccharides and Their Derivatives. Biological Activities and Applications*. New York: CRC Press Taylor & Francis Group
- Kurniasih, M dan D. Kartika. 2011. Sintesis dan Karakterisasi Fisika-Kimia Kitosan. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 5 (1): 42-48.
- Larita, K. 2006. *Transformasi Khitin menjadi Khitosan serta kemampuan adsorpsinya terhadap ion Pb (II) dalam Larutan*. Skripsi. Jimbaran: Universitas Udayana.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Mahatmani, F.W., W. Sugiyo., dan W. Sunarto. 2010. Sintesis Kitosan dan Pemanfaatannya sebagai Anti Mikroba Ikan Segar. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 8(2): 101-111.
- Marganov, 2003. *Potensi Limbah Udang Sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium, Tembaga) di Perairan*. Bogor: IPB Press.
- Nicholas, T. A. 2003. *Antimicrobial Use of Native and Enzymatically Degraded Chitosan for Seafood Application*. Thesis. Maine: The University of Maine.
- Nuraini, R. 2008. *Teknik Pengawetan Ikan untuk Dikonsumsi dengan Metode Fermentasi Ensiling*. Sekolah Ilmu dan Teknologi ITB.
- Puspawati, N.M, dan N. Simpen. 2010. Optimasi Deasetilasi Khitin dari Kulit Udang dan Cangkang Kepiting Limbah Restoran Seafood Menjadi Kitosan Melalui Variasi Konsentrasi NaOH. *Jurnal Kimia*, 4 (1): 79-90.
- Rahayu, W.P., dan C. C. Nurwitri. 2004. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor: IPB Press.
- Ristiati, N. P. 2000. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Jakarta: Depdiknas

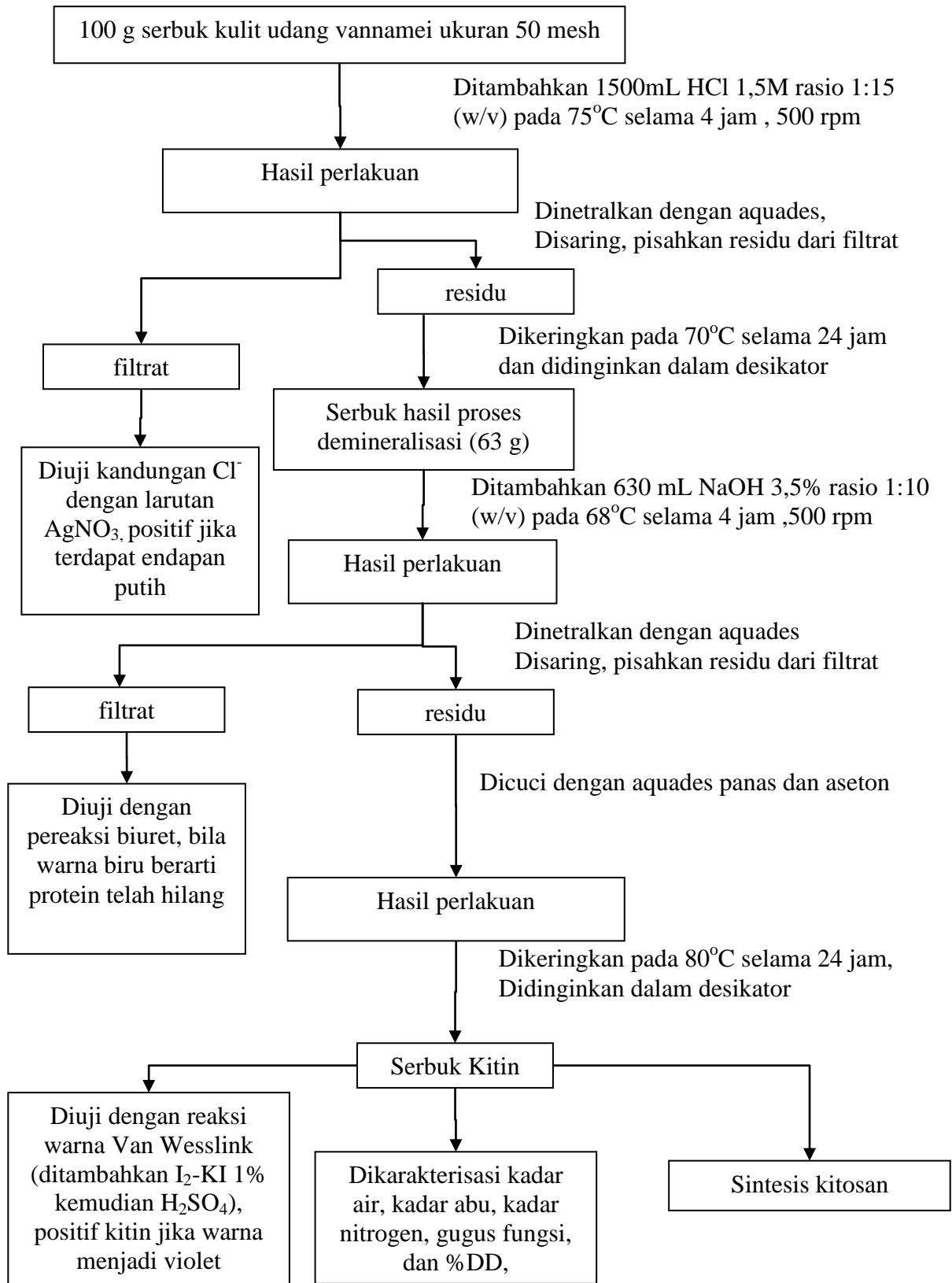
- Sarjono, P. R. 2008. Uji Antibakteri Kitosan dari Kulit Udang Windu (*Peneaus monodon*) dengan Metode Difusi Cakram Kertas. *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*. Semarang: Universitas Diponegoro
- Sedjati, S. 2006. *Pengaruh Konsentrasi Kitosan terhadap Mutu Ikan Teri (Stolephorus Heterolobus) ASIW Kering selama Penyimpanan Suhu Kamar*. Tesis. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Suptijah, P., T. Hidayat, dan I. Mardani. 2015. *Teknologi Kitin Kitosan*. Bogor: IPB Press
- Taufan, M.R.S. 2006. *Pemanfaatan Limbah Kulit Udang sebagai Bahan Antu Rayap (Bio-termtisida) pada Bangunan Berbahan Kayu*. Skripsi. Semarang: Undip
- Wafiroh, S., dan Abdullah. 2012. Pemanfaatan Selulosa Diasetat dari Biofer Limbah Pohon Pisang dan Kitosan dari Cangkang Udang sebagai Bahan Baku Membran Mikrofiltrasi untuk Pemurnian Nira Tebu. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa*. Surabaya: Universitas Airlangga
- Waltam, D.R. 2009. Demineralisasi dan Deproteinasi Kulit Udang secara Kontinyu pada tahapan Ekstraksi Kitin secara Biologis. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 12 (1): 71-75.
- Weska, R. F., dan J.M. Moura. 2007. Optimizing Deacetylation in the Production of Chitosan from Shrimp Waste: Use of Response Surface Methodology. *Journal of Food Engineering* 80 (749). Brazil: Funfacao Universidade federal da Rio Grande
- Yuliati, A. T., Adiarto, dan M. Dwi. 2007. Uji Toksisitas Kitosan dari Limbah Kulit Udang Windu pada Kultur Sel. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 8 (1): 57-62.
- Yunarsih, N.M. 2013. *Efektifitas Membran Kitosan dari Kulit Udang Galah (Macrobanchium Rosengerigi) untuk Menurunkan Fosfat dalam Air Limbah Loundry*. Tesis. Denpasar: Universitas Udayana

LAMPIRAN

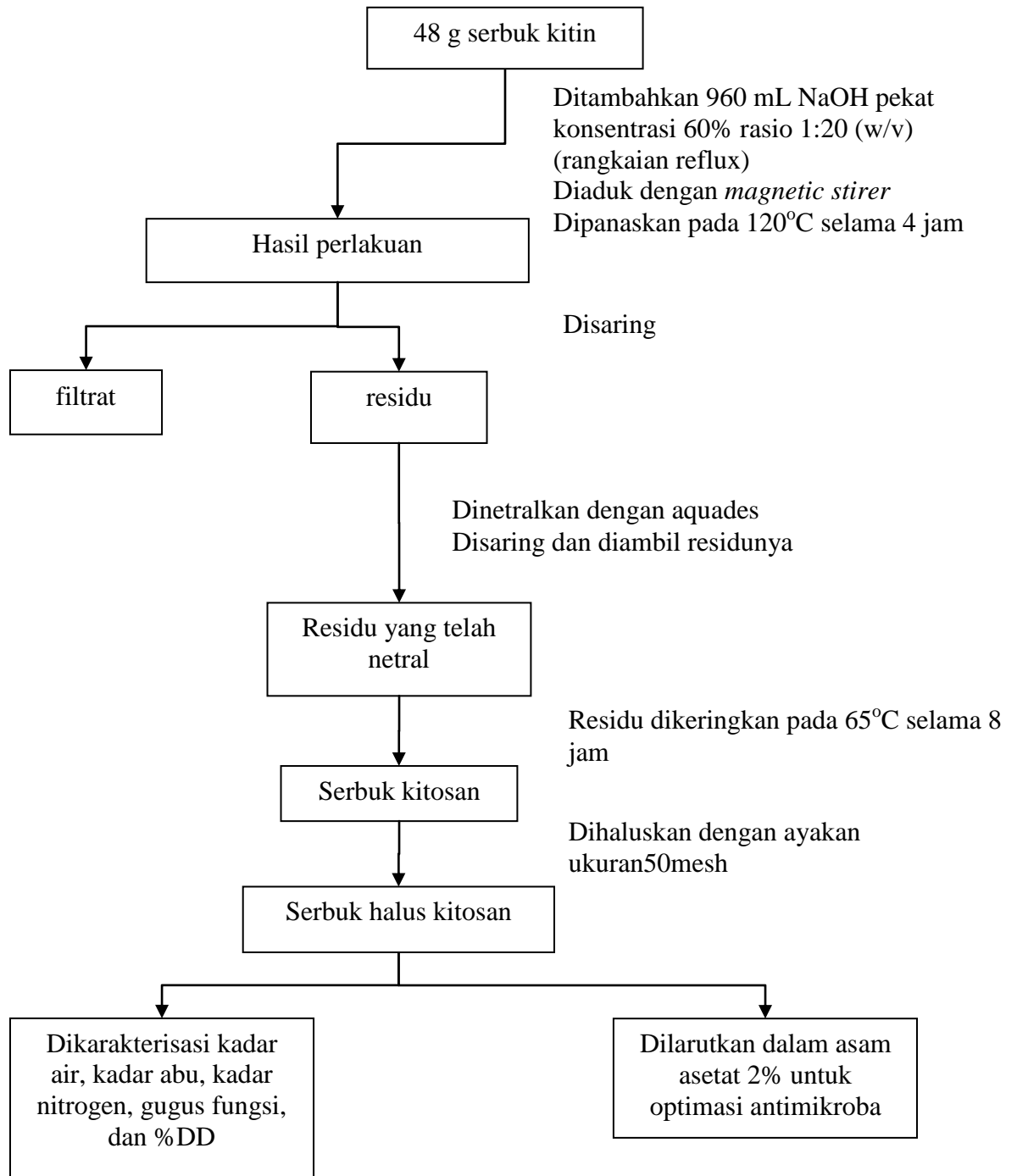
1. Preparasi Sampel Serbuk Udang Vannamei



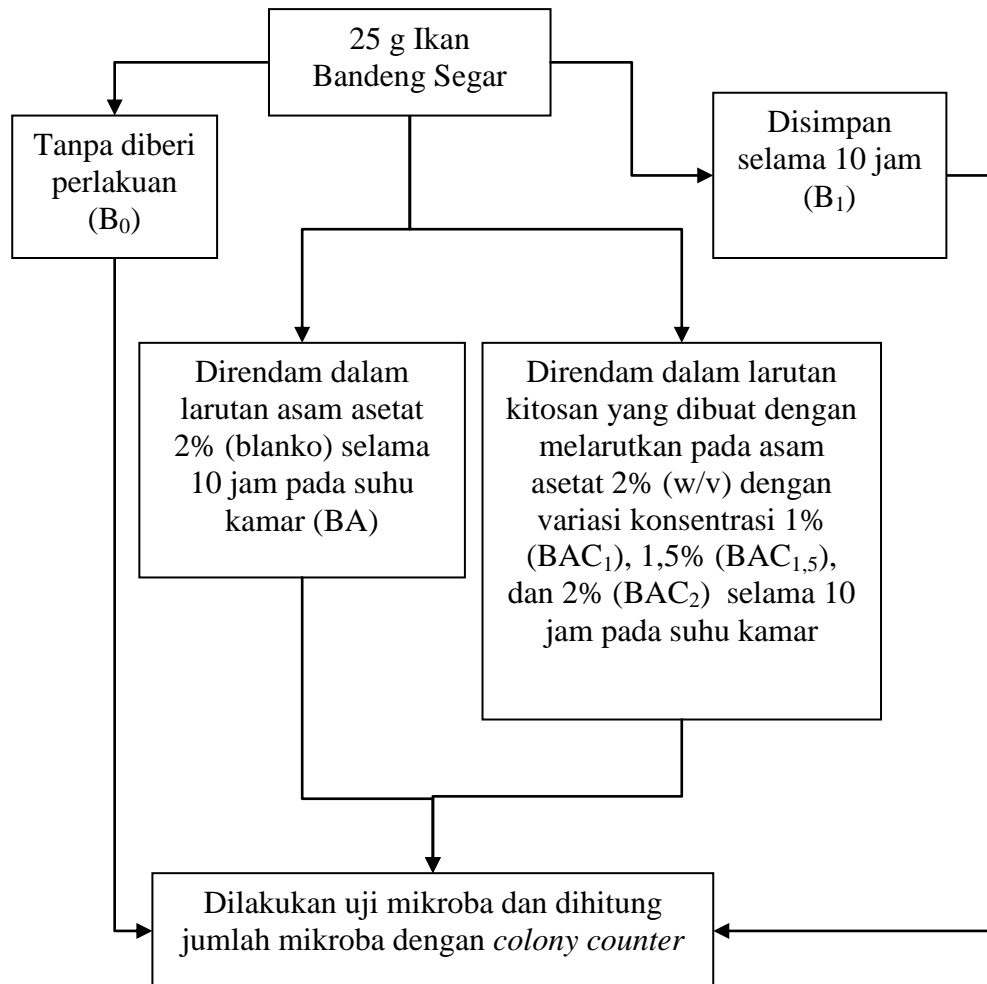
2. Ekstraksi Kitin dari Limbah Kulit Udang Vannamei



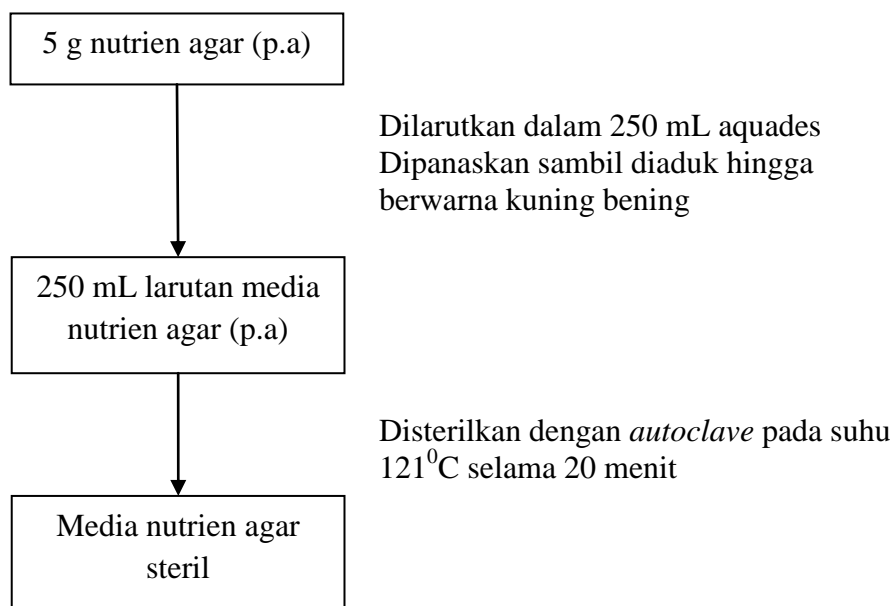
3. Pembuatan Kitosan dari Limbah Kulit udang Vannamei



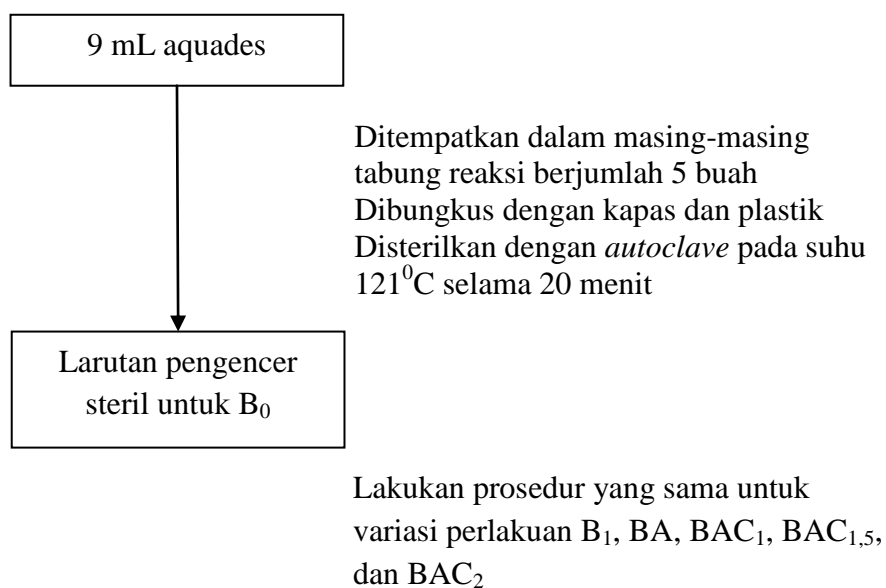
4. Uji Larutan Kitosan dari Limbah Udang Vannamei sebagai Antimikroba



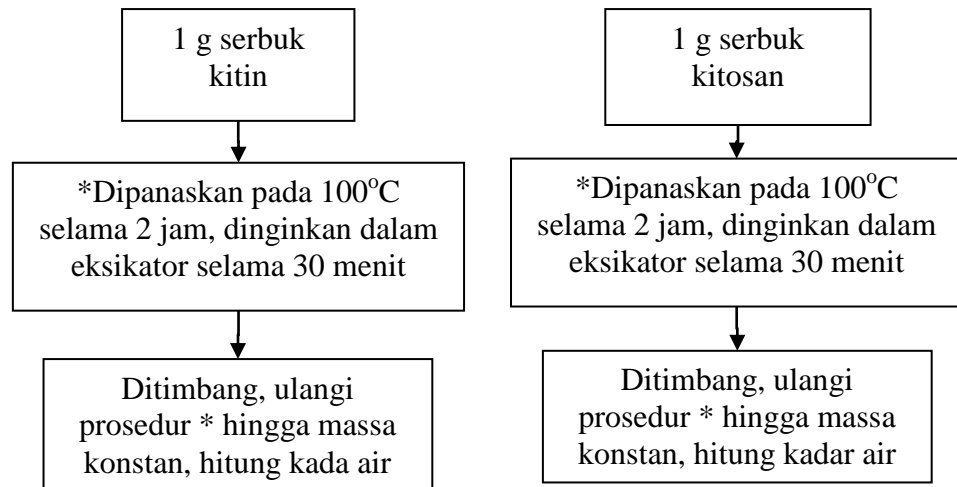
5. Pembuatan Media Nutrien Agar



6. Persiapan larutan pengencer



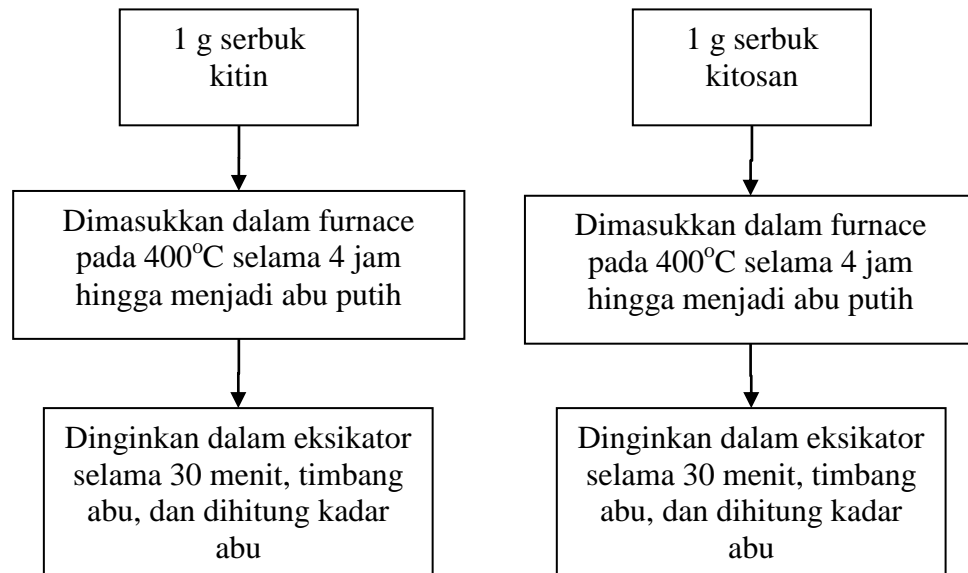
7. Penentuan Kadar Air Kitin-Kitosan Dari Kulit Udang Vannamei



$$\% \text{ kadar air} = \frac{a - b}{c} \times 100\%$$

Massa kitin (c)	: 1,01 g	Massa kitosan (c)	: 1,03 g
Massa krush isi kitin (a)	: 15,07 g	Massa krush isi kitin (a)	: 23,39 g
Massa krush pengovenan 1	: 15,04 g	Massa krush pengovenan 1	: 23,29 g
Massa krush pengovenan 2	: 15,03 g	Massa krush pengovenan 2	: 23,29 g
Massa krush pengovenan 3	: 15,01 g	Massa krush pengovenan 3	: 23,29 g
Massa krush pengovenan 4	: 15,00 g	Massa krush pengovenan 4	: 23,29 g
Massa krush pengovenan 5	: 14,99 g	Massa krush pengovenan 5	: 23,29 g
Massa krush pengovenan 6	: 14,99 g	Massa krush pengovenan 6(b)	: 23,29 g
Massa krush pengovenan 7(b)	: 14,99g		
		$\text{kadar air kitosan} = \frac{23,39 - 23,29}{1,03} \times 100\% = 9,17\%$	
	$\text{kadar air kitin} = \frac{15,08 - 14,99}{1,01} \times 100\% = 7,71\%$		

8. Penentuan Kadar Abu Kitin-Kitosan Dari Kulit Udang Vannamei



$$\% \text{ kadar abu} = \frac{(a - b)}{c} \times 100\%$$

Kitin

Massa krush isi kitin (a) : 15,03 g

Massa krush setelah *furnace* (b) : 15,02 g

Massa sampel awal (c) : 0,98 g

$$\text{kadar abu kitin} = \frac{15,03 - 15,02}{0,97} \times 100\% = 0,54\%$$

Kitosan

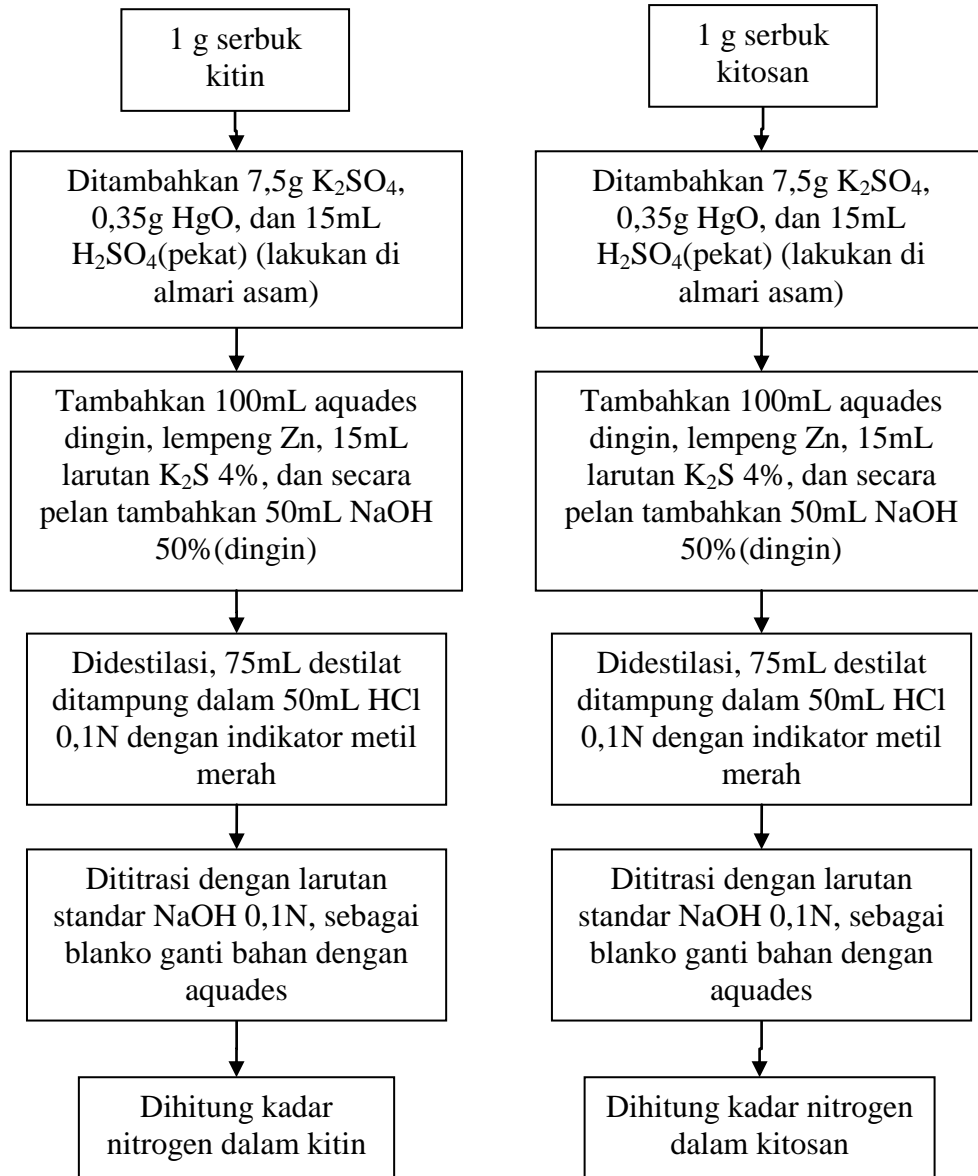
Massa krush isi kitosan (a) : 23,30 g

Massa krush setelah *furnace* (b) : 23,29 g

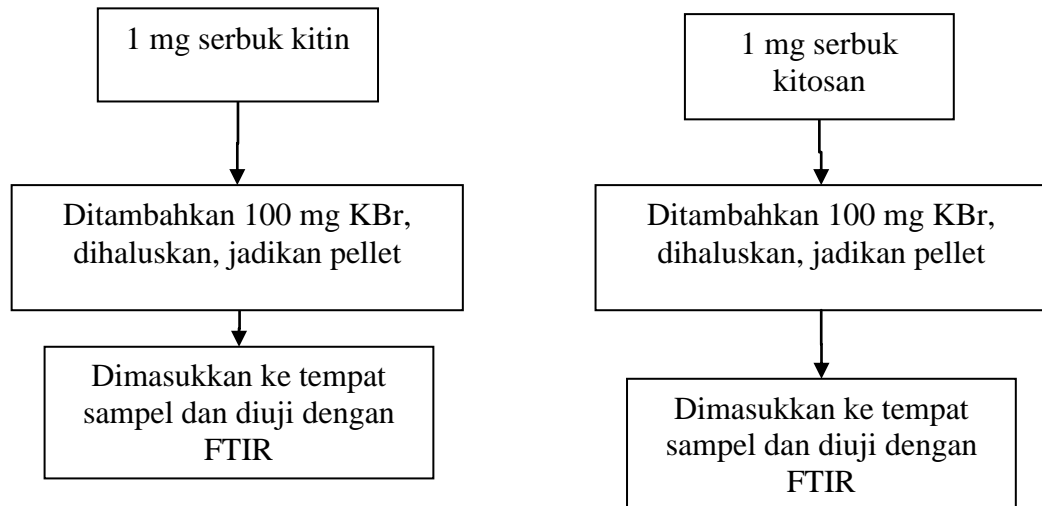
Massa sampel awal (c) : 0,93 g

$$\text{kadar air kitosan} = \frac{23,39 - 23,29}{0,93} \times 100\% = 0,64\%$$

9. Penentuan Kadar Nitrogen Kitin-Kitosan Dari Kulit Udang Vannamei



10. Prosedur Penentuan Derajat Deasetilasi Kitin- Kitosan dari Kulit Udang Vannamei



11. Hasil Spektroskopi Inframerah Kitin dan Kitosan dari Kulit Udang Vannamei

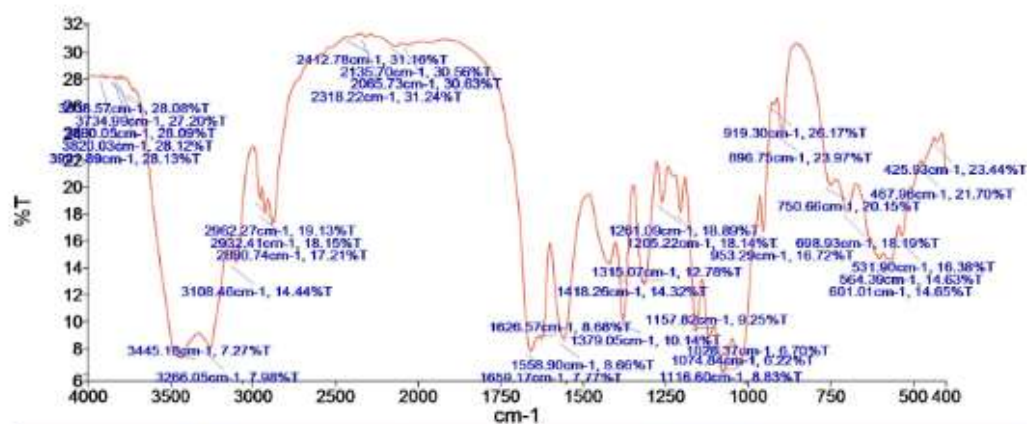
Sample Details

Sample Name: Fransiska_1
 Sample Description: kitin
 Analyst: labkim
 Creation Date: 6/25/2015 11:13:05 AM
 X-Axis Units: cm-1
 Y-Axis Units: %T

Instrument Details

Instrument Model: Frontier FT-IR
 Instrument Serial Number: 96772
 Software Revision: CPU32 Main 00.09.9951 07-September-2011 11:49:41
 Number of Scans: 3
 Resolution: 2

Spectrum



Name	Description
Fransiska_1	kitin

Peak Area/Height Results

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
1	3901.89	28.13	-2.29	-0.24	3911.65	3890.28	3911.65	3890.28
2	3838.57	28.08	-3.32	-0.2	3890.28	3828.81	3890.28	3828.81
3	3820.03	28.12	-1.65	-0.18	3828.81	3810.38	3828.81	3810.38
4	3800.05	28.09	-2.07	-0.21	3810.38	3790.63	3810.38	3790.63
5	3734.99	27.2	-1.74	-0.24	3790.63	3727.61	3790.63	3727.61
6	3445.18	7.27	-1554.74	-7.02	3727.61	3333.43	3727.61	3333.43
7	3266.05	7.98	-356.12	-3.84	3333.43	3146.15	3333.43	3146.15

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
8	3108.46	14.44	-198.31	-3.91	3146.15	3006.25	3146.15	3006.25
9	2962.27	19.13	-25.61	-1.57	3006.25	2950.11	3006.25	2950.11
10	2932.41	18.15	-24.34	-1.43	2950.11	2915.85	2950.11	2915.85
11	2890.74	17.21	1048.71	-2.56	2915.85	2434.25	2915.85	2434.25
12	2412.78	31.16	-6.47	-0.17	2434.25	2346.19	2434.25	2346.19
13	2318.22	31.24	-6.89	-0.24	2346.19	2293.99	2346.19	2293.99
14	2135.7	30.56	-28.69	-0.33	2293.99	2100.31	2293.99	2100.31
15	2065.73	30.63	-16.63	-0.2	2100.31	1920.61	2100.31	1920.61
16	1659.17	7.77	1313.96	-2.8	1920.61	1637.07	1920.61	1637.07
17	1626.57	8.68	-45.16	-2.2	1637.07	1600.91	1637.07	1600.91
18	1558.9	8.66	-428.1	-8.5	1600.91	1483.64	1600.91	1483.64
19	1418.26	14.32	-119.52	-2.26	1483.64	1402.89	1483.64	1402.89
20	1379.05	10.14	-191.59	-7.62	1402.89	1348.02	1402.89	1348.02
21	1315.07	12.78	-322.85	-8.22	1348.02	1276.98	1348.02	1276.98
22	1261.09	18.89	-48.31	-2.87	1276.98	1242.43	1276.98	1242.43
23	1205.22	18.14	-48.27	-2.85	1242.43	1190.73	1242.43	1190.73
24	1157.82	9.25	-161.66	-6.58	1190.73	1139.8	1190.73	1139.8
25	1116.6	8.83	-42.99	-2.16	1139.8	1102.78	1139.8	1102.78
26	1074.84	6.22	-85.52	-2.99	1102.78	1047.99	1102.78	1047.99
27	1028.37	6.7	-225.83	-4.51	1047.99	963.6	1047.99	963.6
28	953.29	16.72	-68.63	-4.56	963.6	925.22	963.6	925.22
29	919.3	26.17	-2.36	-0.33	925.22	911.44	925.22	911.44
30	896.75	23.97	-60.48	-3.74	911.44	853.87	911.44	853.87
31	750.66	20.15	42.97	-2.01	853.87	732.23	853.87	732.23
32	698.93	18.19	-63.33	-2.25	732.23	671.92	732.23	671.92
33	601.01	14.65	-61.66	-1.2	671.92	588.76	671.92	588.76
34	564.39	14.63	-40.04	-1.54	588.76	542.02	588.76	542.02
35	531.9	16.38	-22.7	-1.52	542.02	475.99	542.02	475.99

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
36	467.96	21.7	-14.09	-0.64	475.99	434.27	475.99	434.27
37	425.93	23.44	-5.34	-0.4	434.27	411.26	434.27	411.26

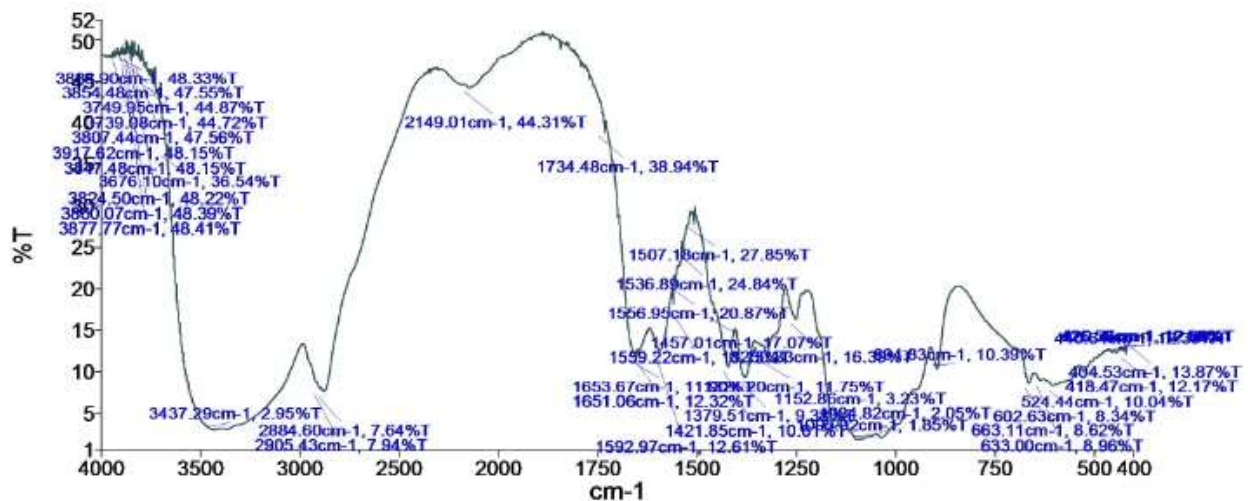
Sample Details

Sample Name Siska-1
 Sample Description Sample Kitosan-27/7/15 By labkim Date Monday, July 27 2015
 Analyst labkim
 Creation Date 7/27/2015 3:22:25 PM
 X-Axis Units cm-1
 Y-Axis Units %T

Instrument Details

Instrument Model Frontier FT-IR
 Instrument Serial Number 96772
 Software Revision CPU32 Main 00.09.9951 07-September-2011 11:49:41
 Number of Scans 3
 Resolution 2

Spectrum



Name	Description
Siska-1	Sample Kitosan-27/7/15 By labkim Date Monday, July 27 2015

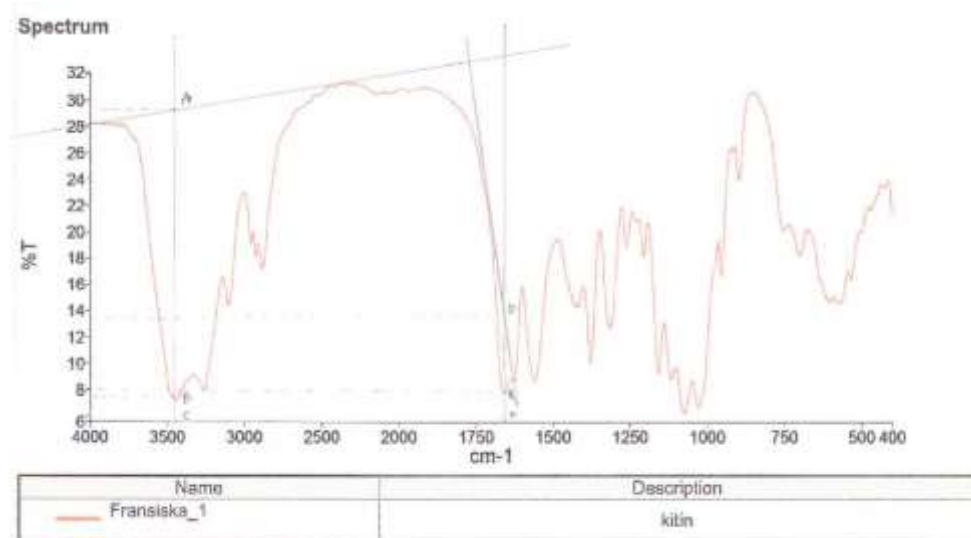
Peak Area/Height Results

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
1	3917.62	48.15	-17.77	-1.1	3926.48	3900.62	3926.48	3900.62
2	3888.9	48.33	-18.18	-1.5	3900.62	3881.92	3900.62	3881.92
3	3877.77	48.41	-5.22	-1.54	3881.92	3873.99	3881.92	3873.99
4	3860.07	48.39	-15.69	-1.47	3873.99	3855.66	3873.99	3855.66
5	3854.48	47.55	-3.02	-2.39	3855.66	3852.86	3855.66	3852.86
6	3847.48	48.15	-14.34	-1.83	3852.86	3839.54	3852.86	3839.54
7	3824.5	48.22	-19.49	-1.44	3839.54	3820.83	3839.54	3820.83

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
8	3807.44	47.56	-18.09	-1.49	3820.83	3803.01	3820.83	3803.01
9	3749.95	44.87	-61.1	-1.96	3803.01	3745.94	3803.01	3745.94
10	3739.08	44.72	-14.58	-2.05	3745.94	3735.17	3745.94	3735.17
11	3676.1	36.54	-43.97	-0.99	3735.17	3675.27	3735.17	3675.27
12	3437.29	2.95	-12012.65	-26.12	3675.27	2989.75	3675.27	2989.75
13	2905.43	7.94	-31.93	-0.58	2989.75	2899.05	2989.75	2899.05
14	2884.6	7.64	2070.96	-1.47	2899.05	2314.52	2899.05	2314.52
15	2149.01	44.31	-981.57	-4.2	2314.52	1889.67	2314.52	1889.67
16	1734.48	38.94	299.23	-1.66	1889.67	1730.53	1889.67	1730.53
17	1653.67	11.9	-111.62	-1.08	1730.53	1652.89	1730.53	1652.89
18	1651.06	12.32	-6.67	-0.51	1652.89	1618.09	1652.89	1618.09
19	1592.97	12.61	-164.07	-4.95	1618.09	1560.59	1618.09	1560.59
20	1559.22	18.15	-3.23	-2.95	1560.59	1558	1560.59	1558
21	1556.95	20.87	-22.56	-1.01	1558	1538.96	1558	1538.96
22	1536.89	24.84	-13.82	-1.28	1538.96	1517.67	1538.96	1517.67
23	1507.18	27.85	-6.15	-2.01	1517.67	1505.98	1517.67	1505.98
24	1457.01	17.07	-14.39	-1.02	1505.98	1454.7	1505.98	1454.7
25	1421.85	10.61	-132.08	-5.42	1454.7	1404.76	1454.7	1404.76
26	1379.51	9.38	-136.69	-5.12	1404.76	1356.35	1404.76	1356.35
27	1324.2	11.75	-196.39	-4.68	1356.35	1277.56	1356.35	1277.56
28	1250.83	16.39	-87.98	-3.65	1277.56	1223.6	1277.56	1223.6
29	1152.86	3.23	-130.22	-4.51	1223.6	1137.7	1223.6	1137.7
30	1095.02	1.85	-112.24	-2.04	1137.7	1048.07	1137.7	1048.07
31	1034.82	2.05	-264.07	-1.48	1048.07	911.54	1048.07	911.54
32	894.83	10.39	-52.82	-4.36	911.54	841.53	911.54	841.53
33	663.11	8.62	-27.26	-2.02	841.53	649.55	841.53	649.55
34	633	8.96	-4.8	-0.43	649.55	625.81	649.55	625.81
35	602.63	8.34	-84	-1.24	625.81	535.52	625.81	535.52

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
36	524.44	10.04	-24.48	-1.06	535.52	461.56	535.52	461.56
37	440.64	12.3	-10.73	-0.66	461.56	429.61	461.56	429.61
38	426.58	12.59	-1.69	-0.46	429.61	423.15	429.61	423.15
39	420.76	12.6	-0.97	-0.53	423.15	419.57	423.15	419.57
40	418.47	12.17	-3.37	-1.1	419.57	406.06	419.57	406.06
41	404.53	13.87	-1.68	-0.46	406.06	400	406.06	400

12. Penentuan Derajat Deasetilasi Kitin Metode Base Line



Kitin

$$A_{1659} = \log \left(\frac{D^F}{E^F} \right) = \log \left(\frac{13,5}{8} \right) = 0,2272$$

$$A_{3445} = \log \left(\frac{A^C}{B^C} \right) = \log \left(\frac{29,2}{7,4} \right) = 0,5962$$

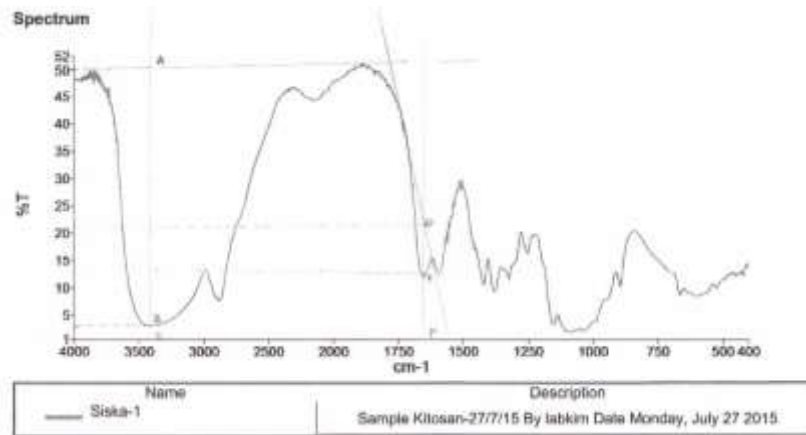
$$\text{Derajat deasetilasi kitin} = 100 - \left(\frac{A_{1659} \times 100}{A_{3445} \times 1,33} \right) \%$$

$$\text{Derajat deasetilasi kitin} = 100 - \left(\frac{0,2272 \times 100}{0,5962 \times 1,33} \right) \%$$

$$\text{Derajat deasetilasi kitin} = 100 - (28,65) \%$$

$$\text{Derajat deasetilasi kitin} = 71,35 \%$$

13. Penentuan Derajat Deasetilasi Kitosan Metode Base Line



Kitosan

$$A_{1654} = \log \left(\frac{D^F}{E^F} \right) = \log \left(\frac{21}{13,5} \right) = 0,1919$$

$$A_{3437} = \log \left(\frac{A^C}{B^C} \right) = \log \left(\frac{50}{3} \right) = 1,2218$$

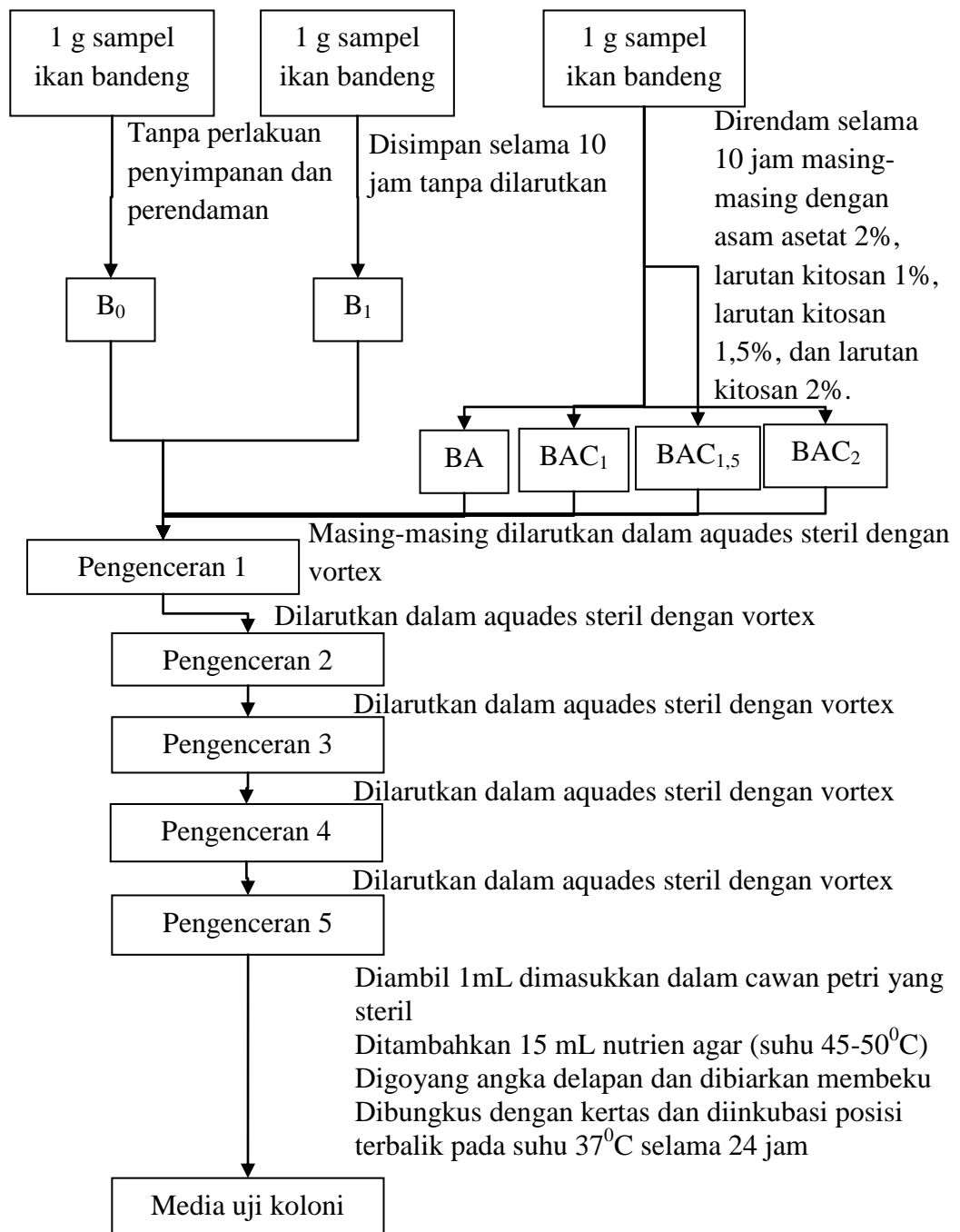
$$\text{Derajat deasetilasi kitosan} = 100 - \left(\frac{A_{1654} \times 100}{A_{3437} \times 1,33} \right) \%$$

$$\text{Derajat deasetilasi kitosan} = 100 - \left(\frac{0,1919 \times 100}{1,2218 \times 1,33} \right) \%$$

$$\text{Derajat deasetilasi kitosan} = 100 - (11,81)\%$$

$$\text{Derajat deasetilasi kitosan} = 88,19\%$$

14. Pengujian Jumlah Mikroba



Dihitung jumlah koloni dengan *colony counter*

15. Hasil Perhitungan Koloni pada Ikan Bandeng

No	Massa ikan (g)	Perlakuan	Jumlah Total Mikroba (koloni/mL)
1	25	B ₀	3.10 ⁵
2	25	B ₁	95.10 ⁵
3	25	BAC	77.10 ⁵
4	25	BAC ₁	56.10 ⁵
5	25	BAC _{1,5}	24.10 ⁵
6	25	BAC ₂	7.10 ⁵

Keterangan:

B₀ : ikan bandeng segar tanpa perlakuan

B₁ : ikan bandeng disimpan selama 10 jam

BA : perendaman ikan bandeng dalam larutan asam asetat 2% selama 10 jam

BAC₁ : perendaman ikan bandeng dalam larutan kitosan 1% selama 10 jam

BAC_{1,5} : perendaman ikan bandeng dalam larutan kitosan 1,5% selama 10 jam

BAC₂ : perendaman ikan bandeng dalam larutan kitosan 2% selama 10 jam

16. Hasil Karakterisasi Kitin dan Kitosan

Nama : Fransiska Hesti P

Nim : 4311411014

Jurusan/ Fakultas : Kimia/ FMIPA

Universitas : Universitas Negeri Semarang

Jenis sampel : Kitin dan Kitosan

Jenis Uji : kadar air, kadar abu, dan derajat deasetilasi

No	Sifat fisik	Kitin (%)	Kitosan (%)
1	Kadar air	7,71	9,17
2	Kadar abu	0,54	0,64
3	Derajat deasetilasi	71,35	88,19

17. Pembuatan Larutan

- Pembuatan 1,5L larutan asam klorida (HCl) 1,5 M (V/V)

Menghitung kebutuhan HCl (p.a) dengan massa jenis $1,19 \frac{\text{g}}{\text{cc}}$, kadar 37%, berat molekul 36,5

$$M = \frac{\rho \times V}{Mr} \times \text{kadar} \times \frac{1000}{1500}$$

$$1,5 = \frac{1,19 \times V}{36,5} \times 0,37 \times \frac{1000}{1500}$$

$$V = 186,52 \text{ mL}$$

Sebanyak 186,52 mL HCl (p.a) dilarutkan dalam aquades sampai volume 1500 mL.

- Pembuatan 650 mL larutan natrium hidroksida (NaOH) 3,5% (W/V)

Rasio kitin dengan NaOH 3,5% = 1:10

Kitin= 63 g, maka dibutuhkan 630 mL (≈ 650 mL) larutan NaOH 3,5%

Menghitung kebutuhan NaOH (p.a) dengan kadar 99%

$$\text{kebutuhan NaOH} = \frac{3,5}{100} \times 650 \times \frac{100}{99}$$

$$\text{kebutuhan NaOH} = 22,97 \text{ g}$$

Pembuatan larutan dilakukan dua kali, dengan menggunakan labu takar ukuran 500mL dan 150 mL masing-masing 17,68 g dan 5,29 g. Dilarutkan dengan aquades hingga tanda batas.

- Pembuatan 1000 mL larutan natrium hidroksida (NaOH) 60% (W/V)

Rasio kitin dengan NaOH 60% = 1:20

Kitin= 48,24 g, maka dibutuhkan 960 mL (≈ 1000 mL) larutan NaOH 60%

Menghitung kebutuhan NaOH (p.a) dengan kadar 99%

$$\text{kebutuhan NaOH} = \frac{60}{100} \times 1000 \times \frac{100}{99}$$

$$\text{kebutuhan NaOH} = 606,06 \text{ g}$$

Sebanyak 606,06 g NaOH (p.a) dilarutkan dalam aquades sampai volume 1000 mL.

- Pembuatan 1 L larutan asam asetat (CH_3COOH) 2% (v/v)

Yang tersedia di laboratorium adalah asam asetat (p.a) dengan konsentrasi 100%, maka digunakan rumus pengenceran.

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 100\% = 1000 \times 2\%$$

$$V_1 = 20 \text{ mL}$$

Melarutkan 20 mL asam asetat (p.a) dalam labu takar 1 L dengan aquades sampai tanda batas.

18. Dokumentasi uji mikroba pada ikan bandeng



Ikan bandeng segar

Ikan bandeng dalam perendaman



Larutan pengencer ikan bandeng



Penanaman pada media NA



Media NA hasil inkubasi



B₀



B₁



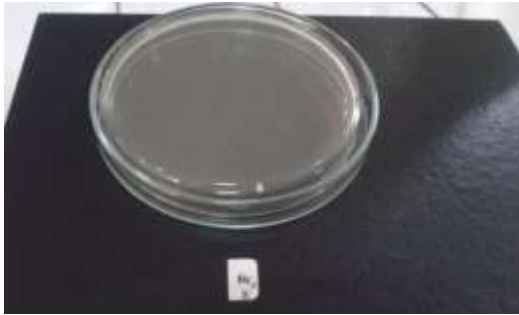
BA



BAC₁



BAC_{1,5}



BAC₂