



**PLASTIK BIOSENSOR BERBASIS KITOSAN-  
ANTOSIANIN KULIT BUAH MANGGIS SEBAGAI  
PENDETEKSI KERUSAKAN FILLET IKAN NILA**

Skripsi

Disusun sebagai salah satu syarat  
Untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
Program Studi Kimia

Oleh

Ina Nurhasanah  
4311412069



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG**

**2016**

## PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa yang tertulis dalam Skripsi ini bebas plagiat, dan apabila dikemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang undangan.

Semarang, 12 Agustus 2016



Ina Nurhasanah  
4311412069

**UNNES**  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

## PERSETUJUAN PEMBIMBING

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

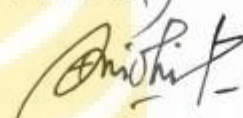
Semarang, 12 Agustus 2016

Pembimbing I



Dr. Nanik Wijayati, M.Si  
NIP. 196910231996032001

Pembimbing II



Dr. F. Wjdh Mahatmanti, M.Si  
NIP. 196912171997022001



**UNNES**  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

## PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Plastik Biosensor Berbasis Kitosan Antosianin Kulit Buah Manggis Sebagai  
Pendeteksi Kerusakan Fillet Ikan Nila

Disusun oleh

Nama : Ina Nurhasanah

NIM : 4311412069

Telah dipertahankan dihadapan sidang panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika  
Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 5 Oktober



Prof. Dr. Zaenuri, S.E, M.Si, Akt.  
NIP. 196412231988031001

Ketua Penguji

Endah Fitriani Rahayu, S.Si, M.Sc.  
NIP. 198705202014042002

Anggota Penguji/

Pembimbing Utama

Dr. Nanik Wijayati, M.Si  
NIP. 196910231996032001

Sekretaris

Dr. Nanik Wijayati, M.Si.  
NIP. 196910231996032001

Anggota Penguji/

Pembimbing pendamping

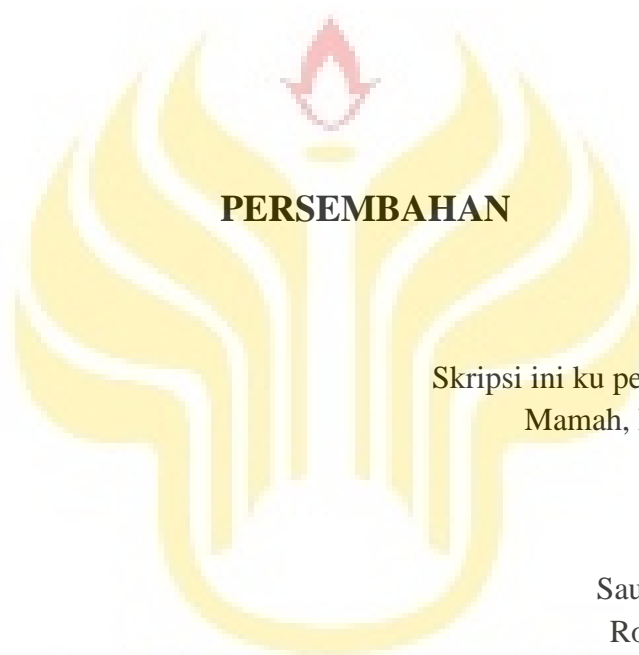
Dr. F. Widhi Mahatmanti, M.Si  
NIP. 196912171997022001

## **MOTTO DAN PERSEMBAHAN**

### **MOTTO**

Sebaik baiknya manusia yaitu yang bermanfaat bagi orang lain

Berprestasi dengan cara dan gaya sendiri



### **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini ku persembahkan untuk :  
Mamah, Papa, Adik Tercinta  
Semua keluarga  
Murobbi  
Sodari Syifa  
Saudara angkatan 2012  
Rombel 2 Kimia 2012

**UNNES**  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul Plastik Indikator Berbasis Kitosan-Antosianin sebagai Pendeteksi Kerusakan Fillet Ikan Nila.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan Skripsi.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada :

1. Rektor Universitas Negeri Semarang.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.
3. Ketua Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang
4. koordinator Prodi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang
5. Dr. Nanik Wijayati, M.Si. selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan petunjuk, arahan, dan bimbingan dalam penulisan Skripsi ini.
6. Dr. F. Widhi Mahatmanti, M.Si. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan petunjuk, arahan dan bimbingan dalam penulisan Skripsi ini.
7. Endah Fitriani Rahayu S.Si., M.Sc. selaku dosen penguji utama yang telah memberikan masukan, pengarahan, dan bimbingan dalam penyusunan Skripsi ini.

Pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah membantu menyelesaikan penyusunan Skripsi ini.

Demikian, semoga Skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan sumbangan pengetahuan bagi perkembangan pengetahuan dalam penelitian selanjutnya.

Semarang, 12 Agustus 2016

Penulis

## ABSTRAK

Nurhasanah I. 2016. Plastik Biosensor Berbasis Kitosan – Antosianin Kulit Buah Manggis Sebagai Pendeteksi Kerusakan Fillet Ikan Nila. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Dr. Nanik Wijayati, M.Si dan Pembimbing pendamping Dr. F. Widhi Mahatmanti, M.Si

**Kata Kunci :** Antosianin, Kitosan, Plastik biosensor

Pembuatan plastik biosensor berbahan dasar kitosan-antosianin kulit buah manggis telah dilakukan pada penelitian ini. Plastik ini dapat mendeteksi adanya gas basa volatil pada fillet ikan yang rusak. Tujuan penelitian ini mengetahui konsentrasi ekstrak yang tepat dalam plastik biosensor, mengetahui nilai TPC (Total Plate Count) pada sampel ikan, dan gugus fungsi pada plastik biosensor. Preparasi yang dilakukan yakni membuat ekstrak antosianin kulit manggis. Selanjutnya pembuatan plastik berbahan dasar kitosan yang direndam dengan ekstrak kulit buah manggis, hasil plastik biosensor kemudian diuji pada fillet ikan nila. Ekstrak kulit buah manggis memiliki nilai  $R_f$  0,36 yang menunjukkan positif memiliki antosianin, dan kadar antosianin yang efektif dalam plastik ini yaitu 30%, sehingga memberikan perubahan warna pada plastik biosensor. Nilai TPC atau jumlah bakteri tertinggi pada plastik-antosianin 100% dengan masa penyimpanan ikan 48 jam yakni  $3,4 \times 10^{11}$  cfu/mL, dan nilai TPC terkecil pada plastik antosianin 30% masa penyimpanan 0 jam yakni  $1,9 \times 10^{-3}$  cfu/mL. Gugus fungsional yang teridentifikasi pada bilangan gelombang  $3360 \text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan gugus  $-\text{OH}$  dan vibrasi ulur  $-\text{NH}$ , serta terdapat juga beberapa cincin aromatik dari senyawa antosianin ditandai oleh gugus  $\text{C}=\text{C}$  pada bilangan gelombang  $1612 \text{ cm}^{-1}$ .

UNNES  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

## ABSTRACT

*Nurhasanah I. 2016. Chitosan -Based Biosensor Plastic Anthocyanins Mangosteen Rind as Detection of Damage To The Fillet Of Tilapia. Skripsi. Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Semarang. Top Supervisor Dr. Nanik Wijayati, M.Si And Supervisor companion Dr. F. Widhi Mahatmanti, M.Si*

**Keywords:** *Anthocyanin, Chitosan, Plastic biosensor*

*Biosensor plastic based chitosan-anthocyanin mangosteen rind has been done in this study. This plastics can detect volatile alkaline gas in the damaged fish fillet. The purpose of this study is to know the exact concentration of the extract of mangosteen rind plastic biosensors, to know the value of TPC (Total Plate Count) in fish samples, and to know the functional groups on the plastic biosensor. The preparation of the plastics has been began with extraction of mangosteen pell, and then the manufacture of plastics made from chitosan and soaked with mangosteen rind extract. The Result obtained a colored plastic which was tested on a fillet of tilapia. Extract of mangosteen rind has a  $R_f$  value of 0.36 which showed positive for anthocyanins and anthocyanin levels are effective in this plastic that is 30%, thus giving a color change on plastic biosensor. TPC value or the highest amount of bacteria on the plastic -anthocyanin 100% with fish storage period of 48 hours which is  $3.4 \times 10^{11}$  cfu/mL, and the value of the smallest TPC at 30% of anthocyanins plastic storage period of 0 hours  $1.9 \times 10^3$  cfu/mL. The functional group identified at wave number  $3360 \text{ cm}^{-1}$  indicating the -OH group and the -NH stretching vibration, and there are also some of the aromatic ring of anthocyanin compounds characterized by group  $C = C$  at wave number  $1612 \text{ cm}^{-1}$ .*

**UNNES**  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG



## DAFTAR ISI

	halaman
PERNYATAAN.....	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	iii
PENGESAHAN.....	iv
PERSEMBAHAN.....	v
MOTTO.....	v
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penulisan.....	5
1.4 Manfaat Penulisan.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Smart Packaging.....	6
2.2 Kitosan.....	7
2.2.1 sumber dan mutu kitosan.....	8
2.3 Antosianin kulit Buah Manggis.....	11
2.4 Maserasi.....	13
2.5 Analisis Metode Instrumental.....	14
2.5.1 Kromatografi lapis tipis.....	14
2.5.2 Uji Gugus fungsi dengan FTIR.....	16
2.6 Metode Hitung Cawan.....	17
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Lokasi Penelitian.....	19
3.2 Variabel Penelitian.....	19
3.3 Alat dan Bahan.....	20
3.3.1 Alat.....	20
3.3.2 Bahan.....	20
3.4 Prosedur Kerja.....	21
3.4.1 Pembuatan ekstrak antosianin.....	21
3.4.2 Uji antosianin kulit manggis metode KLT.....	22
3.4.2.1 Uji Warna.....	22

3.4.2.2 Uji kromatografi lapis tipis.....	22
3.4.3 Pembuatan Plastik Biosensor berbasis kitosan antosianin.....	22
3.4.4 Karakterisasi Gugs Fungsi Kitosan antosianin.....	22
3.4.5 Perlakuan dan uji plastik biosensor.....	22
3.4.6 analisis pH sampel fillet ikan nila.....	23
3.4.7 analisis TPC.....	23
<b>BAB 4 PEMBAHASAN.....</b>	<b>24</b>
4.1 Maserasi.....	24
4.2 Identifikasi Antosianin Kulit Buah Manggis.....	25
4.2.1 Identifikasi Warna.....	27
4.2.2 Hasil Kromatografi Lapis Tipis.....	27
4.3 Pembuatan Film Antosianin.....	28
4.4 Karakterisasi Plastik Kitosan menggunakan spektra FTIR.....	31
4.5 Penggunaan Plastik Indikator sebagai pendeteksi kerusakan Fillet Ikan Nila.....	33
4.6 Analisis <i>Total Plate Count</i> .....	40
4.7 Nilai Derajat Keasaman (pH).....	42
<b>BAB 5 KESIMPULAN.....</b>	<b>47</b>
5.1 Simpulan.....	47
5.2 Saran.....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>53</b>

## DAFTAR TABEL

	halaman
Tabel 2.1 Spesifikasi mutu kitosan.....	9
Tabel 4.1 Hasil ekstraksi kulit buah manggis.....	26
Tabel 4.2 Hasil identifikasi antosianin ekstrak kulit buah manggis.....	26
Tabel 4.3 Nilai $R_f$ pada KLT ekstrak Kulit buah manggis.....	28
Tabel 4.4 Interpretasi spektrum IR dari kitosan dan campuran kitosan- Antosianin.....	32
Tabel 4.5 Hasil warna pada perlakuan jam ke 0.....	34
Tabel 4.6 Hasil warna plastik biosensor pada perlakuan jam ke 24.....	36
Tabel 4.7 Hasil warna plastik biosensor pada perlakuan jam ke 48.....	37
Tabel 4.8 Rata-Rata pH fillet ikan nila.....	43



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur kitin dan kitosan.....	7
Gambar 2.2 Rumus struktur antosianin.....	12
Gambar 4.1 Hasil identifikasi warna pada ekstrak antosianin kulit buah Manggis.....	26
Gambar 4.2 Bercak noda pada KLT.....	27
Gambar 4.3 Plastik kitosan antosianin.....	30
Gambar 4.4 Spektra FTIR.....	32
Gambar 4.5 Perlakuan fillet ikan jam ke 0.....	34
Gambar 4.6 Perlakuan fillet ikan jam ke 24.....	36
Gambar 4.7 Perlakuan fillet ikan jam ke 48.....	37
Gambar 4.8 Perkiraan perubahan struktur antosianin.....	38
Gambar 4.9 Grafik perbandingan nilai TPC dan waktu.....	41
Gambar 4.10 Grafik pH fillet ikan nila terhadap waktu.....	44
Gambar 4.11 Grafik korelasi pH fillet ikan nila terhadap nilai TPC.....	45

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Ekstraksi maserasi antosianin kulit manggis.....	53
Lampiran 2 Identifikasi antosianin dengan metode KLT.....	54
Lampiran 3 Pembuatan plastik biosensor dari kitosan dan uji gugus fungsi	55
Lampiran 4 Pembuatan plastik biosensor kitosan antosianin kulit manggis	56
Lampiran 5 Perlakuan uji plastik biosensor terhadap sampel fillet ikan nila	57
Lampiran 6 Analisis pH fillet ikan nila.....	58
Lampiran 7 Analisis TPC .....	59
Lampiran 8 Perhitungan KLT.....	59
Lampiran 10 Dokumentasi.....	61
Lampiran 8 Hasil karakterisasi plastik kitosan antosianin dengan FTIR..	63



# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Produk perikanan telah lama dikonsumsi masyarakat karena mengandung berbagai manfaat kesehatan. Manfaat kesehatan dari daging ikan diperoleh dari kandungan gizinya yang tinggi meliputi protein dengan kisaran jumlah 17,7% dari berat tubuh total dan asam lemak tak jenuh dengan kisaran kandungan lemak 1,3% dari berat tubuh total (Wijaya, 2011). Secara umum, setiap konsumen memilih produk perikanan yang masih terjaga kesegarannya. Hal ini dikarenakan kesegaran ikan berkaitan erat dengan mutu ikan.

Ikan merupakan komoditi basah yang sangat rentan terhadap kerusakan. Hal ini akan berpengaruh pada nilai gizi dan nilai ekonomis ikan. Pacquit (2008) menyebutkan penyebab utama rendahnya nilai ekonomis produk perikanan adalah produk perikanan sangat rentan terhadap kerusakan (*spoilage*) dan umur simpannya pendek. Produk perikanan yang sudah rusak tidak boleh dikonsumsi, hal ini dikarenakan produk perikanan yang sudah rusak mengandung mikroorganisme berbahaya bagi kesehatan. Apabila ikan tersebut dikonsumsi akan menyebabkan keracunan bagi pengkonsumsinya.

Komponen volatil, yaitu amonia, dimetilamin, trimetilamin, trimetilamin oksida merupakan hasil degradasi mikroorganisme dan telah digunakan sebagai indikator dalam menentukan tingkat kemunduran mutu ikan (Kim *et al.*, 2009).

Kajian mikrobiologi pangan menyebutkan dua aspek penting yang menjadi perhatian produk yang beredar di masyarakat, yakni keamanan produk dan kesegaran produk. Aspek keamanan produk pangan berkaitan dengan keberadaan bakteri patogen berbahaya seperti *C.botulinum* dan *Vibrio* sp. Bakteri patogen ini menghasilkan biotoksin yang berbahaya bahkan menyebabkan penyakit pada manusia.

Penilaian kesegaran ikan secara luas oleh konsumen sampai saat ini masih menggunakan cara-cara sensori seperti penampakan yang diamati pada mata, kulit, insang, tekstur, bau, dan warna. Sejalan dengan kemajuan teknik kemasan, berbagai penilaian tingkat kesegaran ikan saat ini telah mengarah pada produk kemasan yang terintegrasi antara nilai kemasan tersebut dengan tingkat kesegaran ikan itu sendiri.

Teknologi kemasan cerdas (*smart packaging*) merupakan upaya untuk memberikan informasi kepada konsumen mengenai kualitas dan keamanan pangan. Salah satu cara untuk memberikan informasi yang dapat bekerja dengan baik adalah melalui perubahan warna kemasan akibat respon yang terjadi pada produk itu sendiri. Kemasan ini merupakan kemasan plastik yang dapat berubah warna sebagai peringatan visual terhadap kemunduran dan penurunan kualitas produk.

Salah satu konsep kemasan pintar yang banyak dikembangkan adalah adanya indikator kesegaran di dalam kemasan. Beberapa jurnal yang telah menulis tentang sensor kesegaran, yakni pembuatan sensor dengan memanfaatkan pewarna indikator pH *bromocresol green* yang sensitif terhadap keberadaan volatil amin untuk mendeteksi kebusukan ikan (Pacquit *et al.*, 2007). Namun penggunaan indikator warna *bromocresol green* cukup berbahaya bagi kesehatan.

Penelitian terbaru adanya sensor dengan menggunakan bahan alam atau yang biasa disebut dengan biosensor. Purifikasi antosianin dan aplikasinya sebagai indikator perubahan pH dengan menggunakan pigmen antosianin stroberi dan klorofil daun suji dilakukan oleh Rahardjo pada tahun 2015.

Bahan makanan pada umumnya sangat sensitif dan mudah mengalami penurunan kualitas karena faktor lingkungan, kimia, biokimia, dan mikrobiologi. Penurunan kualitas tersebut dapat dipercepat dengan adanya oksigen, air, cahaya, dan temperatur. Salah satu cara untuk mencegah atau memperlambat fenomena tersebut adalah dengan pengemasan yang tepat (Wahyu, 2009).

Pengembangan plastik kitosan pada makanan dapat memberikan kualitas produk yang lebih baik. Plastik kitosan memberikan alternatif bahan pengemasan yang tidak berdampak pada pencemaran lingkungan karena plastik kitosan dapat diuraikan secara alami oleh mikroorganisme (*biodegradable*). Selain itu plastik kitosan juga menggunakan bahan yang dapat diperbaharui dan harganya murah (Boutoom, 2007).

Dalam bidang pangan, kitosan dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembungkus makanan yang dapat berbentuk lembaran plastik yang dapat dimakan (*edible film*) dan bersifat *biodegradable* (Purwanti, 2010). Seperti halnya dengan bahan pengemasan sintesis yang terbuat dari bahan lain, plastik biosensor tersebut diharapkan mempunyai sifat mekanis yang baik sehingga dapat berfungsi sebagai pelindung makanan terhadap pengaruh mekanik dari lingkungan.

Selama waktu penyimpanan maupun pemakaiannya, plastik biosensor kitosan dapat mengalami perubahan sifat, baik sifatnya sebagai penahan transfer



uap maupun sifat mekaniknya. Penurunan kualitas plastik kitosan ini terhadap waktu penyimpanan atau pemakaian plastik biosensor diharapkan tidak terlalu cepat terjadi sehingga memungkinkan penggunaan plastik kitosan untuk pembungkus bahan makanan. Sifat mekanik plastik kitosan ini dipengaruhi oleh lama penyimpanan plastik (Purwanti, 2010).

Antosianin memiliki sifat larut dalam air, dan tidak stabil terhadap perubahan pH. Warna merah, ungu dan biru pada larutan antosianin disebabkan pH larutan berturut-turut bersifat asam, netral dan basa. Antosianin merupakan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan berwarna, antosianin tidak stabil dalam pH, ketika pH mengalami peningkatan maka akan ada perubahan warna, antosianin dimiliki dalam kulit buah manggis, buah stroberi, anggur, ubi ungu, buah duwet. antosianin ini akan memberikan warna berturut-turut sesuai dengan kondisi pH yakni merah, ungu hingga biru.

Berdasarkan latar belakang pada penelitian ini mengkaji perubahan warna yang terjadi dari masing-masing antosianin dalam mendeteksi kerusakan ikan nila, kemudian menganalisis nilai TPC (*Total Plate Count*) dalam proses sensor dalam kerusakan fillet ikan nila.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

- a. Berapa konsentrasi ekstrak antosianin kulit manggis yang tepat dalam plastik biosensor ?
- b. Berapa nilai TPC (*Total Plate Count*) dalam penelitian ini?
- c. Bagaimana gugus fungsi kitosan dan kitosan-antosianin pada uji FTIR?

### 1.3 Tujuan Penulisan

Tujuan dari penelitian ini meliputi:

- a. Mengetahui konsentrasi ekstrak antosianin kulit manggis yang tepat dalam plastik biosensor
- b. Mengetahui nilai TPC dalam masa penyimpanan pada kerusakan fillet ikan nila.
- c. Mengetahui gugus fungsi kitosan dan kitosan-antosianin dari uji FTIR.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian yang dilakukan dapat memberikan inovasi terbaru dari plastik kitosan sebagai biosensor pH pada gas basa volatil yang dihasilkan akibat busukan ikan nila. Serta mengolah bahan alam yang kurang dimanfaatkan yaitu cangkang kepiting atau udang yang dapat disintesis menjadi kitosan, kemudian mengoptimalkan kandungan antosianin yang terdapat pada kulit manggis. Harapannya penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan yang nantinya bisa dikembangkan lagi sehingga suatu saat nanti bisa diaplikasikan manfaatnya kepada masyarakat.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Smart Packaging*

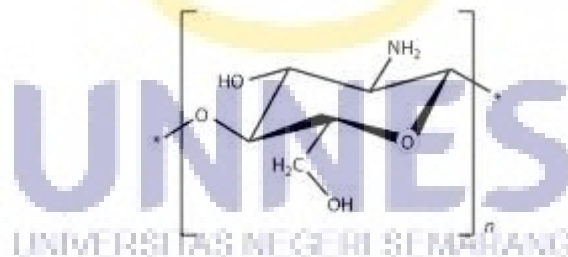
*Smart packaging* bertujuan untuk mengawasi kondisi makanan terkemas dengan tujuan untuk mendapatkan informasi mengenai kualitas makanan dalam kemasan sewaktu transportasi dan penyimpanan. Pengawasan kondisi makanan dilakukan dengan menggunakan indikator yang dibedakan atas indikator luar dan indikator dalam. Indikator luar adalah indikator yang diletakkan di luar kemasan sementara indikator dalam adalah indikator yang ditempatkan di dalam kemasan, dapat ditempatkan pada *head space* kemasan atau ditambahkan pada penutup kemasan. Contoh indikator luar yaitu indikator waktu, indikator suhu dan indikator pertumbuhan mikroba. Sedangkan contoh indikator dalam adalah indikator oksigen, indikator karbon dioksida, indikator patogen dan indikator pertumbuhan mikroba (Ahvenainen, 2003).

Robertson (2006) mengemukakan *smart packaging* adalah kemasan yang memiliki indikator yang diletakkan secara internal maupun secara eksternal dan mampu memberikan informasi tentang keadaan kemasan dan atau kualitas kemasan di dalamnya. Hasnedi (2009) melakukan uji plastik indikator berbahan dasar *chitosan-asetat*, PVA, dan indikator BTB dapat memberikan pola perubahan warna yaitu dari kuning menjadi kuning tua selanjutnya menjadi hijau dan terakhir menjadi hijau kebiruan selama 15 jam proses pembusukan.

## 2.2 Kitosan

kitosan merupakan produk dari proses deasetilasi kitin yang merupakan komponen utama eksoskeleton dari kelas krustacea. kitosan adalah kopolimer linier yang tersusun oleh 2000-3000 monomer D-glukosamin (GlcN) dalam ikatan  $\beta$  (1-4) yang terdiri dari 2-asetil-2-deoksi-D-glukopiranososa dan 2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranososa (Prashanth & Tharanathan 2007). Berat molekul kitosan sebesar  $1,24 \times 10^6$  Dalton sedangkan derajat deasetilasinya adalah sekitar 80-85% (Krajewska, 2004). Berat molekul ini bergantung pada derajat deasetilasi yang dihasilkan pada saat ekstraksi.

Kitosan yang larut dalam asam memiliki keunikan yakni mampu membentuk gel yang stabil dan membentuk muatan dwi kutub, yaitu muatan positif pada gugus NH dan muatan negatif pada gugus karboksilat (Krajewska, 2004). Struktur kitosan disajikan pada Gambar 2.1



**Gambar 2.1.** Struktur kitosan

Kitosan secara kimia dapat digunakan sebagai pengganti selulosa dimana gugus hidroksil kitosan pada C2 telah diganti oleh gugus amina (Krajewska, 2004). Kemiripan struktur kimia antara kitosan dengan selulosa juga dijelaskan oleh Ban *et al.*, (2005), dimana penambahan kitosan sebanyak 33% memiliki kualitas

plastik biopolimer yang mirip dengan penambahan 22% selulosa. Sifat yang terdapat pada kitosan antara lain tidak larut dalam air, pelarut organik dan larutan alkali pada pH di atas 6,5 tetapi cepat larut dalam asam organik encer seperti asam asetat, asam sitrat, asam formiat dan asam mineral lain kecuali sulfur. Pelarut yang umum digunakan dalam proses pembuatan membran polimer berbahan dasar kitosan adalah larutan asam asetat (Rinaudo, 2006).

Di dalam tanah, PE-*chitosan film* memiliki tingkat degradasi lebih tinggi dibandingkan plastik komersial dengan bahan dasar tepung kanji. Untuk meningkatkan ketahanan laju udara pada plastik kitosan, Suyatma *et al.*, (2004) mencampurnya dengan polimer komersial *poly lactic acid* (PLA). Ban *et al.*, (2005) membuktikan bahwa kitosan dengan konsentrasi 28% mampu memberi kekuatan tarik 10 kali lipat pada plastik dari tepung kanji komersial. Kamel *et al.*, (2004) mendapatkan hasil bahwa perlakuan dengan 1% larutan PVA atau 0,3% larutan kitosan memberikan karakteristik fisik maksimum pada kertas. Chen *et al.*, (2007) yang meneliti karakteristik ikatan yang terjadi pada plastik kitosan dan PVA menemukan bahwa interaksi ikatan hidrogen antara kitosan dan PVA membuat struktur kimia plastik yang dihasilkan sangat kokoh.

### 2.2.1 Sumber dan Mutu Kitosan

Kitosan merupakan merupakan polimer karbohidrat alami yang dapat ditemukan dalam kerangka krustasea, seperti kepiting, udang dan lobster, serta dalam eksoskeleton zooplankton laut, termasuk karang dan jellyfish. Selain terdapat pada hewan laut kitin juga ditemukan pada serangga, seperti kupu-kupu dan kepik

yang juga memiliki kandungan kitin di sayap mereka, serta terdapat di dinding sel ragi dan jamur (Shahidi & Abuzaytoun, 2005).

Mutu kitosan dapat ditentukan berdasarkan parameter fisika dan kimia, parameter fisis diantaranya penampakan, ukuran (*mesh size*) dan viskositas, sedangkan parameter kimia yaitu nilai proksimat dan derajat deasetilasi (DD). Semakin baik mutu kitosan semakin tinggi nilai derajat deasetilasinya dan semakin banyak fungsi dalam aplikasinya. Adapun standar spesifikasi mutu kitosan disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Spesifikasi mutu kitosan

Spesifikasi	Kitosan (Farmasi)
Penampakan	Serpihan/Bubuk Putih/kekuningan
Kadar air (% berat kering)	$\leq 10 \%$
Kadar abu (% berat kering)	$\leq 2 \%$
Kadar N (% berat kering)	$>5\%$
Derajat deasetilasi	$\geq 70 \%$

Sumber : Supitjah *et al.*, (2004)

Produksi kitosan dapat dilakukan secara kimia dan enzimatik. Produksi kitosan secara kimia menggunakan alkali kuat seperti NaOH pada suhu tinggi, namun proses ini menghasilkan limbah dan produk samping yang berpotensi mencemari lingkungan sehingga mutu kitosan yang dihasilkan kurang baik (Tsigos *et al.*, 2000). Produksi kitosan secara enzimatik, yakni deasetilasi enzimatik dengan kitin deasetilase (CDA) dalam bentuk larutan kitosan akan berlangsung lebih mudah, reaksinya lebih homogen disetiap bagian larutan. Menurut Kolodziejska *et al.*, (2000), deasetilasi enzimatik terhadap kitin/kitosan dalam

bentuk larutan dapat mencapai derajat deasetilasi 88-99%. Proses pembuatan kitosan secara enzimatik lebih mudah dikendalikan, spesifik dan meminimalkan produk samping.

Produk samping yang dapat diminimalkan untuk menjadi produk zero waste diantaranya adalah protein dan beberapa produk turunan lainnya. Kitosan sebagian besar diperoleh dari bahan baku cangkang krustasea, kapang, cumi-cumi dan lain-lain, melalui proses demineralisasi menggunakan HCl 1:7 (v/v), dilanjutkan dengan proses deproteinasi menggunakan NaOH 1:10 (b/v), dan deasetilasi menggunakan NaOH 50%. Masing-masing proses memiliki tujuan yang berbeda. Proses demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan kandungan mineral dalam cangkang, deproteinasi bertujuan untuk menghilangkan protein yang terdapat pada cangkang, sedangkan proses deasetilasi bertujuan untuk menghilangkan gugus asetil. Proses ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas fungsi dari kitosan (Angka & Suhartono, 2000).

### **2.3 Antosianin Kulit Manggis**

Kulit buah manggis kaya akan antioksidan seperti senyawa pigmen antosianin (Moongkardi *et al.*, 2004). Kulit buah manggis mengandung kadar antosianin sebesar 593 ppm (Supiyanti, 2010). Kulit buah manggis dapat dijadikan bahan baku untuk pewarna alami karena kulit buahnya mengandung dua senyawa alkaloid, serta lateks kering buah manggis mengandung sejumlah pigmen yang berasal dari dua metabolit, yaitu  $\alpha$ - mangosteen dan  $\beta$ - mangosteen yang jika diekstraksi dapat menghasilkan bahan pewarna alami berupa antosianin yang menghasilkan warna merah, ungu, dan biru (Sinar, 2010).

Penelitian Farida *et al.*, 2015 menyatakan bahwa stabilitas antosianin sangat dipengaruhi oleh nilai pH. Semakin tinggi pH maka warna dari pigmen antosianin akan berubah menjadi senyawa kalkon yang tidak berwarna sehingga penggunaan ekstrak pigmen kulit buah Manggis pada produk pangan diterapkan untuk produk yang memiliki pH rendah.

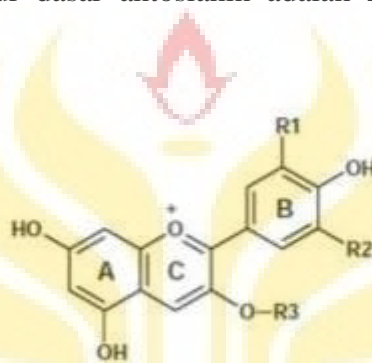
Kulit buah mengandung antosianin seperti *cyanidin-3-sophoroside* dan *cyanidin-3-glucoside*. Senyawa tersebut berperan penting pada pewarnaan kulit manggis (Qosim, 2007). Zat warna ini banyak diisolasi untuk digunakan dalam beberapa bahan olahan makanan maupun minuman (Tranggono, 1990). Menurut Abbas (2003) bahwa pada kondisi asam antosianin akan lebih stabil dibandingkan dengan pada kondisi basa atau netral. Stabilitas antosianin dipengaruhi beberapa faktor antara lain yaitu pH, temperatur, oksigen, dan ion logam (Nollet, 1996).

Serapan antosianin yang dilarutkan dalam dapar dengan berbagai kondisi pH diukur pada panjang gelombang 510 nm yang merupakan panjang gelombang maksimal sianidin 3-glikosida (Supiyanti *et. al.*, 2010). Antosianin merupakan salah satu zat pewarna alami berwarna kemerah-merahan yang larut dalam air dan tersebar luas di dunia tumbuh-tumbuhan (Nuciferani, 2004). Antosianin juga tergolong senyawa flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antioksidan alami (Madhavi *et al.*, 1996).

Antosianin merupakan pigmen warna paling umum pada tumbuhan tingkat tinggi yang juga memiliki aktivitas antioksidan. Antosianin mampu menghentikan reaksi radikal bebas dengan menyumbangkan hidrogen atau



elektron pada radikal bebas dan menstabilkannya (Madhavi *et al.*, 1996). Menurut Markakis (1982) hal tersebut dikarenakan terdapatnya dua cincin benzena yang dihubungkan dengan tiga atom C dan dirapatkan oleh satu atom O sehingga terbentuk cincin di antara dua cincin benzena pada antosianin. Antosianin termasuk flavonoid karena mempunyai karakteristik kerangka karbon C-C-C. Struktur dasar antosianin adalah 2-phenyl-benzopyrylium dari garam flavylium.



Gambar 2.2 Rumus Struktur Antosianin (Sofro, *et. al.*, 1992)

Pada kisaran pH 1-3, pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavylium yang dominan berwarna merah dengan merupakan bentuk yang paling stabil. Ketika pH naik ke nilai pH 4-5 atau pH semakin ditingkatkan akan menyebabkan hilangnya proton lebih cepat yang akan menyebabkan deprotonisasi dan hidrasi kation flavylium (Giusti *et al.*, 2001). Ekstraksi antosianin limbah kulit buah manggis menggunakan metode konvensional dengan maserasi (Huang *et al.*, 2010). Ekstraksi dilakukan menggunakan *shaker waterbath* bersuhu 42°C selama 45 menit. Rasio bahan pelarut pada kontrol (maserasi) sama dengan perlakuan terbaik (MAE) yaitu 1:20 (b/v) dan pada kontrol (maserasi) maupun perlakuan terbaik (MAE) menggunakan pelarut yang sama yaitu aquades yang diasamkan dengan asam sitrat 2%.

## 2.4 Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin.

Ekstraksi dalam penelitian ini adalah yang menggunakan pelarut, sehingga dapat diartikan sebagai suatu proses pemisahan komponen yang larut dengan komponen yang tidak larut atau komponen yang mempunyai kelarutan kecil. Ekstraksi merupakan salah satu cara pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu bahan yang merupakan sumber komponen tersebut. Komponen yang dipisahkan dengan ekstraksi dapat berupa padatan dari suatu sistem campuran cair-cair atau berupa padatan dari suatu sistem padat-padat.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi antosianin adalah waktu ekstraksi, pH dan temperatur ekstraksi. pH larutan ekstraksi berpengaruh terhadap kestabilan warna pigmen. Tensiska (2006) menyatakan bahwa, ekstraksi senyawa golongan flavonoid dianjurkan dilakukan pada suasana asam karena asam berfungsi mendenaturasi membran sel tanaman, kemudian melarutkan pigmen antosianin sehingga dapat keluar dari sel, serta dapat mencegah oksidasi flavonoid. Senyawa golongan flavonoid termasuk senyawa polar dan dapat diekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar pula. Beberapa pelarut yang bersifat polar diantaranya etanol, air dan etil asetat (Widjanarko, 2008).

## 2.5 Analisis metode instrumental

### 2.5.1 Kromatografi Lapis Tipis

Adsorben dilapiskan pada lempeng kaca yang bertindak sebagai penunjang fasa diam. Fasa bergerak akan menyerap sepanjang fasa diam dan terbentuklah kromatogram. Ini dikenal juga sebagai kromatografi kolom terbuka. Biasanya yang sering digunakan sebagai materi pelapisnya adalah silika gel, bubuk selulosa, tanah diatome. (Hardjono Sastrohamidjojo, 1991).

Kromatografi lapis tipis digunakan untuk memisahkan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam dipisah gerakan pelarut pengembang. Teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dikembangkan oleh Egon Stahl dengan menghamparkan penyerap pada lempeng gelas, sehingga merupakan lapisan tipis. KLT merupakan kromatografi serapan, tetapi dapat juga merupakan kromatografi partisi karena bahan penyerap telah dilapisi air dari udara. Sistem ini sangat populer karena banyak memberikan keuntungan, yaitu peralatan yang diperlukan sederhana, murah, waktu analisis yang singkat serta daya pisah cukup baik. Selain itu sampel yang dibutuhkan sangat sedikit (Sudjadi, 1986).

Larutan cuplikan ditotolkan dengan pipet mikro atau injektor pada jarak 1-2 cm dari batas plat. Setelah pelarut dari noda menguap, plat siap untuk dikembangkan dengan fasa gerak yang sesuai hingga jarak eluen/fasa gerak dari batas plat mencapai 7-10 cm. Proses pengembangan dikerjakan dalam wadah tertutup (*chamber*) yang diisi eluen yang sesuai dengan sampel. Chamber tersebut dijenuhi dengan uap eluen agar dihasilkan pemisahan yang baik dan dapat ulang (*reproducible*). Teknik pengembangan dapat dari bawah ke atas (*ascending*), dari

atas ke bawah (*descending*) atau mendatar. Jangan sampai terlalu lama mencelupkan plat dalam bejana bila permukaan pelarut telah mencapai garis akhir, karena oleh pengaruh difusi dan penguapan dapat menyebabkan pemancaran dari noda-noda yang terpisah.

Pemilihan eluen yang tepat merupakan langkah yang sangat penting untuk keberhasilan analisis dengan KLT. Pertimbangannya dapat menggunakan prinsip “*like dissolve like*“. Pemilihan eluen (fasa gerak) sebaiknya menggunakan campuran pelarut organik yang mempunyai polaritas serendah mungkin, hal ini untuk mengurangi serapan dari setiap komponen dari campuran pelarut. Jika komponen-komponen yang mempunyai sifat polar yang tinggi (terutama air) dalam campuran akan merubah sistem menjadi sistem partisi. Campuran yang baik memberikan fasa-fasa bergerak yang mempunyai kekuatan bergerak sedang, tetapi sebaiknya dicegah sejauh mungkin mencampur lebih dari dua komponen terutama karena campuran yang lebih kompleks cepat mengalami perubahan-perubahan fasa-fasa terhadap perubahan-perubahan suhu (Hardjono Sastrohamidjojo, 1991).

Setelah noda dikembangkan dan divisualisasikan, identitas noda dinyatakan dengan harga  $R_f$  (*Retardation Factor*) yang didefinisikan sebagai rasio jarak noda terhadap titik awal dibagi jarak eluen terhadap titik awal. Secara matematis dapat ditulis:

$$R_f = \frac{l}{h}$$

dengan  $l$  = jarak noda dari titik awal ke titik akhir setelah proses pengembangan dan  $h$  = jarak eluen dari titik awal ke batas akhir eluen. Harga  $R_f$  berkisar antara

0-0,999. Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapis tipis sehingga mempengaruhi harga Rf antara lain struktur kimia senyawa yang dipisahkan, sifat penyerap, tebal dan kerapatan lapisan penyerap, pelarut (fasa gerak), derajat kejenuhan, teknik pemisahan, jumlah cuplikan, dan suhu (Hardjono Sastrohamidjojo, 1991)

### 2.5.2 Uji Gugus Fungsi dengan FTIR

Alasan utama suatu senyawa atau molekul diuji dengan menggunakan FTIR karena senyawa atau molekul tersebut mampu menyerap radiasi inframerah yang terletak pada panjang gelombang  $10^{-6}$  -  $10^{-4}$  nm. Spektrum serapan inframerah suatu material mempunyai pola yang khas, sehingga berguna untuk identifikasi keberadaan gugus-gugus fungsi pada suatu senyawa atau molekul (Mudzakir, 2008).

Spektroskopi FTIR adalah alat untuk mengukur serapan radiasi daerah inframerah pada berbagai panjang gelombang. Secara kualitatif, spektroskopi FTIR dapat digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang ada dalam struktur molekul. Data yang dihasilkan dari uji spektrum FTIR adalah puncak-puncak spectrum karakteristik yang digambarkan sebagai kurva transmitansi (%) dan bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) pada sampel yang diujikan yang kemudian akan dianalisis. Untuk menganalisis data yang dihasilkan dari pengukuran spektroskopi inframerah diperlukan table konversi internasional yaitu Handbook IR. Handbook IR untuk mencocokkan gugus-gugus dari senyawa kolagen-kitosan. Dari data hasil pengukuran yang diperoleh, selanjutnya dilakukan analisis kemungkinan terjadinya persenyawaan kimia atau campuran mekanis.

Hasil analisa FT-IR menunjukkan, Kitosan memiliki puncak yang khas pada serapan bilangan gelombang 3300-3500  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan kelompok gugus hidroksil ( $\text{OH}^-$ ), kelompok alifatik  $\text{CH}_2$  dan  $\text{CH}_3$  pada 2900  $\text{cm}^{-1}$  pada serapan 1500  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya  $-\text{NH}_2$  *bending*, pada serapan 1400  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus  $\text{C-O}$  *stretching* dari kelompok alkohol primer dan pada serapan 1600  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus  $\text{C=O}$  (Sionkowska, *et. al.*, 2004).

Kolagen memiliki puncak khas pada serapan 3400  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan kelompok gugus hidroksil ( $-\text{OH}$ ). Pada serapan bilangan gelombang 1600  $\text{cm}^{-1}$  adalah amida I. Amida I adalah faktor penting dalam memahami struktur sekunder dari protein (Su-Rong, *et. al.*, 2009). Adanya amida II ditunjukkan pada serapan bilangan gelombang 1500  $\text{cm}^{-1}$ . Amida II menunjukkan adanya struktur heliks (Muyonga, *et. al.*, 2004). Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi yang paling dominan antara molekul kolagen dan molekul kitosan adalah interaksi fisik (Tangsadthakun, *et. al.*, 2006). Sedangkan menurut (Fernandes, *et. al.*, 2011) bahwa ikatan  $-\text{OH}$ ,  $\text{C=O}$ ,  $-\text{NH}$  yang terbentuk dari komposit kitosan-kolagen berasal dari penggabungan senyawa-senyawa yang terkandung dari kitosan dan kolagen.

## 2.6 Metode Hitung Cawan

Metode hitungan cawan merupakan metode yang paling sensitif untuk menentukan jasad renik, dengan prinsip 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 dihitung tanpa menggunakan mikroskop (Fardiaz, 1992).

Keuntungan menggunakan metode hitungan cawan dalam menghitung jumlah koloni pada medium agar yaitu : hanya sel yang masih hidup yang dihitung, beberapa jenis jasad renik dapat dihitung secara langsung, dan dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi jasad renik karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari suatu jasad renik yang mempunyai penampakan pertumbuhan spesifik. Metode hitungan cawan dapat dibedakan dalam dua cara yaitu metode tuang (pour plate) dan metode permukaan (surface plate) (Fardiaz, 1993).

Pengenceran yang dikehendaki, sebanyak 1 mL atau 0,1 mL larutan tersebut dipipet ke dalam cawan petri menggunakan pipet 1 mL atau 1,1 mL. Sebaiknya waktu antara dimulainya pengenceran sampai menuangkan ke dalam cawan petri tidak boleh lebih lama dari 30 menit. Kemudian ke dalam cawan tersebut dimasukkan agar cair steril yang telah didinginkan sampai 47-50<sup>0</sup>C sebanyak 15-20 ml. Selama penuangan medium, tutup cawan jangan dibiarkan dibuka terlalu lebar untuk menghindari kontaminasi dari luar. Segera setelah penuangan cawan petri digerakkan di atas meja secara hati-hati, untuk menyebarkan sel-sel secara merata, yaitu dengan gerakan melingkar atau gerakan seperti angka delapan. Setelah agar memadat, cawan-cawan tersebut dapat diinkubasikan di dalam incubator dalam posisi terbalik (Fardiaz, 1993).

## BAB 5

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Simpulan

1. Konsentrasi ekstrak antosianin yang tepat dalam aplikasi plastik biosensor sebagai pendeteksi pada kerusakan fillet ikan nila yakni 30%. Warna yang dihasilkan berubah sedikit kehitaman karena adanya gas basa volatil yang terserap oleh plastik.
2. Nilai *Total Plate Count* terendah pada plastik-antosianin 30% dengan jumlah bakteri  $1,9 \times 10^3$  cfu/mL, dan jumlah bakteri terbanyak pada plastik – antosianin 100% yakni  $3,4 \times 10^{11}$  cfu/mL.
3. Gugus fungsional yang teridentifikasi pada bilangan gelombang  $3360 \text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan gugus –OH dan vibrasi ulur –NH, serta terdapat juga beberapa cincin aromatik dari senyawa antosianin ditandai oleh gugus C=C pada bilangan gelombang  $1612 \text{ cm}^{-1}$ .

#### 5.2 Saran

1. Mencari sumber antosianin dari bahan alam lain yang tidak mudah terdekomposisi.
2. Sebaiknya dilakukan beberapa variasi waktu dalam masa penyimpanan fillet ikan sehingga dapat melihat lebih rinci perubahan nilai TPC.
3. Adanya kontrol negatif untuk plastik yang diujikan pada fillet ikan nila.
4. Ekstraksi dapat dicoba dengan metode lain agar warna coklat tidak terbawa pada ekstrak.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. 2003. Identifikasi dan Pengujian Stabilitas Pigmen Antosianin Bungan Kana (*Canna coccinea* Mill.) serta Aplikasinya pada Produk Pangan <http://digilib.gunadarma.ac.id>. Diakses pada 26 januari 2016.
- Ahvenainen, R. 2003. Active and intelligent packaging. *Dalam* : Ahvenainen, R (ed). *Novel Food Packaging Techniques*. Abington : Woodhead Publishing, pp 5-21
- Angka, S.L, dan Suhartono M.T. 2000. *Pemanfaatan Limbah Hasil Laut: Bioteknologi Hasil Laut*. Bogor: Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan IPB
- Ban W, JianguoSong, Argyropoulos DS, and Lucia LA. 2005. Improving the physical and chemical functionality of starch-derived films with biopolymers. *J.of Aplied Polymer Science* 100: 2542-2548.
- Bourtoom, T. 2007. *Effect of some Process Parameters on The Properties of Edible Film Prepared From Straches*. Departement of Material Product Technology. Songkhal.
- Brouillard, R. 1982. Chemical Structure of Anthocyanin. *Di dalam* P. Markakis (ed). *Anthocyanin as Food Colors*. Academic Press. New York
- Chen CH, Wang FY, Mao CF, and Yang CH. 2007. Studies of chitosan I : preparation and characterization of chitosan/poly(vinyl alcohol) blend films. *J. Polymer Science*. 105 : 1086 1092.
- Fan, W., Y. Chi & S. Zhang. 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food Chem*. 108: 148-153.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Fardiaz S. 1992. *Mikrobiologi Pengolahan I*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB
- Farida R dan Nisa F. 2015. Ekstraksi Antosianin Limbah Kulit Manggis Metode Microwave Assisted Extraction (Lama Ekstraksi dan Rasio Bahan: Pelarut). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 3 No2 p.362-373.
- Fennema, O.R., 1976. *Principle of Food Science*. Marcel Dekker Inc, New York
- Giusti, M. M., dan P. Jing. 2008. Analysis of Anthocyanins. Di dalam Socaciu, C. (eds). 2008. *Food Colorants: Chemical and Functional Properties*. Taylor & Francis : Boca Raton

- Hadiwiyoto, S. 1993. *Teknologi pengolahan hasil perikanan Jilid I*. Liberty. Yogyakarta
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. ITB : Bandung.
- Hardjito L. 2006. Aplikasi kitosan sebagai bahan tambahan makanan dan pengawet. Di dalam *Prosiding Seminar Nasional Kitin Kitosan*. Bogor: Departemen Hasil Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Hardjono Sastrohamidjojo. (1991). *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta.
- Hasnedi, Yogi Waldingga. 2009. *Pengembangan Kemasan Cerdas (Smart Packaging) dengan Sensor Berbahan Dasar Chitosan-Asetat, Polivinil Alkohol, dan Pewarna Indikator Bromthymol Blue Sebagai Pendeteksi Kebusukan Fillet Ikan Nila*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Huang, C., Liao, W., Chan, C., and Y. Lai. 2010. Optimization for the Anthocyanin Extraction from Purple Sweet Potato Roots Using Response Surface Methodology. *J. Taiwan Agric. Res*, 59(3):143–150
- Huss HH. 1995. Fisheries Technical Paper: Quality and quality changes in fresh fish. Roma: FAO Kim MK, Mah JH, Hwang HJ. 2009. Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish. *J. Food chemistry* 116:87-95
- Kamel S, El-Sakhawy M, Nada AMA. 2004. Mechanical properties of the paper sheets treated with different polymers. *J. Thermochimica Acta*. 421: 81–85.
- Kim MK, Mah JH, Hwang HJ. 2009. Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish. *J. Food chemistry* 116:87-95
- Kolodziesjska, I., Wojjtasz-Pajak A, Ogonowska G, & Sikorski ZE. 2000. Deacetylation of Chitin in Two Stage Chemical and Enzimatic Process. *Bul.Sea Fisheries Inst.* 2(150): 15-24.
- Krajewska B. 2004. Membrane-based processes performed with use of chitin/chitosan materials. *J. Separation and Purification Technology*. 41 : 305–312
- Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K. 1996. *Food Antioxidants*. Marcell Dekker Inc. New York
- Mahatmanti, F. Widhi, Sugiyo Warlan, Sunarto Wisnu. 2009. Sintesis Kitosan dan Pemanfaatannya Sebagai Anti Mikroba Ikan Segar. Semarang : Fakultas MIPA UNNES.

- Mahmudatussa'adah Ai, Fardiaz Dedi, Andarwulan Nuri, Kusnandar Feri. 2014. Karakterisasi Warna dan Aktivitas Antioksidan Antosianin Ubi Jalar Ungu. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*. 25(2). ISSN 1979-7788
- Markakis, P. 1982. Anthocyanins as Food Additives. Di dalam *Anthocyanins as Food Colors*. Markakis, P. (ed). 1982. Academic Press. New York.
- Miryanti Arry, Sapei Lanny, Budiona Kurniawan, Indra Stephen. 2011. *Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L)*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. Universitas Katolik Parahyangan Bandung.
- Moongkardi P. Kosem N. Kaslungka N. 2004. *Antiproliferasi, antioksidasi dan induksi apoptosis oleh Garcinia mangostana (mangosteen) pada SKBR3 human breast cancer line*. *J Ethnopharmacol*. 90(1).
- Nollet, L.M.L. (1996). *Hand Book of Food Analysis. Two Edition*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Nuciferani, Niken Mahargyantini. 2004. *Potensi Pigmen Antosianin Bunga Mawar (Rosa Sp) Sortiran sebagai Zat Warna dan Antioksidan Alami pada Produk Yoghurt dan Sari Buah Jeruk (Kajian Warna Bunga dan Umur Simpan)*. <http://digilib.umm.ac.id>. Diakses pada 20 Maret 2016
- Ovando Araceli Casneda, Hernandez Ma. de L.P., Hernandez Ma. elena faez, Rodriguez Jose A, Vidal Carlos Andres Galan. 2009. Chemical studies of antocyanins: A review. *J. Food chemistry*. 113-859-871
- Pacquit A, Lau KT, McLaughlin H, Frisby J, Quilty B and Diamond D. 2007. Development of a Smart Packaging for the Monitoring of Fish Spoilage. *Journal Food Chemistry* 102, 466-470
- Pacquit A, Crowley K, Diamond D. 2008. Smart Packaging Technologies for Fish and Seafood Products. *Di dalam Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods*. Willey John (Eds): 75-96, England : John Wiley & Sons Ltd.
- Prashanth KVH, Tharanathan RN. 2007. *Chitin/Chitosan: Modifications and Their Unlimited Application Potential and Overview*. Mysore: Department of Biochemistry and Nutrition, Central Food Technological Research Institute.
- Purwanti, Ani. 2010. Analisis Kuat Tarik dan Elongasi Plastik Kitosan Terplastisasi Sorbitol. Jurusan Teknik Kimia, Institut Sains dan Teknologi. *Jurnal Teknologi*, Volume 3 Nomor 2, 99-106
- Qosim, Warid Ali. 2007. *Kulit Buah Manggis sebagai Antioksidan*. <http://anekaplanta.wordpress.com/2007/12/26/kulit-buah-manggis-sebagai-antioksidan/>. Diakses pada tanggal 31 Maret 2016.

- Rahardjo K dan Widjanarko S. 2015. Biosensor pH berbasis antosianin stroberi dan klorofil daun suji sebagai pendeteksi kebusukan fillet daging ayam. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 3 No 2 p.333-344
- Rinaudo M. 2006. Chitin and chitosan: properties and applications. *Jurnal Polymer*.
- Robertson GL. 2006. *Food Packaging – Principles and Practice*. Second edition, CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Sofro, A.S.M., Lestariana, W. Dan Haryadi, 1992. *Protein, Vitamin dan bahan Ikutan Pangan*, PAU UGM, Yogyakarta
- Sudjadi, Drs., (1986), *Metode Pemisahan*, UGM Press, Yogyakarta.
- Supitjah, Pipit. (2004). Tingkatan Kualitas Kitosan Hasil Modifikasi Proses Produksi. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 56 Vol VII Nomor 1.
- Supiyanti, Wiwin, Wulansari, Endang D, Kusmita, Lia. 2010. “Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penentuan Kandungan Antosianin Total Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.)”, *Majalah Obat Tradisional*. 15(2), 64-70, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi, Semarang.
- Suptijah, P., Gushagia, Y., dan Sukarsa D.R. 2008. Kajian Efek Daya Hambat Kitosan Terhadap Kemunduran Mutu Fillet Ikan Patin (*pangasius hypophthalmus*) Pada Penyimpanan Suhu Ruang. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. Vol XI Nomor 2.
- Suyatma, Copinet, Tighzert, Coma. 2004. Mechanical and barrier properties of biodegradable films made from chitosan and poly (lactic acid) blends. *J. Polymers and the Environment*. 12 : 1-4.
- Tan, X.C., Tian., Y., Cai, P. and Zou, X., 2005, Glucose biosensor based on glucose oxidase immobilized in sol-gel chitosan/silica hybrid composite film on Prussian blue modified glass carbon electrode, *Anal. Bioanal. Chem.*, Vol. 381 : 500–507.
- Tensiska, E. Sukarminah dan D. Natalia. 2006. *Ekstraksi Pewarna Alami dari Buah Arben (*Rubus idaeus* (Lin)) dan aplikasinya pada Sistem Pangan*. <http://digilib.umm.ac.id>. Diakses pada 20 maret 2016.
- Tranggono, B.S. (1989). *Petunjuk Laboratorium Biokimia Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Yogyakarta.
- Tsigos, I., Martinou A, Kafetzopoulos D & Bouriotis V. 2000. Chitin Deacetylases: New, Versatile Tools in Biotechnology. *TIBTECH*. Vol.-(18): 305-312.
- Yunizal dan S. Wibowo. 1998. *Penanganan Ikan Segar*. Instalasi Penelitian Perikanan Laut Slipi, Jakarta.

- Warsiki dan Citra. 2012. Pembuatan labelfilm indikator warna dengan pewarna alami dan sintetis. *E-Jurnal Agro-Industri Indonesia*. Vol. 1 No 2
- Wahyu, M.K. 2009. *Pemanfaatan pati singkong sebagai bahan baku edible film*. Makalah pada karya ilmiah beswan. Universitas Padjajaran. 18 Juli
- Wijaya, A. 2011. Pengaruh pemberian bakteri Probiotik (*Bacillus sp.*) pada media pemeliharaan terhadap kelangsungan hidup benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi *streptococcus agalictiae*. Skripsi. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan Unpad. Jatinangor.
- Zaitsev V, Kizevetter I, Lagunov L, Makarova T, Minder L, Podsevalov V. 1969. *Fish Curing and Processing*. Moscow: Mir Publisher.

