## **NANOKITOSAN**

**DARI SISIK IKAN:** 

APLIKASINYA SEBAGAI PENGEMAS PRODUK PERIKANAN

Inneke F.M. Rumengan Pipih Suptijah Netty Salindeho Stenly Wullur Aldian H. Luntungan







Penerbit: Lembaga Penelitian dan Pengabdian

Kepada Masyarakat Universitas Sam Ratulangi

## NANOKITOSAN DARI SISIK IKAN : APLIKASINYA SEBAGAI PENGEMAS PRODUK PERIKANAN

## Penulis:

Inneke F. M. Rumengan, Pipih Suptijah, Netty Salindeho, Stenly wullur, Aldian H. Luntungan

ISBN: 978-602-52426-4-9 Desain Sampul dan Tata Letak Aldian H. Luntungan

## Penerbit:

Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Sam Ratulangi

## Redaksi:

Percetakan Unsrat

Jl. Kampus, Bahu, Malalayang, Kota Manado, Sulawesi Utara Manado 95115

Cetakan Pertama, 2018

ISBN 978-602-52426-4-9



Hak cipta dilindungi Undang-undang Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit

## **PRAKATA**

Buku ini membahas produk penerapan nanoteknologi terhadap kitosan berbasis bahan baku sisik ikan, menjadi nanokitosan, serta aplikasinya sebagai pengemas produk perikanan. Rangkaian data yang dipaparkan merupakan hasil riset sejak tahun 2016 dengan skema MP3EI (Master Plan Perluasan dan Pembangunan Ekonomi Indonesia) dan 2017-2018 dengan skema PSN (Penelitian Strategis Nasional), yang didanai dari DRPM Kemenristekdikti. Buku Teks ini diharapkan dapat menjadi acuan bagi periset dan praktisi, serta mahasiswa yang berminat meneliti topik terkait. Bagi pengajar Bioteknologi dan Nanoteknologi, buku ini dapat digunakan sebagai referensi yang relevan.

Disadari edisi pertama buku ini masih sarat dengan keterbatasan dalam mengakes literatur mutakhir yang tersedia. Kesadaran akan hal ini dan dengan adanya kontribusi dari pembaca berupa kritik, koreksi, saran dan masukan informasi terkait, akan menjadi alasan untuk penyempurnaan Buku Teks ini pada edisi mendatang.

Manado, Agustus 2018

Inneke F. M. Rumengan dan Tim

## **DAFTAR ISI**

PRA	KATA	iii				
DAF	TAR ISI	iv				
UCA	APAN TERIMA KASIH	vi				
1.	PENDAHULUAN					
2.	KITIN DAN KITOSAN	6				
	2.1 Struktur molekul kitin dan kitosan	7				
	2.2 Berat molekul kitosan	11				
	2.3 Sambung silang kitosan secara ionik	13				
	2.4 Manfaat sebagai biomaterial	16				
3.	KARAKTERISTIK KITIN DAN KITOSAN DARI SISIK IKAN					
	3.1 Sisik ikan	26				
	3.2 Komposisi proksimat sisik ikan	27				
	3.3 Ekstraksi kitin dan modifikasi menjadi					
	Kitosan	33				
	3.4 Karakteristik kitin	38				
	3.5 Karakteristik kitosan					
	3.6 Derajat deasetil					
	3.7 Kandungan kitosan	47				
4.	KEUNGGULAN NANOPARTIKEL	51				
	4.1 Definisi nanopartikel	52				
	4.2 Nanopartikel berbasis polimer	54				

4.3 Pemanfaatan nanopartikel	55					
4.4 Preparasi nanokitosan	62					
5. KARAKTERISTIK NANOKITOSAN	69					
5.1 Karakteristik berdasarkan ukuran						
Nanokitosan	77					
5.2 Karakteristik berdasarkan morfologi						
Nanokitosan melalui uji SEM	75					
5.3 Karakteristik berdasarkan uji FTIR						
Nanokitosan	77					
5.4 Karakteristik berdasarkan pengujian						
Logam berat nanokitosan	80					
6. NANOKITOSAN SEBAGAI PENGEMAS						
PRODUK PERIKANAN	82					
6.1 Pengawet alami ikan segar						
6.2 Pengasapan ikan						
6.3 Nanokitosan sebagai edible coating	91					
7. PENUTUP	100					
DAFTAR PUSTAKA	103					

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada Kemenristekdikti DRPM yang telah mendanai penelitian dengan skema MP3EI (Master Plan Perluasan dan Pembangunan Ekonomi Indonesia) pada tahun 2016 dan PSN (Penelitian Strategis Nasional) pada tahun 2017-2018, sehingga diperoleh serangkaian data yang menjadi bahan utama penyusunan buku ini.

Ucapan terima kasih selanjutnya kepada Fallen Sandana dan Dyta Anggraeny atas kontribusinya dalam proses pengumpulan data penelitian, dan kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan buku ini.

# 1 PENDAHULUAN

Revolusi industri abad ke 21 dipacu antara lain oleh terobosan dalam pengembangan teknologi yang merekayasa material menjadi berukuran nano  $(1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m})$ , yang dikenal dengan nanoteknologi. Dengan menciptakan material hingga berukuran nano ini, sifat dan fungsi material tersebut bisa diubah sesuai dengan yang diinginkan. Pada dekade terakhir 2010 -2020 sedang tejadi percepatan yang luar biasa dalam penerapan nanoteknologi di dunia industri. Para cendekiawan ilmiah memprediksikan negara yang belum mengembangkan teknologi berkemungkinan menjadi penadah produk-produk impor berbasis nanoteknologi yang mahal. Nanoteknologi yang baru mencuat awal millennium kedua telah melahirkan berbagai hasil rekayasa material menjadi nanomedicine, biosensor, nanoelectronic, green nano-products, nanofabrican, carbon nanotube, dan lain-lain.

Dengan nanoteknologi, kekayaan sumberdaya alam Indonesia dapat dieksploitasi menghasilkan produk-produk berdaya saing tinggi di pasar global. Keunggulan komparatif yang dimiliki Indonesia berupa lokasi secara geografis yang sangat strategis berimplikasi pada tingginya keberagaman sumber daya alam di darat maupun perairan, baik sumberdaya

hayati maupun non hayati, sehingga dapat menjadi basis nanoteknologi, untuk memproduksi produk bernilai komersial tinggi namun ramah lingkungan.

Pemerintah Indonesia lewat Kementerian Negara Riset dan Teknologi pada awal dekade ini sekitar tahun 2010-an, telah menyadari bahwa pengembangan nanoteknologi ini dapat menghasilkan berbagai inovasi di berbagai sektor dan bidang fokus pembangunan, seperti kesehatan, farmasi, kosmetik, makanan, industri, energi, lingkungan, militer, antariksa, pertahanan dan keamanan, transportasi, informasi komunikasi, dan lain-lain. Di kalangan kementerian ini produk nanoteknologi diistilahkan sebagai "material maju" yang mendukung berbagai teknologi yang sudah ada seperti: Teknologi Pangan, Energi, Informasi dan Komunikasi, Transportasi, Pertahanan dan Keamanan, Kesehatan dan Obat. Bidang-bidang teknologi menjadi semakin diunggulkan dalam penetapan Rencana Induk Riset Nasional tahun 2017-2045 yang Kementerian Riset. dicanangkan lewat Teknologi, Pendidikan Tinggi (Kemenristekdikti, 2017) yang kemudian diamanatkan dalam Peraturan Presiden Nomor 38 tahun 2018.

Sebagai negara yang wilayahnya sekitar dua per tiga terdiri dari laut dengan kekayaan ikan yang melimpah, Indonesia termasuk Sulawesi Utara marak dengan industri kuliner berbasis sea food terutama ikan laut, sehingga menarik kunjungan banyak turis mancanegara maupun domestik. Sayangnya produk perikanan ini memiliki sifat mudah rusak, sehingga memiliki umur simpan yang relatif pendek, berakibat pada penurunan nilai ekonomi hingga penolakan konsumen. Dewasa ini, berbagai metode banyak dilakukan untuk memperpanjang daya awet produk segar maupun olahan bahkan hingga penggunaan produk pengawet kimia berbahaya yang pada akhirnya berdampak buruk bagi kesehatan konsumen.

Kitosan merupakan senyawa alami yang dapat digunakan untuk memperpanjang daya awet produk perikanan, karena memiliki aktifitas antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme perusak dan memiliki karakter pelapis yang baik untuk meminimalkan interaksi produk dengan lingkungannya. Penelitian menyangkut kitosan dan aplikasinya sebagai pengawet telah banyak dilakukan, namun pada umumnya bersumber dari biomasa cangkang udang, kepiting dan ranjungan (Suptijah, 2011), dan masih sedikit yang berbasis zooplankton seperti rotifer (Rumengan *et al.*, 2014).

Industri kuliner berbasis ikan, berdampak pada buangan limbah sisik ikan yang menggangu estetika dan kenyamanan.

Sisik ikan dapat menjadi bahan baku untuk ekstraksi kitin (Rumengan, et al., 2017) dan selanjutnya dimodifikasi menjadi kitosan. Buku ini pada awal bahasannya menjabarkan tentang kitin dan kitosan secara kimia, keunggulan nanoteknologi serta preparasi dan karakterisasi nanokitosan, diakhiri dengan inti bahasan bagaimana nanokitosan yang dapat dikembangkan sebagai media pelapis dan pengemas produk segar untuk memperpanjang daya simpan.

## 2 KITIN DAN KITOSAN

## 2.1 Struktur molekul kitin dan kitosan

Kitin merupakan biomaterial alami tergolong polisakarida struktural terbanyak kedua setelah selulosa. Lebih dari sepuluh gigaton (10<sup>13</sup> kg) kitin tersedia di alam. Kitin sebagai penyusun struktur organ atau kulit baik tumbuhan seperti fungi dan jamur, maupun hewan seperti avertebrata laut, serangga, dan rotifer.

Kitin mempunyai rumus molekul (C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>O<sub>5</sub>)n yang tersusun atas 47% C, 6% H, 7% N, dan 40% O berupa polimer rantai lurus, dengan monomer-monomer N-asetil-D-glukosamin yang berikatan dengan ikatan  $\beta$ -(1,4), atau secara kimia disebut unit  $\beta$ -(1,4)2-asetamido-2-deoksi-  $\beta$ -D-glukosa (Santosa dkk, 2014). Jadi struktur molekul kitin merupakan turunan selulosa dengan gugus hidroksil pada atom karbon nomor 2 diganti dengan gugus asetamindo (NHCOCH3). Sedangkan kitosan (Poli-β-(1,4)-Dglukosamin) merupakan polimer karbohidrat yang diturunkan dari deasetilasi kitin yang merupakan biopolymer alami yang berlimpah setelah selulosa. Kitosan tersusun oleh monomer 2amino-2-deoksi-D-glukosa dengan ikatan glikosida pada posisi β (1,4) sehingga kitosan merupakan polimer rantai panjang glukosamin dengan rumus molekul (C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>)n. Kitin dan memiliki struktur yang mirip dengan selullosa. kitosan

Perbedaanya terletak pada posisi C<sub>2</sub> dimana pada kitin posisi C<sub>2</sub> adalah gugus asetamida, sedangkan pada kitosan posisi C<sub>2</sub> adalah gugus amina (Sarmento *et al.*, 2011).

Kitin merupakan konstituen organik yang sangat penting pada golongan Arthopoda, Annelida, Moluska dan Nematoda. Meskipun keberadaan kitin sangat melimpah dalam beberapa kelompok taksonomi, kitin yang sering digunakan berasal dari filum arthopoda kelas Crustacean, terutama kepiting dan udang (Santosa dkk, 2014), dan golongan zooplankton seperti rotifer (Rumengan *et al.*, 2014).

Gambar 1. Struktur dua dimensi dari kitin dan kitosan Sumber :Santosa , S.J (2014)

Dari berbagai sumber biota laut kepiting, udang, rajungan, karang-karangan, cumi-cumi yang mengandung kitin, masing-masing memiliki nilai kandungan kitin yang berbeda-beda (Knorr, 1984). Meskipun nilai kandungan kitin berbeda-beda

menurut sumbernya, namun strukturnya tetap sama kecuali asosiasinya dengan protein dan kalsium karbonat yang beragam (Muzi, 1990 *dalam* Susianthy, 2006). Kandungan kitin dalam cangkang organisme air umumnya berkisar antara 20 hingga 50% (berat), kecuali beberapa jenis kepiting, kandungan kitin dalam cangkangnya dapat mencapai lebih dari 70% (Muzzarelli, 1977; dalam Santosa dkk, 2014). Kitin untuk pertama kali diisolasi dari jaringan jamur dan dinamakan *fungine* pada tahun 1811 oleh seorang ahli botani Perancis bernama, Braconnot. Materi yang sama diisolasi dari rangka luar serangga dan dinamakan *chitine*. Kitin adalah biomasa yang paling berlimpah setelah selulosa, produksi di seluruh dunia setiap tahunnya diperkirakan mencapai 1x 10<sup>13</sup> kg (Jenkins dan Hudson, 2001).

Turunan kitin dan kitosan telah banyak disintesis, terutama melalui modifikasi pada cincin (C-6) dan kedua melalui gugus hidroksil yang terdapat pada cincin (C-3) dalam setiap unit pengulangan, termasuk gugus fungsional amina (C-2) pada gugus terdeasetilasi. Gugus hidroksil dan amina dapat mengalami reaksi asilasi dengan asam klorida dan asam anhidrat termasuk pembentukan urea melalui isosianat. Amina primer dapat digantikan oleh alkil iodida atau diubah menjadi amina dengan suatu aldehid atau keton yang kemudian dapat diubah

menjadi turunan N-alkilasi. Setelah perlakukan dengan NaOH, kitin dan kitosan akan menjadi sangat reaktif dengan alkil klorida.

### Reaksi:

Gambar 2. Reaksi senyawa kitin menjadi kitosan setelah ditambahkan NaOH. Sumber : Haryono *et al* (2008)

Kitosan merupakan turunan hasil deasetilasi dari kitin dengan struktur ( $\beta$ -(1-4)-2-amina -2-deoksi-D glukosa) dengan derajat deasetilisasinya lebih dari 60%. Produksi kitosan meliputi demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi. Kondisi ekstrim yang digunakan pada saat proses deasetilasi menyebabkan kitosan mempunyai rantai lebih pendek dibandingkan kitin. Oleh karena itu, jika kitosan dilarutkan dalam asam encer, viskositasnya bervariasi menurut berat

molekul dan derajat deasetilisasinya. Kitosan berwarna putih kecokelatan (Maniukiewicz, 2011).

## 2.2 Berat Molekul Kitosan

Kitosan memiliki berat molekul yang tinggi. Berat molekul dari kitosan bervariasi berdasarkan sumber materialnya dan metode preparasinya. Kitin memiliki berat molekul biasanya lebih besar dari satu juga Dalton sementara berat molekul pada kitosan antara 100 kDa- 1200 kDa, tergantung pada proses dan kualitas produk (Kim et al., 2005). Berat molekul dapat ditentukan dengan beberapa metode seperti chromatography, viscometry dan light schattering. (Muzzarelli et al., 1997). Dalam berbagai pemanfaatan dibutuhkan berat molekul kitosan yang rendah. Upaya penurunan berat molekul kitosan dapat dilakukan dengan satu dan dua tahap proses hidrolisis kimiawi dengan menggunakan larutan HCl. Kondisi proses hidrolisis, meliputi konsentrasi larutan HCl, suhu dan waktu hidrolisis divariasikan untuk mendapatkan kitosan dengan berbagai kisaran berat molekul antara  $10^5$ - $10^4$  (Suseno dkk, 2015).

Berat molekul (BM) dapat mempengaruhi sifat antibakteri dari kitosan. Pada konsentrasi asam asetat 50- 100 ppm, kitosan dengan BM yang lebih rendah menghasilkan sifat antibakteri E.

Coli (gram negatif) yang lebih baik dibandingkan kitosan dengan BM yang lebih tinggi (Liu *et al.*, 2006). Pengaruh BM kitosan terhadap aktivitas antibakteri yaitu bila BM naik maka penetrasi ke dalam inti sel menurun sehingga sifat antibakteri juga akan menurun atau dengan kata lain sifat antibakteri kitosan akan lebih baik bila BM kitosan diturunkan. Dalam penelitian lainnya juga dinyatakan bahwa aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh kitosan terhadap bakteri gram negatif terbukti lebih tinggi dengan menurunnya berat molekul, derajat asetilasi, dan pH dari kitosan (Younes *et al.*, 2014).

Menurut Berger *et al.* (2003) bahwa parameter utama yang mempengaruhi karakterikstik kitosan adalah bobot molekularnya (M/W) dan tingkat derajat deasetil (DD). Berat molekul kitosan juga bergantung pada degradasi yang terjadi selama proses deasetilasi (Ramdhan *et al.*, 2010)

## 2.3 Sambung Silang Kitosan Secara Ionik

Kitosan dengan pKA 6,5 merupakan polikationik, ketika dilarutkan dalam asam, amin bebas dari kitosan akan terprotonasi menghasilkan – NH<sup>3+</sup>. Natrium tripolifosfat dilarutkan dalam air sehingga didapatkan ion hidroksil dan ion tripolifosfat. Ion tersebut dapat bergabung dengan struktur dari

kitosan. Bhumkar dan Pokharkar (2006) menyatakan bahwa silang kitosan dengan natrium tripolifosfat derajat taut dipengaruhi oleh keberadaan sisi kationik dan senyawa anionik sehingga pH dari natrium tripolifosfat memiliki peran penting selama proses taut silang. Kitosan-tripolifosfat adalah senyawa turunan dari kitosan yang dihasilkan dari proses taut silang ionik dengan senyawa tripolifosfat, natrium kitosan seperti tripolifosfat. Proses modifikasi kitosan dengan natrium tripolifosfat bergantung pada beberapa faktor, yaitu kosentrasi kitosan, pH dan natrium tripolifosfat dan waktu terjadinya taut silang (Ko et al., 2003).

Proses taut silang dilakukan pada dua kondisi pH, yaitu pH 3 dan 9. Pada pH 3 hanya dihasilkan ion tripolifosfat yang akan beinteraksi dengan –NH³+ dari kitosan sehingga pada kondisi tersebut didapatkan kitosan-tripolifosfat yang didominasi oleh interaksi ionik. Pada pH 9, dihasilkan ion hidroksil dan tripolifosfat. Kedua ion tersebut berkompetisi untuk berinteraksi dengan –NH³+. Pada kondisi tersebut, taut silang kitosan didominasi oleh deprotonasi oleh ion hidroksil (Bhumkar dan Pokharkar, 2006). Pada pH < 4 sebagian besar gugus amino dari kitosan akan terprotonas (Nystrom et al., 1999). Dengan semakin menurunnya pH pada larutan kitosan maka makin banyaknya

gugus amino yang terprotonasi. Semakin banyaknya gugus amino yang terprotonasi makan semakin banyak juga gugus fosfat yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan secara ionik.

Pembentukan ikatan silang ionik salah satunya dapat menggunakan senyawa tripolifosfat. dilakukan dengan Penggunaan TPP untuk pembentukan gel kitosan dapat meningkatkan mekanik dari gel yang terbentuk. Hal ini karena tripolifosfat memiliki muatan negatif yang tinggi sehingga interaksi dengan polikationik kitosan akan lebih besar (Shu dan Zhu, 2002). Modifikasi nanopartikel terjadi hanya pada kosentrasi tertentu kitosan dan TPP. Peran TPP sebagai zat pengikat silang akan memperkuat matriks nanopartikel kitosan (Yongmei dan Yumin, 2003). Semakin banyaknya ikatan silang yang terbentuk antara kitosan dan TPP maka kekuatan mekanik matriks kitosan akan meningkat sehingga partikel kitosan menjadi semakin kuat dan keras, serta semakin seulit untuk terpecah menjadi bagian-bagian yang lebih kecil (Wahyono, 2010). Larutan kitosan pada batas kosentrasi tertentu dalam asam asetat 1% dapat membentuk gel. Gel kitosan yang terbentuk dapat diperbaiki sifatnya (menurunnya waktu gelasi dan meningkatnya kekuatan mekanik gel) dengan penambahan PVA (Wang et al 2004).

Ikatan silang kovalen dalam hidrogel kitosan dapat dibedakan menjadi 4 bagian, yaitu ikatan silang kitosan-kitosan, jaringa polimer hibrida atau HPN (*Hybrid polymer network*), jaringan polimer saling tembus tanggung atau utuh (semi-IPN atau full-IPN, interpenetrating polymer network), dan kitosan berikatan silang ionik. Ikatan silang kitosan-kitosan terjadi diantara dua unit struktur pada rantai polimer kitosan yang sama. Pada HPN, ikatan silang terjadi antara satu unit dari struktur rantai kitosan dan unit lain dari struktur polimer tambahan. Semiatau *full*-IPN terjadi jika ada penambahan polimer lain yang tidak bereaksi dengan larutan kitosan sebelum terjadi taut silang. Pada semi-IPN, polimer yang ditambahkan hanya melilit. Pada *full*-IPN ada penambahan dua senyawa penaut silang yang terlibat pada jaringan (Berger *at al.*, 2004).

Gelasi atau pembentukan gel merupakan gejala penggabungan atau pengikatan silang rantai-rantai polimer membentuk jaringan tiga-dimensi yang berkesinambungan dan dapat memerangkap air di dalamnya menjadi suatu struktur yang kompak dan kaku yang tahan terhadap aliran bertekanan (Faridaz 1989). Gel yang dapat menahan air dalam strukturnya disebut hidrogel (Wang *et al.*, 2004). Hidrogel dapat diklasifikasikan menjadi hidrogel kimia dan fisika. Hidrogel

kimia dibentuk dari reaksi yang tidak dapat balik, sedangkan fisika dibentuk oleh reaksi yang dapat balik. Contoh hidrogel kimia adalah hidrogel kitosan yang berikatan silang secara kovalen (Stevens 2001; Berger *et al.*, 2004).

## 2.4. Kitosan sebagai biomaterial

Aplikasi dari kitosan dalam kehidupan manusia sudah banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Sebagai turunan kitin, kitosan yang memiliki gugus amino bermuatan positif, dapat mengikat molekul lain yang bermuatan negatif dengan ikatan ionik atau hidrogen, sehingga kitosan memiliki sifat kimia linier plyamine (poly D-glucosamine), gugus amino yang reaktif, gugus hidroksi yang reaktif. Kitosan merupakan biopolimer alam yang bersifat polielektrolit kationik yang berpotensi tinggi untuk penyerapan logam dengan mudah terbiodegradasi serta tidak beracun. Muzarelli (1977) melaporkan bahwa kitosan sudah pernah digunakan untuk menyerap logam-logam seperti tembaga (Cu), timbal (Pb), besi (Fe), nikel (Ni) dan semua logam tersebut didapati mudah terserap dengan baik. Menurut beberapa peneliti menggunakan kitosan sebagai adsorben logam seng (Zn) dan krom (Cr) didapati telah berhasil menurunkan kadar logam tersebut. Amelia (1991) melaporkan larutan kitosan yang dibuatnya mampu menurunkan kadar logam Cu pada limbah cair industri pelapisan logam sebesar 60%

Kitosan memiliki reaktivitas yang tinggi untuk penyerapan ion dengan beberapa mekanisme diantaranya:

- a. Kandungan yang tinggi pada gugus OH membuatnya menjadi polimer yang *hydrophilic* dan memberikan efek khelasi.
- b. Kandungan gugus amina primer dengan aktivitas tinggi
- c. Kelompok amina yang dapat mengikat logam kationik sehingga membuatnya menjadi sepasang elektron (Guibal, *et al.*, 2005)

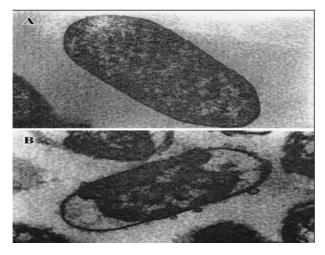
Kitosan dimanfaatkan sebagai *edible film* di industry untuk meningkatkan kualitas dari bahan pangan, sebagai antimikroba untuk daya simpan bahan pangan, untuk pemurnian air, memberikan efek nutrisi bagi makanan dan lain-lain (Shaidi, 1999). Kelebihan lain dari kitosan yaitu muatan pada gugus amonium yang positif dapat mengadakan interaksi ionik dengan asam sialat pada membran intestinal saluran cerna (Vllasaliu *et al.*, 2010). Kitosan dan turunannya telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang misalnya dalam bidang pangan, mikrobiologi, pertanian farmasi, dan sebagainya. Kitosan memiliki banyak keunggulan, diantaranya memiliki struktur

yang mirip dengan serat selulosa yang terdapat pada buah dan sayuran. Keunggulan lain yang sangat penting adalah kemampuannya dalam menghambat dan membunuh mikroba atau sebagai zat antibakteri, diantaranya kitosan menghambat pertumbuhan berbagai mikroba penyebab penyakit tifus yang resisten terhadap antibiotik yang ada (Killay, 2013).

Kitosan digunakan sebagai pelapis (film) pada berbagai bahan pangan, tujuannya adalah menghalangi oksigen masuk dengan baik, sehingga dapat digunakan sebagai kemasan berbagai bahan pangan dan juga dapat dimakan langsung, karena sifat kitosan yang tidak berbahaya terhadap kesehatan (Henriette, 2010). Senyawa kitosan dapat membunuh bakteri dengan jalan merusak membrane sel (Hui, 2004). Aktivitas antibakteri kitosan dapat menghambat bakteri pembusuk pada makanan lokal yang mengandung bakteri pathogen (Morhsed, 2011).

Kitosan memiliki gugus fungsional amina (-NH²) yang bermuatan positif dan sangat reaktif, sehingga mampu berikatan dengan dinding sel bakteri yang bermuatan negatif. Ikatan ini terjadi pada situs elektronegatif di permukaan dinding sel bakteri. Gugus amina tersebut yang membuat kitosan lebih bersifat reaktif dibandingkan kitin. Gugus tersebut terbentuk dari

proses deastilasi kitin yaitu penghilangan gugus asetil pada kitin, sehingga menghasilkan gugus amina pada kitosan. Karena adanya gugus amina, kitosan merupakan polielektrolit kationik dan bersifat sebagai basa, hal yang sangat jarang terjadi secara alami (Maniukiewicz, 2011).



Gambar 3. Bakteri *E.coli* sebelum diberi kitosan (**A**); Bakteri *E.Coli* yang diberi kitosan setelah 24 jam (**B**)
Sumber: Chung YC *et al*/Acta Pharmacol Sin 2004; Jul 25(7):932-936

Selain itu, karena -NH<sup>2</sup> juga memiliki pasangan elektron bebas, maka gugus ini dapat menarik mineral Ca<sup>2+</sup> yang terdapat pada dinding sel bakteri dengan membentuk ikatan kovalen koordinasi. Bakteri gram negatif dengan lipopolisakarida dalam

lapisan luarnya memiliki kutub negatif yang sangat sensitif terhadap kitosan (Killay, 2013)

Aktivitas antibakteri kitosan disebabkan karena terjadinya interaksi antara kitosan dengan membran sel terluar dari bakteri. Mekanisme antimikroba kitosan terhadap bakteri terjadi melalui dua teori. Teori yang pertama didasari oleh adanya gugus fungsional amina pada kitosan yang dapat membentuk ikatan dengan dinding sel bakteri dan mengakibatkan timbulnya kebocoran konstituen intraseluler sehingga bakteri akan lisis. Teori kedua menyebutkan bahwa diawali dengan merusak dinding sel bakteri, kitosan melakukan pengikatan intraseluler, menghalangi mRNA, dan menghambat sintesis protein (Andreas et al., 2007). Kosentrasi kitosan juga berpengaruh terhadap daya antibakteri, yaitu semakin tinggi kosentrasi kitosan maka daya hambat terhadap bakteri semakin besar. Akan tetapi, hingga pada kosentrasi tertentu aktivitas antibakteri kitosan justru menurun. Hal ini dimungkinkan karena viskositas larutan yang lebih rendah (Setyahadi, 2006). Selain itu, adanya atom nitrogen mejadikan kitosan sebagai inhibitor dan sumber makanan bakteri sekaligus. Semakin besar kosentrasi kitosan (di atas 0,1%), sifat kitosan sebagai sumber makanan semakin besar sehingga sifat kitosan sebagai inhibitor semakin turun (Candra, 2008).

Selain faktor kosentrasi, derajat deasetilasi (DD) kitosan juga memberikan perbedaan aktivitas antibakteri. Semakin besar DD kitosan, aktivitas antibakteri akan semakin besar. Hal ini disebabkan karena semakin besar DD kitosan maka julah gugus amina bermuatan positif yang terbentuk semakin besar sehingga peluang interaksinya dengan sel bakteri yang bermuatan negatif semakin besar pula (Khan, 2002).

Potensi besar lainnya dari kitosan adalah sebagai bahan sediaan farmasi seperti antimikroba, antivirus, antikolesterol, dan antitumor (Joshi *et al.*, 2013; Hein *et al.*, 2007). Selain itu, kitosan telah diaplikasikan pada berbagai kosmetik seperti krim dan lotion hingga produk untuk perawatan rambut bahkan dapat juga dijadikan bahan untuk *contact lens* karena sifatnya yang biokompatibel (Joshi *et al.*, 2013). Santosa dkk. (2014) kemudian merangkum manfaat kitosan diantaranya:

- Pengolahan air, misalnya sebagai flokulator, koagulator, dan penurunan kadar ion logam
- 2) Pertanian, sebagai bahan antimikroba, pelapis benih tanaman, dan pupuk
- Tekstik dan kertas, melalui pemanfaatan serat kitosan untuk bahan tekstil dan tenun serta kertas dan berbagai jenis film.

- 4) Bioteknologi untuk *packing* kromatografi dan bahan pendukung enzim
- 5) Suplemen makanan/kesehatan, banyak dijumpai sebagai aditif makanan terlibat dalam proses pembuatan berbagai bahan makanan, dan dimanfaatkan pada pembuatan agen penurun berat badan.
- 6) Biomedik, sebagai material antikoagulan atau antitrombogenik, bahan pengantar obat dan gen, agen hemostatik dan lain sebagainya.

Dalam bidang industri kitosan sudah dimanfaatkan untuk berbagai sektor seperti pengolahan limbah, makanan, kesehatan, pertanian, kosmetik, dan bioteknologi. Penjelasan lebih lengkap tersaji pada Tabel 1. Penggunaan senyawa antimikroba yang tepat dapat mempernjang umur simpan suatu produk serta menjamin kemanan produk. Bahan antimikroba alami lebih direkomendasikan karena tidak membahayakan kesehatan. Modifikasi penelitian mengenai kitosan telah banyak diakukan baik dalam proses kimiamaupun fisik dengan mengubah ukuran partikel kitosan yaitu dalam bentuk nanopartikel. Nanopartikel kitosan memiliki daya serap dan kemampuan yang lebih baik sebagai senyawa antibakteri dibandingkan kitosan ukuran biasa (Karmelia, 2009).

Tabel 1. Pemanfaatan kitosan pada berbagai sektor

Industri		Manfaat			
Industri limbah	pengolahan	Penyerap ion logam, koagulan protein, asam amino dan bahan pencelup			
Industri makanan		Pengawet, penstabil makanan, penstabil warna bahan pengental dll Penyembuh luka dan tulang,			
Industri Kesehatan		pengontrol kolesterol, kontak lensa, penghambat plag gigi, dll Pupuk, pelindung biji, dll			
Industri Pert	anian				
Kosmetik		Pelembab (Imoisturizer), krem wajah, tangan dan beda Dll			
Bioteknolog	i	Dapat immobilisasi enzim, chromatografhy penyembuh sel dll			

Sumber: Kim, 2004

Chang (2005) menyatakan bahwa semakin cepat gerakan suatu molekul, maka semakin besar energi kinetiknya. Energi kinetik yang besar menyebabkan molekul yang bertumbukan akan bergetar kuat sehingga memutuskan beberapa ikatan kimianya. Semakin cepat putaran dapat memperbesar intensitas bersentuhan molekul pelarut dengan kitosan, sehingga semakin

besar intensitas kecepatan putaran dari *magnetic stirrer* maka partikel yang dihasilkan semakin kecil

## 3 KARAKTERISTIK KITIN DAN KITOSAN DARI SISIK IKAN

## 3.1 Sisik ikan

Sisik ikan mempunyai karakteristik yang ditemukan dalam struktur-struktur lain seperti tulang, gigi, dan urat daging yang bermineral. Semua bahan ini sebagian besar terbentuk oleh beberapa komponen seperti bahan organik, mineral, dan air (Torres et al., 2007). Susunan sisik yang seperti genting akan mengurangi gesekan dengan air sehingga ikan dapat berenang dengan lebih cepat (Burhanuddin, 2014). Bagian sisik yang menempel ke tubuh kira-kira separuhnya. Penempelannya tertanam ke dalam sebuah kantung kecil di dalam dermis. Bagian yang tertanam pada tubuh disebut anterior, transparan Bagian yang terlihat adalah bagian dan tidak berwarna. belakang (posterior), berwarna karena mengandung butir-butir pigmen (kromatofor). Berdasarkan bentuk dan kandungan bahan, sisik ikan dibedakan menjadi lima jenis yaitu plakoid, kosmoid, ganoid, sikloid dan stenoid (Burhanuddin, 2014).

## 3.2 Komposisi proksimat sisik ikan

Beberapa penelitian belakangan ini telah menunjukan kandungan kitin dalam sisik ikan. Diantaranya penelitian dari Zaku *et al* (2011) yang mengekstraksi dan menganalisis kandungan kitin dari jenis ikan mas (*Cyprinus carpio l*). Hasil

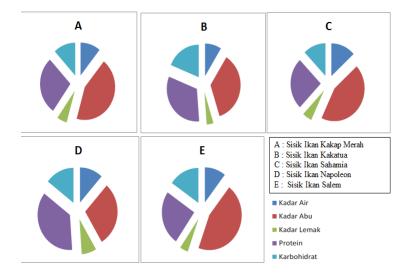
penelitian tersebut menyimpulkan bahwa kitin dari sisik ikan dapat digunakan dalam berbagai macam penerapan khususnya ketika mengubahnya menjadi kitosan melalui proses deasetilasi. Hal ini sesuai dengan pendapat dari Tang et al (2015) yang menyatakan bahwa kitin terdapat dalam berbagai macam jenis ikan dan amphibi. Penelitian dari Rumengan et al (2017) juga membuktikan kandungan kitin dalam jenis sisik ikan yang diperoleh di Kota Manado, Sulwesi Utara. Sisik ikan yang digunakan adalah dari jenis ikan kakatua (*Scarus* sp) dan sisik ikan kakap merah (*Lutjanus* sp). Hasil dari penelitian tersebut menunjukan bahwa berdasarkan hasil uji FTIR, keduan jenis sisik ikan memiliki struktur molekuler dari senyawa kitin.

Sisik ikan mengandung komposisi kimia yang terdiri dari air, protein, lemak, karbohidrat, kalsium, dan abu. Yogaswari (2009) telah merangkum komposisi proksimat sisik ikan secara umum dalam persen berat badan, yakni air (30,0-36,8), abu (18,7-26,3), lemak 0,1-1,0), protein (29,8-40,9), karbohifrat (2,0-5,7), kitin (0,4-3,7) dan kalsium (5,0-8,6). Namun komposisi kimia sisik ikan bervariasi tergantung dari jenis ikan. Perbedaan komposisi kimia dapat disebabkan oleh perbedaan umur, jenis kelamin, serta habitat ikan. Ukuran setiap sisik juga dipengaruhi oleh jenis ikan tersebut.



Gambar 4. Ukuran Sisik 5 Jenis Ikan di Sulawesi Utara (Sumber : Rumengan dkk, 2016)

Analisis beberapa jenis sisik ikan yang ada di kota Manado seperti sisik ikan napoleon (Cheilinus undulatus), sisik ikan kakap merah (Lutjanus argentimaculatus), sisik ikan salem (Elagatis bipinnulata), sisik ikan kakatua (Scarus sp), dan sisik ikan sahamia (Lutjanus argentimaculatus) telah dilakukan melalui pengujian proksimat. Menurut Mulyono (2000) uji proksimat adalah metoda analisis kimia suatu untuk mengidentifikasi kandungan nutrisi seperti protein, karbohidrat, lemak, air, mineral, pada suatu zat makanan dari bahan pakan atau pangan pengujian kimia yang dilakukan untuk bahan baku yang dapat diproses lebih lanjut menjadi barang jadi. Kenampakan dari sisik ikan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Proksimat 5 jenis sisik ikan laut (Sumber : Rumengan dkk, 2016)

Tiap sisik ikan laut yang terkumpul dikarakterisasi terlebih dahulu dengan melakukan analisis komposisi kimia meliputi kadar air, abu, lemak, protein, dan karbohidrat. Komposisi kimia dari tiap sisik ikan yang ada disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi kimia sisik ikan laut

No	Sampel	Kadar (%)				
		Air	Abu	Lemak	Protein	Karbohidrat (by differences)
S1	Sisik ikan kakatua ( <i>Scarus</i> sp)	8,83	36,28	3,68	32,30	18,90
S2	Sisik ikan kakap merah (Lutjanus argentimaculatus)	10,78	43,54	5,37	28,49	11,83
S3	Sisik ikan napoleon (Cheilinus undulatus)	11,60	29,88	7,44	36,50	14,58
S4	Sisik ikan salem (Elagatis bipinnulata)	10,54	44,88	4,13	25,09	15,36
S5	Sisik ikan sahamia (Lutjanus argentimaculatus)	13,20	43,80	5,12	25,70	12,18

Sumber: Rumengan dkk (2016)

Berdasarkan data dalam Tabel 2, ditunjukkan kadar air hasil analisis proksimat dari tiap jenis sisik tergolong kecil karena sampel sisik ikan yang diuji sudah melalui proses pengeringan terlebih dahulu, pengeringan bahan diperlukan sebagai upaya pengawetan agar tidak rusak, tidak bau serta mengurangi bobot. Dengan demikian bahan dapat disimpan lebih lama. Pengeringan bahan dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari atau dengan oven, kadar air dari bahan tergantung dari jenis dan lama waktu pengeringan. Kadar air merupakan salah satu parameter yang sangat penting untuk menentukan mutu kitin dan kitosan. Standar mutu kadar air kitosan yang telah ditetapkan

yaitu ≤ 10%. Kadar air dari kitin dan kitosan dari sisik akan dipengaruhi oleh waktu pengeringan yang dilakukan terhadap kitin dan kitosan yang dihasilkan setelah melalui proses deproteinasi dan demineralisasi.

Kadar abu merupakan parameter yang menggambarkan kandungan mineral dalam suatu bahan. Data menunjukkan ratarata kandungan mineral dari tiap sampel sisik adalah senilai 39,67%. Hasil ini menggambarkan bahwa kadar abu dari sampel tergolong cukup tinggi. Umumnya kadar abu dari sisik ikan laut tergolong lebih tinggi dibandingkan dengan ikan air tawar, maka dari itu untuk memperoleh kitin dari sisik ikan air laut diperlukan proses demineralisasi yang lebih intens supaya diperoleh kadar abu hasil yang sesuai standar. Komponen mineral juga merupakan indikator kerasnya suatu bahan. Semakin tinggi mineral yang dikandungnya semakin keras tekstur dari bahan tersebut. Kadar protein yang terdapat pada tiap sisik mencapai kurang lebih 30%. Kadar protein pada sisik ikan dapat dijadikan sebagai parameter keberadaan zat protein baik kolagen maupun non kolagen di dalam sisik tersebut. Deproteinasi dilakukan untuk menghilangkan zat protein dari sampel. Kadar karbohidrat merupakan parameter utama untuk mengetahui keberadaan kitin dalam sisik ikan. Kadar

karbohidrat pada tiap sampel sisik ikan berada di kisaran 11-19% yang menunjukkan adanya potensi kitin dalam sisik ikan yang dapat diisolasi.

#### 3.3 Ekstraksi kitin dan modifikasi menjadi kitosan

Proses ekstraksi kitin diawali dengan tahap preparasi sampel yang meliputi pengeringan bahan baku sisik ikan, pencucian sisik dari bahan-bahan pengotor lainnya, dan pengguntingan sisik ikan menjadi ukuran yang lebih kecil dan homogen. Setelah tahap preparasi, proses ekstraksi dilanjutkan pada tahap pemisahan mineral atau yang disebut demineralisasi dan tahap pemisahan protein atau deproteinasi (Suptijah dkk., 1992). Demineralisasi merupakan proses penghilangan mineral yang bahan yang mengandung kitin. Untuk terdapat dalam menghilangkan mineral tersebut kandungan terutama kalsiumnya diperlukan penambahan asam seperti asam klorida, asam sulfat, dan asam sulfit.



Gambar 5. Tahap preparasi sisik ikan

Proses demineralisasi akan berlangsung sempurna dengan mengusahakan agar konsentrasi asam yang digunakan serendah mungkin dan disertai pengadukan yang konstan. Pengadukan yang konstan berguna untuk menghasilkan panas yang homogen sehingga asam yang digunakan dapat bereaksi sempurna dengan bahan baku yang digunakan (Karmas, 1982 *dalam* Susianthy, 2006). Setelah mineral hilang, selanjutnya adalah proses penghilangan protein dengan menggunakan larutan NaOH. Ekstraksi dengan larutan alkali akan memutuskan ikatan antara protein dengan kitin (Susianthy, 2006). Dalam tiap proses produksi kitin terdapat beberapa tahapan yang berbeda-beda

yang akan memengaruhi mutu dari produk akhir yang dihasilkan. Oleh karena itu, perlakuan setiap tahapan pun memengaruhi produk akhir.



Gambar 6. Produk kitin hasil ekstraksi spesies ikan Salem (A); ikan sahamia (B); ikan Napoleon (C); ikan Kakatua (D); ikan Kakap merah (E);

Sumber: Rumengan dkk (2017)

Suptijah (2004) telah melakukan modifikasi berbagai perlakuan dalam proses produksi kitin untuk mendapatkan mutu produk akhir yang terbaik. Dari berbagai uji coba perlakuan yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa pada tahap demineralisasi, kondisi yang terbaik adalah menggunakan larutan HCl 1,5 N, suhu 90°C, dan waktu proses 1 jam. Sedangkan pada tahap deproteinasi terpilih perlakuan dengan

menggunakan larutan NaOH 3,5 N, suhu 90°C, dan waktu proses 1 jam (Suptijah, 2004).

Mengacu metode Suptijah (2012), terdapat beberapa metode dasar ekstraksi kitosan yang banyak dikembangkan dalam berbagai penelitian, seperti metode Hackman; Whistler dan BeMiller; Horowitz, Roseman, dan Blumenthal; Foster dan Huckman; Takeda dan Katsuura; Broussignac. Metode dasar deasetilasi kitin menjadi kitosan antara lain Metode Horowitz; Horton dan Lineback; Rigby; Wolform dan Shen-Han; Maher; Fujita; Peniston dan Johnson. Alternatif lainnya untuk menggantikan proses ekstraksi kitin-kitosan cara kimiawi/asamfermentasi basa yaitu proses dengan menggunakan mikroorganisme bakteri proteolitik dan bakteri asam laktat.

Kitosan dibentuk melalui proses deasetilasi dari kitin dengan menggunakan NaOH. Deasetilasi adalah proses untuk menghilangkan gugus asetil (Kim, 2011). Proses deasetilasi (penghilangan gugus asetil) kitin menjadi kitosan dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatis. Secara kimiawi, deasetilasi kitin dilakukan dengan penambahan NaOH, sedangkan secara enzimatis digunakan enzim kitin deasetilisae (Kim, 2011). Derajat deasetilasi menunjukan banyaknya gugus asetil yang putus dari gugus glukosamin dan jumlah presentase

dari gugus amino pada struktur polimer. Semakin besar derajat deasetilasi makan semakin banyak pula kitosan yang terbentuk dari kitin, sehingga lebih muda larut dalam asam encer. Deasetilasi kitin akan menghilangkan gugus asetil dan menyisakan gugus amino yang bermuatan positif, sehingga kitosan bersifat polikationik (Shaidi *et al.*, 1999).



Gambar 7. Produk kitosan hasil pemrosesan kitin dari ke-5 spesies ikan. Sumber : Rumengan dkk (2017)

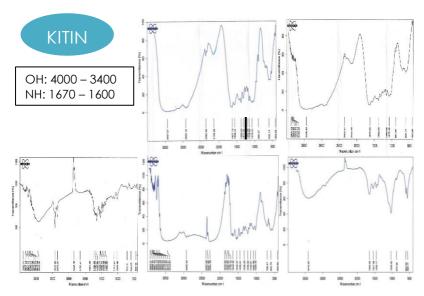
Kitosan memiliki sifat yang spesifik. Senyawa ini larut di asam umumnya, kecuali asam sulfat. Kitosan sedikit larut dalam asam fosfat dan tidak larut dalam sebagian besar pelarut organik. Sifat kitosan yang larut pada pH rendah (kondisi asam) menjadikannya mudah dilakukan modifikasi baik secara fisika maupun kimia. Modifikasi secara fisika lebih diarahkan untuk

menghasilkan berbagai kondisi fisik yang diinginkan seperti modifikasi ukuran nano, berbentuk serat, membran, dan spons. Modifikasi kimia lebih dititikberatkan pada hal-hal seperti meningkatkan afinitas, selektivitas, atau kapasitas terhadap ion logam (Santosa dkk, 2014)

Ketidaklarutan kitosan terkait dengan sifat krislatin, yakni terdapat interaksi intramolekul yang berupa ikatan hidrogen antar rantai dan antar lapisan polimer. Meskipun demikian, dalam kondisi asam, ketika gugus amina terprotonasi menjadi – NH<sup>3+</sup>, ikatan hidrogen akan terputus dan menjadi kitosan mudah larut (Santosa dkk, 2014)

#### 3.4 Karakteristik Kitin

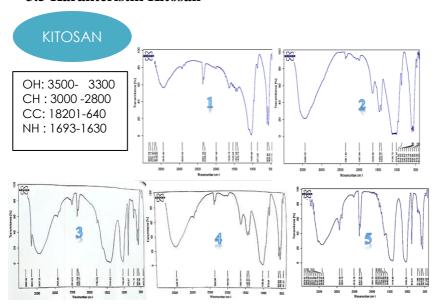
Karakteristik kitin berdasarkan 5 jenis sisik ikan laut yang sering dijumpai di kota Manado dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR. Spektrum FTIR residu kitin dari kelima sampel dapat dilihat pada Gambar 8. Dalam analisis FTIR akan terdeteksi gugus-gugus fungsi yang terdapat dalam kitin yaitu gugus fungsi C-H dan C=O. Hasil deteksi FTIR tergambar dalam bentuk puncak-puncak gugus fungsi tersebut pada bilangan gelombang masing-masing.



Gambar 8. Analisis gugus fungsi kitin terhadap hasil Spectra FTIR sampel sisik ikan dari ke 5 jenis ikan laut. Sumber: Rumengan dkk (2016)

Struktur molekuler kitin menunjukkan gugus hidroksil pada gugus karbon kedua digantikan oleh asetil amida yang terlihat pada hasil spektrum FTIR. Rumengan *et al* (2017) juga telah membuktikkan ikatan gugus aktif kitin pada sisik ikan kakatua dengan serapan gugus amida pada 1627,13 cm<sup>-1</sup> dan sisik ikan kakap merah pada serapan 1648,09 cm<sup>-1</sup>

#### 3.5 Karakteristik Kitosan



Gambar 9. Analisis gugus fungsi kitosan terhadap hasil spectra FTIR sampel sisik ikan dari ke 5 jenis ikan laut (1) Kakap merah; (2) Kakatua; (3) Napoleon; (4) Salem; (5) Sahamia. Sumber: Rumengan dkk (2017)

Hasil analisis FTIR pada kitosan sisik ikan kakap merah menunjukan serapan pada gelombang secara berturut-turut : 3440,52 cm<sup>-1</sup>, 2367,42 cm<sup>-1</sup>, 1997,49 cm<sup>-1</sup>, 1639,86 cm<sup>-1</sup>. Bilangan-bilangan geometrik ini menandakan terdeteksinya gugus fungsi berturut-turut : O-H bending, C-H stretching, C-C

stretching dan N-H stretching. Gugus fungsi yang terdeteksi menunjukkan gugus fungsi dari kitosan.

Hasil analisis FTIR pada kitosan sisik ikan kakatua menunjukan serapan pada gelombang secara berturut-turut : 3442,42 cm<sup>-1</sup>, 2925,52 cm<sup>-1</sup>,1997,49 cm<sup>-1</sup>,dan 1649,76 cm<sup>-1</sup>. Bilangan geometrik ini menunjukan adanya gugus fungsi berturut-turut : O-H bending, C-H streching, C-C streching dan N-H streching. Gugus fungsi yang terdeteksi menunjukan gugus fungsi dari kitosan.

Hasil analisis FTIR pada kitosan sisik ikan napoleon menunjukkan terdapatnya serapan pada bilangan gelombang berturut turut: 3420,35 cm<sup>-1</sup>, 2924,59 cm<sup>-1</sup>, 1991,75cm<sup>-1</sup> dan 1649,66 cm<sup>-1</sup> yang menandakan terdeteksinya gugus fungsi berturut turut: O-H bending, C-H stretching, C-C stretching dan N-H stretching. Gugus fungsi yang terdeteksi menunjukkan gugus fungsi dari kitosan.

Hasil analisis FTIR kitosan sisik ikan salem menunjukan serapan pada gelombang secara berturut-turut : 3435,79 cm<sup>-1</sup>, 2360,96 cm<sup>-1</sup>, 1999,88 cm<sup>-1</sup>, 1639,19 cm<sup>-1</sup>. Bilangan-bilangan geometrik ini menandakan terdeteksinya gugus fungsi berturutturut : O-H bending, C-H stretching, C-C stretching dan N-H

stretching. Gugus fungsi yang terdeteksi menunjukkan gugus fungsi dari kitosan.

Hasil analisis FTIR pada kitosan sisik ikan sahamia menunjukan serapan pada gelombang secara berturut-turut : 3437,29 cm<sup>-1</sup> pada gugus fungsi O-H bending dan 2925,29 cm<sup>-1</sup> pada gugus C-H streching. Pada gugus fungsi C-C dan N-H tidak terdapat serapan. Sedangkan pada gugus C-O terdapat serapan dengan bilangan geometrik 1795.55 cm<sup>-1</sup>. Hal ini menandakan bahwa kitosan dari sisik ikan sahamia belum optimal karena masih terdapat gugus kitin (C-O). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3.Bilangan geometrik dan gugus fungsi kitosan dari lima spesies sisik ikan

Gugus Fungsi	Bilangan Geometrik (cm <sup>y</sup> )						
	Napoleon	Kakatua	Sahamia	Salem	Kakap Merah	Standar	Ket
OH	3420.35	3442.42	3437.29	3435.79	3440.52	3500 - 3300	Bending
CH	2924.59	2925.52	2925.29	2360.96	2367.43	3000 - 2800	Stretching
CC	1991.75	1997.49	-	1999.88	1997.49	1820 - 1640	Stretching
NH	1649.66	1649.76	-	1639.19	1639.86	1693 - 1630	Stretching
C = O	-	-	1795.55	-	-	1815 - 1781	Stretching

Sumber: Rumengan dkk (2017)

Kitosan hasil preparasi dikarakterisasi menggunakan spektroskopi inframerah untuk mengetahui gugus-gugus fungsi karakteristiknya. Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR) adalah salah satu analisis yang digunakan untuk

mengidentifikasi suatu senyawa. FTIR merupakan analisis yang paling baik untuk mengidentifikasi jenis ikatan kimia. Panjang gelombang tertentu yang merupakan karakteristik dari ikatan kimia molekul dan dapat dilihat pada energi yang diserap spektrum inframerah. Bilangan gelombang yang digunakan untuk senyawa organik maupun senyawa polimer yaitu 400-4000 cm<sup>-1</sup> (Shalini dan Prema, 2012). Analisis spektra IR berfungsi untuk mengetahui gugus fungsional dari suatu bahan, sehingga dapat diketahui bahwa senyawa yang dianalisis tersebut merupakan senyawa yang diharapkan, yaitu dalam penelitian ini adalah kitosan.

Banyaknya energi infra merah yang diserap oleh suatu molekul beraneka ragam. Hal ini disebabkan oleh perubahan momen dipol pada saat energi diserap. Ikatan non polar seperti C-H atau C-C menyebabkan absorpsi lemah, sedangkan ikatan polar seperti O-H, N-H dan C=O menyebabkan absorpsi yang lebih kuat (Supratman, 2010). Tipe vibrasi suatu molekul akibat radiasi infra merah pada dasarnya dibedakan menjadi dua, yaitu vibrasi ulur (*stretching*) dan vibrasi tekuk (*bending*). Vibrasi ulur ialah vibrasi sepanjang ikatan yang menyebabkan terjadinya pemendekan dan pemanjangan ikatan. Vibrasi tekuk ialah vibrasi yang disebabkan oleh sudut ikatan sehingga terjadi

pembesaran dan pengecilan sudut ikatan. Frekuensi vibrasi ulur dapat dijumpai pada frekuensi yang lebih tinggi pada spektrum IR (4000-1200 cm<sup>-1</sup>), sedangkan frekuensi vibrasi tekuk dijumpai pada frekuensi yang lebih rendah (~1200-600 cm<sup>-1</sup>). Frekuensi vibrasi ulur merupakan daerah yang khusus berguna untuk identifikasi gugus fungsi dalam suatu senyawa (Hoffman, 2004).

Adanya gugus amina (NH<sub>2</sub>) dan dan hidroksil (OH) dari kitosan menyebabkan kitosan mudah dimodifikasi secara kimia. Gugus hidroksil dan amina dapat memberikan jembatan hidrogen secara intermolekuler atau intramolekuler. Dengan demikian terbentuk jaringan hidrogen yang kuat, membuat kitosan tidak larut dalam air. Gugus fungsi dari kitosan (gugus hidroksil primer pada C-6, gugus hidroksil sekunder pada C-3 dan gugus amino pada posisi C-2) membuatnya mudah dimodifikasi secara kimia, dan ditransformasi menjadi turunannya. Gugus amino kitosan merupakan polielektrolit kationik (pKa 6,5) yang bersifat basa, dan sangat jarang terjadi secara alami (Kaban, 2007)

### 3.6 Derajat Deasetil

Derajat deasetil pada ekstraksi kitosan bervariasi dengan jumlah alkali yang digunakan, waktu reaksi, dan suhu reaksi. Biasanya kualitas produk kitosan dinyatakan dengan besarnya nilai derajat deasetil (Muzzarelli, 1965 dan Austin, 1988). Deasetilasi adalah proses penghilangan gugus asetil pada kitin menggunakan larutan basa kuat dengan suhu yang tinggi. Semakin besar gugus asetil yang hilang semakin tinggi kualitas dan mutu dari senyawa kitosan yang terbentuk. Pada Tabel 4 memaparkan persentase derajat deasetil berdasarkan beberapa jenis ikan lokal di kota Manado.

Tabel 4. Presentase derajat deasetil kitosan

Spesies Ikan	% Derajat Deasetil (DD)
Sisik ikan napoleon	62,5
Kakap merah	80
Kakatua	73
Salem	70

Sumber: Rumengan dkk, 2017

Untuk perhitungan derajat deasetil dilakukan berdasarkan nilai serapan FTIR yang dimasukan dalam rumus baku perhitungan derajat deasetil sebagai berikut :

Perhitungan % DD Kitosan Kakap Merah Perhitungan % DD Kitosan Kakatua 
$$A_{1655} = log \frac{p0}{p} A_{3450} = log \frac{p0}{p}$$
  $A_{1655} = log \frac{p0}{p} A_{3450} = log \frac{p0}{p}$   $a_{1655} = log \frac{p0}{p} A_{155} = lo$ 

Perhitungan % DD Kitosan Napoleon

A<sub>1655</sub> = 
$$log \frac{p_0}{p} A_{3450} = log \frac{p_0}{p}$$
  
=  $log \left(\frac{3,2}{3,7}\right)$   
=  $log \left(\frac{4}{3}\right)$   
=  $0.06$  =  $0.12$   
%DD =  $1 - \left[\frac{A_{1655}}{A_{3450}} x \frac{1}{1.33}\right]$   
=  $1 - \left[\frac{0.06}{0.12} x \frac{1}{1.33}\right]$   
=  $(1 - 0.375) \times 100\%$   
=  $0.625 \times 100\%$   
=  $62.5\%$ 

Perhitungan % DD Kitosan Salem
$$A_{1655} = log \frac{p_0}{p} A_{3450} = log \frac{p_0}{p}$$

$$= log \left(\frac{9,8}{7,1}\right)$$

$$= log \left(\frac{9,7}{4,6}\right)$$

$$= 0.13 = 0.32$$
%DD 
$$= 1 - \left[\frac{A_{1655}}{A_{3450}} x \frac{1}{1.33}\right]$$

$$= 1 - \left[\frac{0.13}{0.32} x \frac{1}{1.33}\right]$$

$$= (1 - 0.30) \times 100\%$$

$$= 0.7 \times 100\%$$

= 70%

Derajat deasetilasi adalah salah satu karakteristik kimia yang paling penting karena DD mempengaruhi performance kitosan pada banyak aplikasinya (Khan *et al*, 2002). Nilai derajat deasetil dipengaruhi oleh kosentrasi NaOH yang digunakan, suhu selama pemanasan, dan rentang waktu selama proses

deasetilasi. Proses deasetilasi gugus asetil pada asetamida kitin diawali dengan gugus karbon karbonil yang diserang oleh nukleofil OH-, mengakibatkan terjadinya reaksi adisi sehingga terbentuk zat antara. Zat antara ini selanjutnya mengalami reaksi elimininasi sehingga gugus asetil pada asetamida kitin lepas membentuk asetat. Proses pelepasan gugus asetil dari gugus asetamida kitin berhubungan dengan konsentrasi ion OH-pada larutan. Konsentrasi OH- akan lebih besar pada larutan basa kuat. Semakin kuat suatu basa semakin besar konsentrasi OH- dalam larutannya. Dengan demikian kekuatan basa mempengaruhi proses deasetilasi gugus asetil dari gugus asetamida kitin (Azhar *et al.*, 2010).

# 3.7 Kandungan Kitosan

Kandungan kitosan menentukan kualitas dan daya simpan kitosan. Analisis kandungan kitosan terdiri dari analisis kadar air, kadar abu, dan kadar protein. Tiga komponen ini merupakan parameter penting dalam menentukan kualitas kitosan yang dihasilkan. Pada Tabel 5 tersaji hasil analisis kandungan kitosan dari sisik ikan kakatua yang merupakan jenis ikan dengan kuantitas paling banyak dijumpai di kota Manado.

Tabel 5. Hasil uji kualitas kitosan sisik ikan kakatua

Parameter	Hasil(%)	SNI 7949:2013 (BSN	
		2013)	
Kadar Air	7.5	<12	
Kadar Abu	7	<5	
Kadar Protein	0	<5	

Sumber: Rumengan dkk (2018)

Analisis kadar air menunjukan besaran kandungan air dalam kitosan yang mempengaruhi daya simpan kitosan. Semakin rendah kadar air, maka dapat memperpanjang daya simpan kitosan. Berdasarkan data pada Tabel 5, kitosan dalam sisik ikan kakatua memiliki kadar air sebanyak 7,5 %. Kandungan ini memiliki nilai lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian dari Zahiruddin et al (2008), yaitu sebesar 9,55 %, dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Sanusi (2004) yaitu 6,25 %. Kadar air kitosan dalam sisik ikan kakatua tidak melebihi batas nilai kadar air kitosan sesuai Standar Nasional Indonesia yaitu <12 %. (BSN, 2013). Rendahnya kadar air pada memungkinkan terjadinya kitosan tidak proses penggelembungan pada kitosan, mengingat sifat kitosan yang higroskopis karena kemampuan gugus amina kitosan yang dapat mengikat molekul air (Kurniasih dan Kartika 2011).

Analisis kadar abu menunjukan jumlah mineral yang terkandung dalam kitosan. Kadar abu kitosan sisik ikan kakatua

adalah 7%. Nilai ini lebih besar dari batas minimal kadar abu sesuai dengan Standar Nasional Indonesia yaitu <5% (BSN, 2013). Namun, nilai ini lebih kecil dibandingkan dengan penelitian dari Nugroho et al (2011) dengan kadar abu kitosan sebesar 8,01%. Kadar abu kitosan ditentukan dari proses demineralisasi dan kosentrasi pelarut yang digunakan. Semakin rendah kadar abu yang terkandung pada kitosan, maka mutu dan kemurnian kitosan semakin tinggi. Hasil analisis kadar abu dari sisik ikan kakatua diperoleh menggunakan metode perendaman selama 24 jam dengan pelarut HCl dengan tujuan untuk mengekstraksi kandungan mineral dalam sisik ikan. Kandungan mineral pada kitosan yang masih tinggi mungkin disebabkan dari waktu perendaman yang masih kurang. Selain itu tingginya kandungan mineral yang terdapat pada sisik ikan kakatua disebabkan habitatnya yang hidup di karang dengan kandungan mineral laut tinggi. Proses perendaman yang lama dengan basa kuat (HCl), dipercaya bisa mengurangi kandungan mineral pada kitosan kedepannya.

Hasil analisis kandungan protein dalam kitosan sisik ikan kakatua menunjukan nilai sebanyak 0%. Nilai ini lebih kecil dari penelitian Nadia *et al* (2014) yang kandungan protein dalam kitosan sebanyak 4,03% dan Rochima *et al* (2016) yang

proteinnya 5,85 %. deproteinasi Proses kandungan (penghilangan kandungan protein) dari sisik ikan kakatua dilakukan menggunakan metode yang telah dimodifikasi. Perendaman dengan larutan NaOH yang lebih lama dan penggantian larutan basa kuat setiap 24 jam berhasil mengkestraksi kandungan protein non-kolagen dalam sisik ikan kakatua. Adapun tahapan yang ditambahkan dalam penghilangan kandungan protein sisik ikan kakatua ini yaitu tahap hidroekstraksi yang bertujuan untuk mengekstraksi kandungan protein kolagen dalam sisik ikan kakatua. Modifikasi metode ini menunjukan hasil yang maksimal dimana kandungan protein pada sisik ikan mencapai 0%, dan memenuhi mutu kitosan sesuai SNI vaitu <5% (BSN, 2013).

# 4

# KEUNGGULAN NANOPARTIKEL

### 4.1 Definisi nanopartikel

Nanopartikel saat ini menjadi atensi para peneliti disebabkan potensi yang dapat dikembangkan dari partikel berskala nano untuk meningkatkan sifat fisik, mekanik dan kimia suatu material tanpa harus merusak struktur atomnya (Guo, 2000).

Pada teknologi nano, suatu partikel didefinisikan sebagai obyek kecil yang berperilaku seperti unit utuh dalam hal penghantaran dan sifat-sifatnya. Menurut Tiyaboonchai (2003) nanopartikel merupakan partikel koloid padat dengan diameter **Aplikasi** berkisar 1 - 1000antara nm. nanoteknologi dimaksudkan untuk menghasilkan material berskala nanometer, mengeksplorasi dan merekayasa karakteristik material tersebut, serta mendesain-ulang material tersebut ke dalam bentuk, ukuran, dan fungsi yang diinginkan. Nanopartikel sebagai partikulat material dengan paling sedikit satu dimensi lebih kecil dari 100 nm mempunyai luas permukaan yang besar terhadap perbandingan volume (Siregar, 2009).

Telah banyak industri yang membuat partikel-partikel yang ukurannya lebih kecil dari 100 nm yang disebut sebagai nanopartikel. Sebuah nano objek adalah sesuatu dengan sekurang-kurangnya mempunyai dimensi ruang yang lebih kecil

dari 100 nm. Berdasarkan definisi tersebut diturunkan pengertian nanopelat (satu dimensi lebih kecil dari 100 nm), dan nanofiber (dua dimensi lebih kecil dari 100 nm), dan nanopartikel (ketiga dimensinya lebih kecil dari 100 nm). Meskipun nanopartikel untuk berbagai material telah dibuat sejak ratusan tahun yang lalu, sebuah nanomaterial yang sangat berbeda dengan yang lainnya berhak mendapat nama itu karena telah ditemukan dan dikarakterisasi secara nanoskopis di era nanoteknologi, graphene dan berbagai bentuknya yang telah dikompakkan. Salah satu penggunaan yang amat penting dari nanofiber dan nanopartikel adalah untuk nanokomposit (Ramsden, 2012).

Material nanopartikel telah banyak menarik peneliti karena material nanopartikel menunjukkan sifat fisika dan kimia yang sangat berbeda dari bulk materialnya, seperti kekuatan mekanik, elektronik, magnetik, kestabilan termal, katalitik dan optik. Ada dua hal utama yang membuat nanopartikel berbeda dengan material sejenis dalam ukuran besar (bulk) yaitu : (a) karena ukurannya yang kecil, nanopartikel memiliki nilai perbandingan antara luas permukaan dan volume yang lebih besar jika dibandingkan dengan partikel sejenis dalam ukuran besar. Ini membuat nanopartikel bersifat lebih reaktif. Reaktivitas material ditentukan oleh atom-atom di permukaan, karena hanya

atom -atom tersebut yang bersentuhan langsung dengan material lain; (b) ketika ukuran partikel menuju orde nanometer, hukum fisika yang berlaku lebih didominasi oleh hukum-hukum fisika kuantum (Abdullah *et al.*, 2008).

### 4.2. Nanopartikel berbasis polimer

Biopolimer memberikan pilihan yang luas sebagai bahan baku pembuatan nanopartikel, baik secara pemilihan jenis biopolimer yang akan digunakan, metode yang tepat, serta modifikasi untuk meningkatkan kestabilan dan reprodusibilitas karakter partikel yang dihasilkan.

Polimer merupakan suatu senyawa dengan berat molekul yang besar dan tersusun atas unit-unit kecil berulang yang disebut monomer (Stevens, 2001). Biopolimer alami terbentuk melalui proses alami yang terjadi di kehidupan sehari-hari, contoh yang paling banyak dijumpai adalah protein, karbohidrat dan turunannya (seperti pati, selulosa, kitin, dan kitosan), dan lain sebagainya.

Kitosan merupakan biopolimer yang telah cukup populer digunakan dalam sistem nanopartikel. Hal ini disebabkan karena kitosan memiliki beberapa sifat khas yang tidak dimiliki oleh polimer lain. Kitosan dilaporkan memiliki kemampuan untuk membuka kait antar sel (*tight junction*) pada membran usus secara sementara (Bhardwaj dan Kumar, 2006; Martien *et al.*, 2008) melalui mekanisme translokasi protein Claudin-4 (Cldn4), Zonnula occludens-1 (ZO-1), dan Occludin dari membran sel ke sitosol sehingga sangat potensial untuk dikembangkan sebagai bahan utama pembuatan nanopartikel yang ditujukan untuk aplikasi per oral. Biokompatibilitas kitosan dikarenakan kitosan merupakan polimer yang diperoleh dari hidrolisis polimer kitin yang berasal sumber alam yang sudah menjadi konsumsi umum pada cangkang hewan laut, sehingga cenderung tidak menimbulkan ketoksikan pada dosis terapi, selain dari sifatnya yang sekaligus biodegradabel.

## 4.3 Pemanfaatan nanopartikel

Pemanfaatan nanopartikel saat ini telah banyak dilakukan dalam berbagai bidang. Pada bidang kesehatan contohnya, penggunaan nanopartikel dilakukan untuk meningkatkan daya serap suatu obat agar lebih efektif penyerapnnya. Salah satu contoh aplikasi penerapan nanopartikel adalah nanopartikel magnetik yang dikendalikan oleh medan-medan eksternal untuk mencapai lokasi tumor, dan diperkuat oleh medan elektromagnetik eksternal untuk menghancurkan sel yang

terhubungan dengan partikel. Nanopartikel sebagai pembawa alat; dan nanopartikel sebagai "sensor" untuk diagnosis.

Nanopartikel sebagai pembawa obat (*drug delivery*) sedang diteliti dan dikembangkan dengan intensif belakangan ini, dan banyak produk yang sedang dalam tahap percobaan klinis. Masalah utama dalam mengembangkan obat baru yang sukses adalah bahwa banyak calon molekul menunjukan interaksi terapis yang baik dengan target (misalnya enzim), namun ternyata sulit larut dalam air. Pengembangan nanopartikel saat ini dalam sistem penghantaran obat tertarget sebagai basis pada sistem penghantaran obat merupakan salah satu pilihan utama karena menjanjikan banyak solusi baru bagi berbagai permasalahan pada penghantaran molekul obat (Martien, 2012).

Dalam bidang pangan penerapan nanoteknologi berawal dari proses pasteurisasi yang diperkenalkan oleh Pasteur untuk membunuh bakteri pembusuk. Ini merupakan langkah awal revolusi dalam pengolahan pangan dan meningkatkan kualitas makanan. Kemudian struktur DNA bedasarkan model Watson dan Crick yang berukuran 2,5 nm membuka gerbang dari aplikasi bioteknologi, biomedikal, pertanian dan proses produksi. Lebih lanjut, penemuan tentang *nanotube* karbon "buckyball fullerene" yang berukuran 1 nm merupakan

penemuan unggulan didunia dan menyebabkan lahirnya era nano sains (Pray et al, 2009).

Nanoteknologi dalam pangan memiliki efek mempengaruhi bioavailabilitas dan nilai nutrisi makanan. Nanoteknologi dapat meningkatkan keamanan pangan, memperpanjang masa simpan, meningkatkan *flavor* dan penghantar nutrisi, memungkinkan sebagai pendeteksi pathogen/racun/pestisida, serta sebagai pangan fungsional (Duran *et al*, 2013). Fungsi pengolahan pangan adalah untuk menghilangkan toksin, pencegahan bakteri pathogen, meningkatkan konsistensi produk agar lebih baik saat penjualan dan pendistrubusian. Hal ini dapat dicapai dengan menggabungkan proses pengolahan dengan teknologi nano. Nanoteknologi memainkan peranan penting dalam pengolahan dan menjaga sifat fungsional produk melalui enkapsulasi, koloid, emulsi, biopolymer dan lain-lain (Abbas *et al*, 2009).

Jain (2008) mengklasifikasikan nanopartikel menjadi lima macam berdasarkan jenis materi partikel yaitu kuantum dot, nanokristal, lipopartikel, nanopartikel magnetik, dan nanopartikel polimer. Kuantum dot merupakan kristal berukuran nano dari suatu bahan semikonduktor yang bersinar atau berfluoresens apabila dikenai dengan cahaya seperti laser. Kuantum dot memiliki sifat tidak stabil dan sulit larut sehingga

penggunaan kuantum dot harus ditanamkan dalam bahan penjerap karet. Beberapa kristal yang sering digunakan sebagai kuantum dot adalah kadmium selenida (CdSe) dan seng selenida (ZnSe). Pembuatan nanopartikel kuantum dot menggunakan gas mikroemulsi pada suhu kamar. Teknik ini memanfaatkan fase terdispersi dari berbagai mikroemulsi untuk beberapa nanoreaktor yang identik. Kuantum dot banyak digunakan sebagai penanda dalam pelacakan protein pada sel hidup, biosensor, ekspresi gen, pengambilan gambar sel hidup secara in vitro, dan melacak keberadaan sel kanker dengan bantuan Magnetic Resonance Imaging (MRI) secara in vivo. Partikel yang termasuk dalam kuantum dot selain CsSe dan ZnSe adalah nanopartikel emas dan nanopartikel silika (SiO2).

Nanopartikel emas digunakan untuk mengetahui keberadaan timbal dalam DNA. Molekul DNA yang melekat pada nanopartikel emas menghasilkan warna biru pada spektroskopi. Keberadaan senyawa timbal mengakibatkan putusnya ikatan molekul DNA dengan nanopartikel emas sehingga menyebabkan perubahan warna menjadi merah.

Nanopartikel emas juga dapat digunakan sebagai biosensor dalam mendeteksi adanya penyakit. Metode biosensor menggunakan nanopartikel emas ini lebih akurat dibanding penggunaan molekul fluoresens lainnya karena lebih banyak salinan antibodi dan DNA yang dapat melekat pad nanopartikel emas. Nanopartikel silika diperoleh dari ekstrak cangkang silika hasil sedimentasi alga. Nanopartikel ini telah digunakan dalam sistem pengantaran obat dan terapi gen (Jain 2008). Lipopartikel adalah matriks berukuran nano yang dikelilingi oleh lipid bilayer dan ditanamkan dalam protein membran integral. Jenis nanopartikel ini digunakan dalam biosensor, pengembangan antibodi, penelitian mengenai struktur reseptor kompleks, dan mikrofluida (Jain 2008).

Nanopartikel magnetik merupakan bahan penting untuk sortasi sel, pemisahan protein, dan pengukuran molekul tunggal. Partikel yang digunakan pada aplikasi tersebut harus memenuhi persyaratan seperti keseragaman ukuran, paramagnetik kuat, dan stabil dalam lingkungan larutan penyangga garam (Jain 2008). Beberapa penelitian mengenai nanopartikel telah diaplikasikan secara luas dalam bidang industri. Pembuatan pipa nano karbon (carbon nanotubes) telah digunakan dalam pembuatan elektroda baterai dan peralatan listrik lainnya (Poole & Owens 2003). Pengembangan nanoteknologi dalam industri tekstil terbukti mampu melindungi kain dari paparan bakteri.

Penggunaan nanopartikel perak oksida (AgO2) tersalut kitosan dapat digunakan sebagai pelindung kain agar warna kain tidak mudah luntur dan lebih tahan terhadap paparan bakteri. Nanopartikel perak oksida tersalut kitosan yang diperoleh dengan metode emulsifikasi ini berdiameter kurang lebih 300 nm. Pengujian antibakteri dilakukan dengan kapas dan menunjukkan aktivitas antibakteri yang tahan lama hingga 20 kali pencucian kapas (Hu *et al.* 2007). Penggunaan nanopartikel dalam bidang pertanian dapat menghindari fitotoksisitas pada tanaman dengan menggunakan herbisida terhadap gulma yg bersifat parasit. Nanopartikel herbisida dapat meningkatkan penetrasi melewati kutikula dan jaringan tanaman dan mengatur pelepasan herbisida dalam gulma (Luque & Rubiales 2009).

Di bidang pangan, penggunaan nanopartikel dengan penyalut seng oksida (ZnO) dapat melindungi senyawa asam linoleat terkonjugasi dan asam linoleat gamma terhadap suhu tinggi diatas 50 °C. Penyalut seng oksida juga dapat mencegah terjadinya autooksidasi pada kedua asam lemak tersebut (Won *et al.* 2008).

Kitosan merupakan salah satu biopolimer yang memiliki peran penting dalam penghambatan mikroorganisme patogen dan pembusuk. Penelitian kitosan telah banyak dilakukan dengan memodifikasi baik secara kimia dengan meningkatkan derajat deasetilisasi, maupun secara fisik dengan mengubah bentuk ukuran dari kitosan yaitu dalam bentuk nanopartikel yang memiliki daya serap lebih baik sebagai antibakteri dan antijamur dari pada kitosan dengan ukuran biasa (Komariah, 2014).

# 4.4 Preparasi Nanokitosan

Preparasi nanopartikel kitosan selama tiga dekade belakangan dilakukan dengan berbagai metode diantarannya koaservasi (Kumbar, 2002; Hao, 2001; Ozbas-Turan, 2002), gelasi ionik (Calvo, 197; Jame, 2001; Pan, 2002; fuente, 2009), mikroemulsi (Maitra, 1999), (Erbacher, 1998), emulsifikasi (Shabouri, 2002), cross-linking (Bodnar, 2005), polimerisasi (Hsu, 2002; Moura, 2008). Para peneliti sampai saat ini tidak mengembangkan metode modifikasi berhenti nanopartikel kitosan karena proses modifikasi nanokitosan dapat dimanipulasi tergantung kebutuhan pemanfaatannya. Berbagai perbedaan metode ini memberikan hasil yang berbeda bagi ukuran partikel maupun struktur molekul partikel kitosan yang terbentuk. Ukuran partikel kitosan umumnya bervariasi antara 50 nm- 500 nm. Namun, hasil yang cenderung didapat dengan metode umum berkisar antara 300-500 nm.

Penelitian nanokitosan sampai saat ini terus dikembangkan, baik dalam penentuan komposisi maupun pencarian metode yang sesuai. Pembuatan nanokitosan yang berstabilitas dan berkualitas tinggi biasanya memerlukan metode yang cukup sulit, maka dilakukan teknik atau metode yang prosesnya lebih efisien dan sederhana untuk memudahkan dalam pembuatan nanokitosan. Pengujian karakteristik nanokitosan dilakukan dengan proses gelasi ionik, serta perlakuan pengecilan ukuran (sizing) dilakukan dengan metode magnetic stirer, metode homogenizer dan metode ultrasonic (Suptijah et al, 2011).

Modifikasi kitosan menjadi nanokitosan dapat dilakukan dengan metode gelasi ionik, yaitu kompleksasi polilekrolit antara kitosan bermuatan positif dengan tripolifosfat (TPP) bermuatan negatif (Suptijah, dkk 2011). Nanokitosan akan ditingkatkan keunggulannya sebagi *edible coating*. Pembuatan nano-coating dilakukan dengan penambahan emulsifier (tween 80) dengan cara sprayer. Setelah homogenisasi, akan dilakukan stabilisasi dengan TPP hingga terbentuk suspense nano-coating dengan ikan pembawa efek antimikroba dan antioksidan. Produk segar target yang telah melalui proses pelapisan atau pengemasan akan diuji; organoleptik (score sheet sesuai SNI 2725.1:2009), TPC (*Total Plate Count*).

Indikator capaian pada tahap ini adalah tersedianya produk teknologi berupa nanomaterial pelapis dan nanomaterial pengemas produk segar yang telah melalui tahap pengujian kelayakan produk.

Pada umunya pembuatan nanopartikel yang menggunakan polimer dapat diklasifikasikan menjadi dua tipe; pertama nanopartikel dibentuk bersamaan dengan polimernya menggunakan reaksi polimerisasi, kedua polimer dibuat terpisah untuk selanjutnya digunakan untuk membuat nanopartikel (Swarbick, 2007).



Gambar 10. Proses preparasi nanokitosan Sumber : Rumengan dkk (2017)

Metode yang paling umum digunakan untuk pembuatan nanopartikel adalah melalui proses gelas ionik. Salah satu contoh

metode gelas ionik adalah mencapurkan polimer kitosan dengan polianion natrium tripolipospat yang menghasilkan interaksi antara muatan positif pada gugus amino kitosan dengan muatan negatif tripolifosfat (Mohanraj & chen, 2006). Terdapat 4 metode pembuatan nanopartikel yang tersedia dengan menggunakan kitosan sebagai polimer yaitu : mikroemulsi, emulsifikasi difusi pelarut, kompleks polielektrolit, gelas ionik.

#### 1. Metode Mikroemulsi

Pada pembuatan nanopartikel menggunakan metode ini kitosan dilarutkan dalam larutan asam. Kemudian surfaktan dilarutkan dalam N-heksan. Larutan kitosan dan glutaraldehid kemudian ditambahkan ke dalam larutan surfaktan dalam Nheksan dengan pengadukan menggunakan pengaduk magnetik pada temperatur kamar. Nanopartikel akan terbentuk dengan adanya surfaktan. Pengadukan dibiarkan selama semalam untuk memaksimalkan proses cross-linking, dimana gugus amin dari kitosan akan berikatan dengan glutaraldehid. Pelarut organik diuapkan dengan penguapan kemudian tekanan rendah. Surfaktan yang masih terkandung di dalam nanopartikel dihilangkan melalui proses presipitasi dengan menggunakan CaCl2 kemudian dihilangkan dengan sentrifugasi. Kemudian suspensi nanopartikel didialisis sebelum dilakukan proses

liofilisasi. Nanopartikel yang dihasilkan dengan menggunakan metode ini memiliki ukuran kurang dari 100 nm dan ukuran partikel tersebut dapat diatur dengan melakukan variasi glutaraldehid yang dapat mengubah *cross-lingking*. Namun metode ini memiliki beberapa kerugian diantaranya penggunaan pelarut organik, lamanya waktu proses pembuatan, dan tahapan pencucian yang kompleks.

#### 2. Metode emulsifikasi difusi pelarut

Pada metode ini pertama dibuat emulsi minyak dalam air dengan cara mencampurkan fase organik sedikit demi sedikit kedalam larutan kitosan yang mengandung penstabil seperti poloxamer dengan pengadukan menggunakan pengaduk magnetik, dilanjutkan dengan homogenisasi tekanan tinggi. Emulsi kemudian dilarutkan ke dalam sejumlah besar fase air. Presipitasi polimer terjadi akibat difusi dari pelarut organik ke dalam fase air, yang mana akan membentuk nanopartikel. Metode ini sesuai untuk zat aktif yang hidrofobik. Kelemahan metode ini adalah penggunaan pelarut organik dan tekanan tinggi selama pembuatan nanopartikel.

#### 3. Metode gelas ionik

Metode gelas ionik melibatkan proses sambung silang aantara polielektrolit dengan adanya pasangan ion multivalennya. Pembentukan ikatan sambung silang ini akan memperkuat kekuatan mekanis dari partikel yang terbentuk. Contoh pasangan polimer yang dapat diguakan untuk gelasi ionik ini antara lain kitosan dengan tripolifosfat dan kitosan (Swabrick dengan karboksimetilselulosa (ed.). 2007). Mekanisme pembentukan nanopartikel berdasarkan interaksi elektrostatik antara gugus amin dari kitosan dan gugus negatif dari polianion seperti tripolifosfat. Proses yang dilakukan diawali dengan melarutkan kitosan dalam asam Kemudian tripolifosfat ditambahkan ke dalam larutan kitosan magnetic stirrer. dengan menggunakan Metode ini memanfaatkan gugus fungsi grup amine (-NH2) pada kitosan untuk cross-linking dengan gugus aldehid dari cross-linking agent. Pada metode ini larutan air dalam minyak disiapkan dengan mengemulsi larutan kitosan di dalam fasa minyak. Hal ini dilakukan agar air dalam minyak dapat membentuk koloid emulsi.

# 4. Komplek Polielektrolit

Mekanisme polielektrolit komplek melibatkan reaksi netralisasi muatan antara polimer kationik dan polimer anionik yang akan membentuk komponen polielektrolit. Beberapa polimer kationik seperti gelatin dan polietilamin juga dapat digunakan pada proses ini. Pada umumnya metode ini menawarkan cara pembuatan yang sederhana. Nanopartikel akan terbentuk secara spontan setelah penambahan larutan polimer anionik kedalam larutan kitosan dalam asam asetat dengan pengadukan magnetik pada temperatur kamar.

## 5

#### KARAKTERISTIK NANOKITOSAN

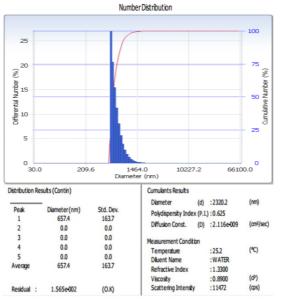
Penentuan karakteristik nanokitosan diperlukan untuk mendapat pengertian mekanis dari perilaku nanokitosan. Ukuran nanopartikel yang sangat kecil memerlukan karakterisasi yang berbeda dengan mikromolekul pada umumnya. Karakterisasi nanokitosan dapat dilakukan secara fisiologi dan struktur fisik. Beberapa karakterisasi fisiologis yang telah dilakukan antara lain stabilitas nanopartikel dalam larutan garam, nilai pH, serta fenomena agregrasi akibat pengaruh suhu dan waktu (Kauper et al. 2007). Poole & Owens (2003) membagi metode karakterisasi fisik nanopartikel menjadi tiga macam yaitu kristalografi, mikroskopi, dan spektroskopi. Kristalografi dengan menggunakan sinar X sangat berguna untuk mengidentifikasi kristal isomorfik yaitu kristal yang memiliki kesamaan struktur tetapi berbeda dalam pola-pola geometrisnya. Karakteristik nanokitosan meliputi distribusi ukuran nanokitosan, morfologi nanokitosan, gugus fungsi, dan kualitas nanokitosan.

#### 5.1 Karakteristik berdasarkan ukuran nanokitosan



Gambar 11. Ukuran partikel nanokitosan sisik ikan sahamia dalam miksroskop. Sumber : Rumengan dkk (2017)

Pada Gambar 11 menunjukkan rata-rata ukuran partikel pada kitosan sisik ikan sahamia yang berada pada range 248 nm - 438 nm. Nilai tersebut telah memenuhi standar nanopartikel berdasarkan definisi Nanopartikel menurut Mohanraj *et al*, 2006 yaitu antara 1-1000 nm. Metode preparasi sangat berpengaruh dalam teknologi pembuatan nanopartikel. Pengecilan ukuran dengan magnetic stirrer dapat menghasilkan partikel yang lebih stabil dengan ukuran yang lebih merata, dibawah 1000 nm (Mayyas dan Al-Remawi 2012).



Gambar 12. Hasil uji PSA nanokitosan sisik ikan kakatua Sumber : Rumengan dkk (2018)

Hasil uji (PSA) *Particle Size Analyser* nanokitosan sisik ikan kakatua menunjukan rata-rata ukuran partikel kitosan sudah berukuran nanometer yaitu 657,4 nm dengan *Polidispersity Index* sebesar 0,625. Distribusi ukuran nanokitosan sisik ikan kakatua sebagian besar sudah berukuran nanometer, tetapi ada beberapa partikel yang masih dalam ukuran mikro meter. Range ukuran partikel nanokitosan ini didominasi partikel dengan ukuran 532,8 nm sebanyak 26,9% dan paling sedikit 1848,6 nm sebanyak 0,1% seperti pada Gambar 12.

Berdasarkan teori Mohanraj dan Chen (2006) ukuran nanokitosan sisik ikan kakatua telah memenuhi standar sebagai partikel yang berukuran nano. Falah *et al.*, (2011) menghasilkan ukuran partikel dengan range 480-2000 nm menggunakan metode ultrasonifikasi.

Ukuran partikel yang belum seragam disebabkan karena proses homogenisasi yang belum maksimal. Diperlukan proses homogenisasi yang lebih lama untuk kesetaraan semua ukuran nanopartikelnya. Ukuran yang masih besar juga disebabkan pengaruh dari proses pengiriman sampel dan lama waktu untuk dianalisis, sehingga memungkinkan terjadinya aglomerasi pada partikel-partikel kitosan. Menurut Martien *et al.*, (2012) beberapa permasalahan yang sering timbul pada preparasi nanopartikel adalah terjadinya agregasi yang cepat dan ukuran partikel yang tidak merata, sehingga stabilitas sistem dispersi menjadi sulit dikontrol. Permasalahan dapat diatasi dengan melakukan karakterisasi secara menyeluruh pada nanopartikel. Ukuran yang masih besar juga dipengaruhi oleh kosentrasi antara kitosan dan Tripolifosfat (TPP).

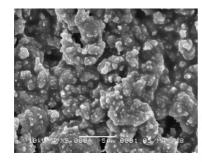
Tripolifosfat yang digunakan dalam proses preparasi nanokitosan berperan sebagai zat pengikat silang sehingga dapat memperkuat matriks nanokitosan (Wahyono 2010). Perbedaan waktu proses pengecilan ukuran partikel, aktivitas bahan emulsifier dan bahan pengstabil juga dapat mempengaruhi variasi ukuran partikel. Pada proses preparasi nanokitosan sisik ikan kakatua ini menggunakan *homogenizier* dengan kecepatan putaran 20.000 *rpm*. Besarnya nilai *rpm* menyebabkan waktu preparasi nanokitosan lebih singkat yaitu 15 menit, jika dibandingkan dengan metode preparasi nanokitosan lainnya yang membutuhkan waktu lebih dari 2 jam dengan kecepatan putaran 2000 *rpm*.

Pengaruh pengecilan ukuran partikel dengan magnetik stirrer pada kecepatan tinggi dapat menyamaratakan energi yang diterima oleh seluruh bagian larutan, sehingga ukuran partikel semakin homogen. Penambahan tripolipospat yang tepat dapat menurunkan ukuran nanopartikel dan meningkatkan kekuatan matriks kitosan sehingga membuat nanopartikel semakin kuat dan sulit terpecah (Du *et al.* 2009).

Larutan kitosan yang telah tercampur dengan tripolipospat ditambah dengan Tween 80. Penambahan Tween 80 sebagai surfaktan berfungsi untuk menstabilkan emulsi partikel dalam larutan dengan cara mencegah timbulnya penggumpalan (aglomerasi) antar partikel (Keuteur 1996). Partikel-partikel kitosan di dalam larutan terselimuti dan terstabilkan satu dengan

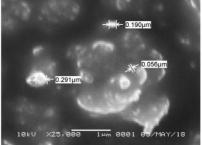
yang lain karena adanya surfaktan, sehingga proses pemecahan partikel akan semakin efektif dan tidak terjadi aglomerasi (Xu dan Du 2003). Metode preparasi sangat berpengaruh dalam teknologi pembuatan nanokitosan. Pengecilan ukuran dengan magnetic stirrer dapat menghasilkan partikel yang lebih stabil dengan ukuran yang lebih merata, dibawah 1000 nm (Mayyas dan Al-Remawi 2012).

### 5.2 Karakteristik berdasarkan morfologi nanokitosan melalui uji Scaning Electron Microscopy



Α

Gambar 13. Hasil Uji SEM dari s perbesaran (A) 50005 Sumber : Rumengan



Nanokitosan yang dihasilkan memiliki bentuk partikel koloid padat berupa bulatan-bulatan kecil. Tiyaboonchai (2003) menyatakan bahwa nanopartikel merupakan partikel koloid

padat dengan diameter berkisar antara 1–1000 nm. Hasil morfologi nanokitosan sisik ikan kakatua seperti pada Gambar 13 telah sesuai standar morfologi nanopartikel. Ukuran nanopartikel pada uji SEM memiliki interval ukuran 56 nm – 291 nm dan menunjukkan bentuk yang bulat pipih serta memperlihatkan struktur dengan pori-pori yang tampak kecil dan permukaan yang padat. Pada metode gelasi ionik, kitosan dilarutkan dalam larutan asam encer untuk memperoleh kation kitosan. Larutan tersebut kemudian ditambahkan dengan meneteskan ke dalam larutan polianionik TPP. Akibat kompleksasi antara muatan yang berbeda, kitosan mengalami gelasi ionik dan presipitasi membentuk partikel bulat seperti bola (Tiyaboonchai, 2003). Hasil morfologi nano kitosan sudah sesuai standar yaitu berbentuk partikel yang bulat (sferis).

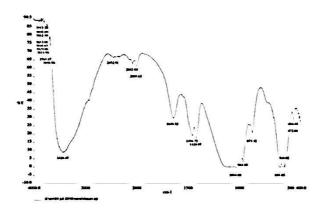
Metode mikroskopi dapat digolongkan menjadi mikroskop elektron transmisi, mikroskop elektron payar, dan mikroskop Karakterisasi dengan medan ion. spektroskopi menggunakan fotoemisi, spektroskopi resonansi magnetik, spektroskopi infra merah (Fourier Transform Infra Red/ FTIR), dan spektroskopi sinar X (X ray diffractometry/ XRD). digunakan Mikroskop elektron (SEM) dalam payaran pengamatan morfologi dan penentuan ukuran nanopartikel.

Metode ini merupakan cara yang efisien dalam memperolah gambar permukaan spesimen.

Cara kerja mikroskop ini adalah dengan memancarkan elektron ke permukaan spesimen. Informasi tentang permukaan partikel dapat diperoleh dengan pengenalan *probe* dalam lintasan pancaran elektron yang mengenai permukaan partikel. Informasi juga dapat dibawa oleh *probe* yang menangkap elektron pada terowongan antara permukaan partikel spesimen dengan tip *probe* atau sebuah probe yang menangkap gaya dorong antara permukaan dengan tip *probe* (Poole & Owens 2003).

#### 5.3. Karakteristik berdasarkan uji FTIR nanokitosan

Berdasarkan analisis FTIR (Gambar 14) diperoleh data adanya vibrasi pada bilangan gelombang 3428,47; 2452,91; 2082,84; 2005,63; 1645,52; 1456,72; 1420,97; 1034,08; 964,10; 873,32; 601,05; 560,02; 472,01; dan 416,45 cm<sup>-1</sup>.



Gambar 14. Hasil analisis FTIR nanokitosan sisik ikan kakatua Sumber : Rumengan dkk (2018)

Spektra FT-IR pada nanokitosan menunjukan adanya serapan pada bilangan gelombang 3428,47cm<sup>-1</sup> (*bending*) yang menunjukkan adanya gugus OH dari ikatan hidrogen; 2452,91 untuk gugus fungsi CH (*Streching*), dan 1645,52 untuk gugus fungsi –NH (*Streching*), CC-2005,63 cm<sup>-1</sup> (*Streching*). Tidak terdapat serapan gugus fungsi C=O yang merupakan gugus fungsi kitin. Perbandingan hasil uji FTIR kitosan dan nanokitosan sisik ikan kakatua tersaji pada Tabel 6 di bawah ini.

Tabel 6. Perbandingan bilangan geometrik uji FTIR kitosan dan nanokitosan sisik ikan kakatua

Gugus	Kitosan	Nanokitosan	Standar	Keterangan
fungsional				
-OH	3442,42	3428,47	3500-	Bending
			3300	
-CH	2925,52	2452,91	3000-	Stretching
			2800	
-CC	1997,49	2005,63	1820-	Stretching
			1640	
-NH	1649,76	1645,52	1693-	Stretching
			1630	
C=O	-	-	1815-	Stretching
			1781	

Hasil uji FTIR kitosan dan nanokitosan dari sisik ikan kakatua tetap menunjukkan gugus fungsi kitosan yang konstan. Perbedaan terlihat hanya pada serapan bilangan geometrik.

Spektroskopi infra merah (FTIR) digunakan untuk mengidentifikasi gugus kompleks dalam senyawa tetapi tidak dapat menentukan unsur-unsur penyusunnya. Pada FTIR, radiasi infra merah dilewatkan pada sampel. Sebagian radiasi sinar infra merah diserap oleh sampel dan sebagian lainnya diteruskan. Jika frekuensi dari suatu vibrasi spesifik sama dengan frekuensi radiasi infra merah yang langsung menuju molekul, molekul akan menyerap radiasi tersebut. Spektrum yang dihasilkan

menggambarkan penyerapan dan transmisi molekuler. Transmisi ini akan membentuk suatu sidik jari molekuler suatu sampel. Karena bersifat sidik jari, tidak ada dua struktur molekuler unik yang menghasilkan spektrum infra merah yang sama (Kencana 2009)

## 5.4 Karakteristik berdasarkan pengujian logam berat nanokitosan

Kitosan dapat digunakan sebagai penyerap logam. Kemampuan kitosan untuk menyerap logam dengan cara pengkhelatan yang mana ini dipengaruhi oleh kandungan Nitrogen yang tinggi pada rantai polimernya. Kitosan mempunyai satu kumpulan amino linier bagi setiap unit glukosa. Kumpulan amino ini mempunyai sepasang elektron yang dapat berkoordinat atau membentuk ikatan- ikatan aktif dengan kation-kation logam. Metode penyerapan logam oleh kitosan dapat dilakukan oleh dua cara yaitu: melalui metode pelarutan dan metode perendaman (Alfian, 2003).

Hasil analisis nanokitosan sisik ikan kakatua menunjukkan tidak terdeteksinnya senyawa Merkuri (Hg), Timbal (Pb), dan Kadmium (Cd) yang merupakan senyawa logam berat pada nanokitosan. Hal ini sesuai dengan pendapat dari Muzzarelli, 1997 yang menyatakan bahwa kitosan merupakan biopolimer

alam yang bersifat polielekt rolit kationik yang berpotensi tinggi untuk penyerapan logam dan mudah terbiodegredasi serta tidak beracun. Kemampuan nanokitosan sebagai adsroben logam berat membuka peluang pemanfaatannya kedepan.

## 6

# NANOKITOSAN SEBAGAI PENGEMAS PRODUK PERIKANAN

Produk segar umumnya memiliki sifat mudah rusak sehingga memiliki umur simpan yang relatif pendek, berakibat pada penurunan nilai ekonomi hingga penolakan konsumen (Kim, 2011). Dewasa ini, berbagai metode banyak dilakukan untuk memperpanjang daya awet produk segar bahkan hingga penggunaan produk pengawet kimia berbahaya yang pada akhirnya berdampak buruk bagi kesehatan konsumen (Abdulah dkk, 2008).

Ikan merupakan salah satu produk pangan yang sangat mudah rusak. Pembusukan ikan terjadi segera setelah ikan ditangkap atau mati. Pada kondisi suhu tropik, ikan membusuk dalam waktu 12-20 jam tergantung spesies, alat atau cara penangkapan. Proses pembusukan pada ikan disebabkan oleh aktivitas enzim, mikroorganisme, dan oksidasi dalam tubuh ikan itu sendiri dengan perubahan seperti timbul bau busuk, daging menjadi kaku, sorot mata pudar, serta adanya lendir pada insang maupun tubuh bagian luar. Tubuh ikan yang mengandung kadar air tinggi (80%) dan pH tubuh mendekati netral, memudahkan tumbuhnya bakteri pembusuk.

Pada dasarnya pengawetan ikan bertujuan untuk mencegah bakteri pembusuk masuk ke dalam ikan. Biasanya untuk memperpanjang masa simpan ikan sebelum sampai ke konsumen, nelayan memberi es sebagai pendingin. Namun, penggunaan bahan tambahan pangan sebagai pengawet yang tidak diijinkan untuk digunakan dalam makanan seperti formalin dapat memberikan efek buruk bagi kesehatan. Keamanan produk pangan memerlukan penggunaan anti mikroba yang tepat dalam memperpanjang umur simpan. Untuk itu diperlukan bahan anti mikroba alternatif lain dari bahan alami yang tidak berbahaya bila dikonsumsi serta dapat menghambat pertumbuhan mikroba dalam produk sehingga berfungsi untuk menghambat kerusakan pangan akibat aktivitas mikroba.

Kitosan merupakan senyawa alami yang dapat digunakan untuk memperpanjang daya awet produk segar, karena memiliki aktifitas antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme perusak dan memiliki karakter pelapis yang baik ııntıık meminimalkan interaksi produk dengan lingkungannya konsumen (Kim, 2011). Menurut Muzzarelli (1985) kitosan akan bermuatan positif dalam larutan karena adanya gugus amina, tidak seperti polisakarida lainnya yang pada umumnya bermuatan negatif atau netral. Hal ini menyebabkan kitosan dapat menarik molekul-molekul yang bermuatan parsial negatif seperti minyak, lemak dan protein. Biasanya kitosan diaplikasikan pada bahan makanan dengan cara pelapisan (coating) (Harianingsih, 2010). Kitosan mengandung enzim lisosim dan gugus amino polisakarida yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Gugus amino polisakarida yang muatan positif (polikation) digunakan untuk mengikat bakteri dan kapang yang bermuatan negatif sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan kapang (Wardaniati & Setianingsih, 2014)

Riset pengembangan nanokitosan berasal dari sisik ikan telah dilaksanakan dengan tujuan untuk; (1) mendapatkan nanokitosan dari limbah sisik ikan, (2) membuat nanokitosan pelapis produk segar, (3) membuat nanokitosan pengemas produk segar, dan (4) menghitung kelayakan produksi dan pasar atas produk yang dihasilkan.

Menurut Krochta (1992) dalam Harianingsih (2010), teknik aplikasi pelapisan pada pangan (*coating*) terdiri atas 4 cara yaitu:

#### 1. Pencelupan (dipping)

Teknik ini biasanya digunakan pada produk yang memiliki permukaan yang kurang nyata, dan biasanya digunakan pada daging, ikan, produk ternak, buah dan sayuran. Setelah pencelupan, kelebihan bahan *coating* dibiarkan terbuang. Produk kemudian dibiarkan dingin sampai *edible coating* menempel.

#### 2. Penyemprotan (*Spraying*)

Teknik ini digunakan untuk produk yang memiliki dua sisi permukaan seperti pizza. Teknik penyemprotan dapat menghasilkan produk dengan lapisan yang lebih tipis dan lebih seragam daripada teknik pencelupan.

#### 3. Pembungkusan (*Casting*)

Teknik ini digunakan untuk membuat lapisan film yang berdiri sendiri, terpisah dari produk.

#### 4. Pengolesan (*Brushing*)

Teknik ini dilakukan dengan cara mengoles *edible coating* pada produk. Bahan pangan dapat tercemar oleh bakteri patogen dari air irigasi yang tercemar limbah, tanah, atau kotoran hewan yang digunakan sebagai pupuk.

#### 6.1 Pengwet alami ikan segar

Uji coba penerapan nanokitosan pada produk segar berupa filet ikan nila segar telah dilakukan dengan cara spraying dengan tujuan terbentuk semacam pelapis yang sekaligus sebagai pengawet alami. Perlakuan diberikan dengan masingmasing 3 ulangan.

Tabel 7. Hasil Analisis Angka Lempeng Total Sampel Fillet Ikan Nila yang diberi perlakukan dengan nanokitosan sisik ikan dan udang

Sampel Filet Ikan Nila	Angka Lempeng Total
Kontrol	$8,55 \times 10^7$
Nanokitosan Sisik ikan	$3,51 \times 10^7$
Nanokitosan cangkang udang	$5.83 \times 10^7$

Sumber: Rumengan dkk (2017)

Berdasarkan data pada Tabel 7, menunjukkan kemampuan nanokitosan dari sisik ikan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan fillet ikan segar melalui pengujian Total Plate Count (TPC). Nanokitosan dari sisik ikan terbukti lebih unggul dibandingkan nanokitosan dengan bahan dasar cangkang udang.

Kitosan mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif yang diisolasi dari produk perikanan sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan daya simpan produk perikanan (Cruz *et al*, 2006). Hasil penelitian Alishahi (2014) menunjukkan bahwa nano kitosan menghasilkan nilai

total mikroba aerob yang lebih rendah dibandingkan dengan kitosan biasa. Kitosan dalam bentuk nanopartikel memiliki efektivitas antibakteri yang lebih tinggi daripada kitosan biasa karena nano kitosan memiliki luas permukaan dan volume yang lebih besar. Qi *et al.* (2004) menyatakan bahwa nano kitosan berpotensi sebagai agen antibakteri pada industri obat dan makanan.

#### 6.2 Pengasapan Ikan

Pengasapan merupakan suatu cara pengolahan dengan memanfaatkan kombinasi perlakuan pengawetan dan pemberian senyawa pengeringan kimia dari hasil pembakaran bahan bakar alami (Wibowo, 2000). Pada umumnya metode pengasapan yang digunakan dalam pengolahan ikan adalah pengasapan panas dengan suhu sekitar 70-80° selama 3-5 jam. Oleh karena itu ikan asap yang dihasilkan dari proses pengasapan panas tidak mampu bertahan lama, karena masih mengandung kadar air yang tinggi (Irawan, 1995). Pada umumnya cakalang asap di Manado banyak terdapat di pasar tradisional dan ada juga sebagian sudah terjual di supermarket. Sebagai produk akhir, ikan asap diperoleh belahan memanjang berwarna coklat kemerahan, mengkilap, berbau khas ikan bakar,

daging bagian luar agak keras, dan mempunyai daya awet 1-2 hari, hal ini dikarenakan suhu penyimpanan dilakukan pada suhu kamar yaitu 25-32°C dan daya tahannya tidak lama karena sudah mengalami pembusukan dan ditumbuhi kapang (Tumonda, 2017).

Cara pengolahan yang kurang saniter dan higienis serta kondisi penyimpanan yang kurang baik dapat menyebabkan produk ikan cakalang asap sangat rentan mengalami kerusakan mikrobiologis. Kerusakan ini dapat menyebabkan pembusukkan produk baik oleh bakteri atau jamur. Kerusakan ikan asap terutama disebabkan oleh pertumbuhan mikroba karena kondisi penyimpanan yang tidak tepat. Kerusakan ini tidak selalu menyebabkan keracunan pangan. Jika yang tumbuh adalah mikroba pembusuk, maka akibat yang ditimbulkan adalah kerusakan produk yang membuat produk tidak layak lagi untuk dikonsumsi. Beberapa kerusakan ikan asap antara lain pembentukan bau asam, pembentukan spot-spot berwarna putih lain dipermukaan ikan, pembentukan lendir, atau warna pembentukan gas, dan pembentukan flavor tengik (Siswina, 2011).

Penerapan teknologi pengasapan ikan mengacu pada hasil riset (Salindeho *et al*, 2014) seperti yang diperlihatkan pada

Gambar 15 dengan bahan pengasap utama yang digunakan oleh produsen menggunakan sabut kelapa, dimana ketersediaannya cukup melimpah, dan dapat menghasilkan asap dan panas yang tahan relative lama sehingga mampu mengasapi ikan dalam jumlah yang banyak. Tungku pengasapan berupa batang besi dipasang vertikal dan kayu dipasang melintang tempat menggantungkan ikan yang akan diasapkan. Lama waktu pengasapan sedkitar 3 jam, tanpa penambahan garam. Untuk jenis ikan cakalang akan dibelah dua dan dijepit dengan bambu. Ikan-ikan yang lebih kecil seperti tandipang dan ikan teri akan dibuatkan semacam rak di atas tungku, dan ikan cukup ditebar di atasnya. Banyaknya jumlah bahan pengasap yang digunakan dalam satu kali pengasapan sebanyak 60 kg sedangkan penambahan bahan pengasap tiga kali dalam satu kali pengasapan (Salindeho dan Mamuaja, 2015)



Gambar 15. Proses Pengasapan Ikan Cakalang

#### 6.3 Aplikasi nanokitosan sebagai edible coating

Untuk mempertahankan mutu ikan cakalang asap maka perlu dilakukan edible coating. *Edible coating* merupakan pelapisan yang mampu menjaga kualitas serta memperpanjang daya simpan, salah satu edible coating yang bisa digunakan adalah kitosan. Kitosan terbuat dari cangkang krustasea, sifatnya yang tidak beracun, bersifat antibakteri, antioksidan, dan pembentuk film. Kitosan dapat digunakan sebagai bahan tambahan makanan alami (Majeti dan Kumar, 2000). Sisik ikan juga dapat dijadikan bahan dasar pembuatan kitosan. Sisik ikan terdiri dari dua lapisan, yaitu lapisan luar tipis merupakan epidermis yang dibentuk oleh sel-sel epitel dan lapisan bawah terdiri dari dermis, kutin dan korium dimana terdapat sel-sel yang mengandung kitin (Faridah, 2012).

Aplikasi nanoteknologi membuat revolusi baru dalam dunia industri, nanoteknologi meliputi usaha dan konsep untuk menghasilkan material atau bahan berskala nanometer, mengeksplorasi dan merekayasa karakteristik material atau bahan tersebut, serta mendesain ulang ke dalam bentuk, ukuran dan fungsi yang diinginkan. Nanokitosan adalah nanopartikel dari kitosan yang memiliki daya serap lebih baik dan

kemampuan yang lebih baik sebagai antibakteri dan antijamur daripada kitosan dengan ukuran biasa (Komariah, 2014)

#### a. Analisis total jamur produk ikan asap

Berdasarkan Tabel 8 dapat dilihat bahwa total jamur mengalami peningkatan selama 4 hari penyimpanan. Ikan cakalang asap yang direndam dengan nanokitosan sebelum diasap memiliki pertumbuhan jamur paling sedikit yaitu 2,48 x 10<sup>3</sup> selama penyimpanan dibandingkan dengan sampel perlakuan yang lainnya. Secara umum dapat disimpulkan bahwa menghambat pertumbuhan nanokitosan dapat jamur dibandingkan dengan ikan cakalang asap yang tidak diberi perlakuan nanokitosan (Rumengan dkk, 2018)

Tabel 8. Analisis total jamur nanokitosan pada ikan asap

Perlakuan	Hari ke-0	Hari ke-2	Hari ke-4
Kontrol	< 10	$6.2 \times 10^3$	$2.97 \times 10^4$
Sebelum Diasap	0	$1.65 \times 10^{1}$	$2.48 \times 10^3$
Sesudah Diasap	< 10	$8.26 \times 10^2$	$7.44 \times 10^3$
Sebelum dan Sesudah Diasap	< 10	$3.30 \times 10^3$	$3.18 \times 10^4$

Jamur atau kapang adalah kelompok mikroba yang tergolong dalam fungi multiseluler yang membentuk filamen (miselium) dan pertumbuhannya pada makanan mudah dilihat karena penampakannya yang berserabut dan seperti kapas (Fardiaz, 1992). Kerusakan ikan asap terutama disebabkan oleh pertumbuhan mikroba karena kondisi penyimpanan yang tidak tepat. Kerusakan ini tidak selalu menyebabkan keracunan pangan. Jika yang tumbuh adalah mikroba pembusuk, maka akibat yang ditimbulkan adalah kerusakan produk yang membuat produk tidak layak lagi untuk dikonsumsi. Tetapi, penting dipahami bahwa beberapa kondisi penyimpanan yang menyebabkan pertumbuhan mikroba pembusuk juga dapat menyebabkan tumbuhnya mikroba patogen penyebab keracunan pangan (Sulistijowati, 2011)

Kitosan merupakan bahan antibakteri yang dapat digunakan sebagai bahan pengawet pada bahan pangan. Ada beberapa factor yang mempengaruhi keaktifan kitosan terhadap mikroba, meliputi sifat intrinsic dan ekstrinsik. Makin tinggi tingkat asetilisasi dari kitosan maka makin aktif sifat antibakterinya. Aktivitas kitosan terhadap mikroba lebih cepat kepada jamur, dan alga diikuti oleh bakteri. (Rabea, 2003)

Kitosan dapat memecah dinding sel mikroba sehingga tidak berkembang. Mekanisme yang berlaku bahwa kitosan mempunyai sifat anti mikroba karena kitosan berbentuk membran berpori yang dapat menyerap air pada makanan, sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba di dalam makanan tersebut. Disamping itu kitosan mempunyai gugus fungsional amina (-NH) yang bermuatan positif sangat kuatyang dapatmenarik molekul amino asam bermuatan negative pembentuk protein dalam mikroba. Gugus fungsional amina juga memiliki pasangan elektron bebas sehingga dapat menarik mineral Mg<sup>2+</sup>yang terdapat pada ribosom dan mineral ea2+ yang terdapat pada dinding sel mikroba membentuk ikatan kovalen koordinasi. Hal menjadikan tersebut kitosan mengakibatkan timbulnya keboeoran konstituen intraseluler sehingga mikroba tersebut akan mati (Sarwono, 2010).

#### b. Analisis Total Plate Count (TPC) produk ikan asap

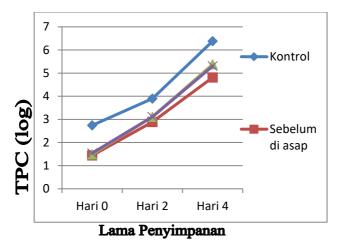
Hasil analisis *total plate count* (TPC) ikan cakalang asap dapat dilihat pada Tabel 9

Tabel 9. Hasil Analisis *Total Plate Count* Ikan Cakalang Asap

Perlakuan	Hari ke-0	Hari ke-2	Hari ke-4
Kontrol	$5,5 \times 10^2$	$8,0 \times 10^3$	$2,4 \times 10^6$
Sebelum Diasap	$2.8 \times 10$	$7.9 \times 10^2$	$6.5 \times 10^4$
Sesudah Diasap	3,1 x 10	$1,3 \times 10^3$	$2,4 \times 10^5$
Sebelum dan	$3,5 \times 10$	$1,3 \times 10^3$	$2.0 \times 10^5$
Sesudah Diasap			

Sumber: Rumengan dkk (2018)

Berdasarkan hasil analisis dapat dilihat bahwa *total plate count* pada awal penyimpanan berturut-turut pada sampel kotrol, sebelum diasap, sesudah diasap, sebelum dan sesudah diasap adalah 5,5 x 10<sup>2</sup>, 2,8 x 10, 3,1 x 10, 3,5 x 10. Pada penyimpanan hari ke-2 mulai ada peningkatan *total plate count* pada setiap perlakuan, dimana nilai tertinggi terdapat pada sampel control yaitu 8,0 x 10<sup>3</sup> sedangkan yang terendah terdapat pada sampel perendaman dengan nanokitosan sebelum diasap, yaitu 7,9 x 10<sup>2</sup>. *Total plate count* semakin meningkat pada hari ke-4, dimana nilai tertinggi terdapat pada sampel control, yaitu 2,4 x 10<sup>6</sup>, sedangkan yang terendah terdapat pada sampel sebelum diasap, yaitu 6,5 x 10<sup>4</sup>.



Gambar 16. Hasil Analisis *Total Plate Count* Ikan Cakalang Asap Selama Penyimpanan

Hasil analisis juga menunjukkan bahwa ikan cakalang asap dengan perlakuan perendaman nanokitosan dapat menekan laju pertumbuhan total mikroba dibandingkan dengan ikan cakalang asap yang tanpa perendaman nanokitosan selama penyimpanan hari. Perlakuan nanokitosan sebelum diasap memilki laju pertumbuhan mikroba terendah, yaitu 1,4 x 10<sup>2</sup> sedangkan sampel tanpa nanokitosan memilki laju pertumbuhan yang paling tinggi, yaitu 5,6 x 10<sup>3</sup>. Hal ini disebabkan karena sifat kitosan sebagai antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme perusak dan sekaligus melapisi

produk yang diawetkan sehingga terjadi interaksi yang minimal antara produk dan lingkungannya.

SNI 2725:2013 tentang Ikan Asap dengan Pengasapan Panas, menyebutkan bahwa batas maksimal *total plate count* adalah 5.0 x 10<sup>4</sup>. Jadi dapat diketahui bahwa ikan cakalang asap tanpa dan dengan perlakuan perendaman nanokitosan sudah tidak layak dikonsumsi pada hari ke-4. Akan tetapi dapat dilihat juga bahwa secara keseluruhan bahwa ikan cakalang asap yang diberi perlakuan perendaman nanokitosan sisik ikan kakatua dapat menghambat mikroba, sehingga dapat menambah daya simpan ikan cakalang asap. Hal ini sesuai dengan sifat kitosan sebagai antimikroba seperti yang dilaporkan Killay (2013), dimana kitosan sebagai senyawa bioaktif dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada produk pangan.

Kitosan memilki sifat antimikroba karena mampu menghambat bakteri pathogen dan mikroorganisme pembusuk, termasuk jamur, bakteri gram positif dan negatif.. Sifat afinitas antimikroba dari kitosan dalam melawan bakteri atau mikroorganisme tergantung dari berat molekul dan derajat deasetilasi. Berat molekul dan derajat deasetilasi yang lebih besar menunjukkan aktifitas antimikroba yang lebih besar. Kitosan memiliki gugus fungsional amina (-NH<sub>2</sub>) yang bermuatan positif yang sangat reaktif, sehingga mampu berikatan dengan dinding sel bakteri yang bermuatan negatif. Ikatan ini terjadi pada situs elektronegatif di permukaan dinding sel bakteri. Selain itu, karena NH<sub>2</sub> juga memiliki pasangan elektron bebas, maka gugus ini dapat menarik mineral Ca<sup>2+</sup> yang terdapat pada dinding sel bakteri dengan membentuk ikatan kovalen koordinasi. Bakteri gram negative dengan lipopolisakarida dalam lapisan luarnya memiliki kutub negatif yang sangat sensitive terhadap kitosan. (Killay, 2013).

Kondisi penyimpanan produk bahan pangan akan mempengaruhi jenis bakteri yang mungkin berkembang dan menyebabkan kerusakan. Penyimpanan suhu ruang dapat mempercepat proses pembusukan. Hal ini disebabkan bakteri yang terdapat pada ikan dapat melakukan metabolisme secara sempurna. Karena aktivitas antimikrobanya, kitosan dapat menghambat pertumbuhan berbagai mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan ragi (Sagoo *et al.* 2002).

## 7 PENUTUP

Eksploitasi potensi molekuler kitosan dengan pendekatan nanoteknologi merupakan suatu inovasi dalam pengembangan bioindustri, karena memberi nilai tambah pada kitosan sebagai Dengan nanoteknologi, membuka biomaterial. peluang terobosan ilmu pengetahuan dan teknologi, bahwa sifat-sifat dan performansi material dalam skala nano menjadi lebih efektif, efisien, dan berdaya guna. Partikel koloid nanokitosan yang berukuran nano akan dapat meresap ke pori-pori produk perikanan secara lebih efisien, memaksimalkan aktivitas antimiroba yang dimiliki kitosan. Selain itu penerapan nanoteknologi dapat memunculkan karakteristik fungsional viscoelastic, biocompatible, pseudoplastic, biodegradable sehingga mudah berinteraksi dengan molekul organik dan tidak bersifat toksik bagi tubuh.

Riset menyangkut ekstraksi kitin yang dimodifikasi menjadi kitosan dan selanjutnya diproses menjadi nanokitosan telah dilakukan terhadap 6 spesies ikan (5 spesies ikan air laut dan 1 spesies ikan air tawar). Dengan prosedur ekstraksi kitin, ternyata memungkinkan diperoleh pula senyawa fungsional lainnya seperti kolagen dan gelatin yang walaupun menjadi penyebab lambatnya perolehan kitin, namun hal ini justru membuka area diversifikasi produk ke depan. Semua produk kitosan dari sisik

ikan telah dikarakterisasi dan terbukti dengan hasil analisis FTIR sesuai dengan struktur standar kitosan kecuali pada kitosan dari sisik ikan sahamia yang masih perlu dimurnikan. Nanokitosan yang terkarakterisasi sampai ukuran partikel nano berasal dari sisik ikan kakatua,salem dan sahamia.

Beberapa hal yang masih perlu ditindak-lanjuti kedepan antara lain terkait peluang memproduksi nanokitosan untuk skala lebih besar sebagai biomaterial industry pangan dan atau kosmetika. Kajian nanopartikel hibrid, kitosan dan kolagen, dan atau dengan ekstrak herbal yang mengandung senyawa bioaktif akan menjadi topik riset yang inovatif ke depan. Pengembangan bahan pengemas produk segar perlu dihilirisasi sampai ke tingkat komersialisasi untuk mendukung pengembangan produk unggulan daerah agar berdaya saing tinggi di era MEA ini.

- Alfian, Zul . 2003. Studi Perbandingan Penggunaan Kitosan Sebagai Adsorben dalam Analisis Logam Tembaga (Cu2+) dengan Metode Pelarutan dan Perendaman. Jurnal Sains Kimia 7 (1): 15-17.
- Abbas, KA., A.M. Saleh, A. Mohammed, and N. Mohdazhan. 2009. The Recent Advances in the Nanotechnology and Its Applications in Food Processing: A Review. Journal of Food, Agriculture, and Environment 7(3): 14-17.
- Amelia, A. 1991. Pemanfaatan Kitosan Sebagai Pengikat Logam Krom Dalam Limbah Cair Industri Penyamakan Kulit Dengan Metode Kolom dan Sentrifugasi. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- Alishahi A. 2014. Antibacterial effect of chitosan nanoparticle loaded with nisin for the prolonged effect. Journal of Food Safety. 34(2014): 111-118.
- Bhumkar, D.R. dan Pokharkar, V.B., 2006, Studies on Effect of pH on Crosslinking of Chitosan with Sodium Tripolyphosphate: A Technical Note, AAPS PharmSciTech., 7(2), E1-E6
- Burhanuddin, A.I. 2014. Ikhtiologi, Ikan dan Segala Aspek Kehidupannya.Deepublish : Yogyakarta.
- Badan Standardisasi Nasional [BSN]. 2013. SNI 7949 : 2013. Kitosan-SyaratMutu dan Pengolahan. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Berger J *et* al. 2004. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. Eur J Pharm Biophram 57:193-194.

- Cruz Z, Lauzon H, Arboleya JC, Nuin M, de Maranon IM, Amarita F. 2006. Antimicrobial effect of chitosan on micro-organisms isolated from fishery products, *dalam*: Luten JB *et al.* (Editor). Seafood Research from Fish to Dish: Quality, Safety and Processing of Wild and Farmed Fish. 387-393.
- Chung YC, Su YP, Chen CC, Jia G, Wang HL, Wu JC, Lin JG. 2004. Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. Pharmacol Sin 2004 Jul; 25 (7): 932-936)
- Du WL, Niu SS, Xu YL, Xu ZR, Fan CL. 2009. Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions. Journal Carbohydrate Polymers 12(75):385-389
- Fardiaz D. 198. Hidrokoloid. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Falah, S., Sulistiyani, dan D. Andrianto. 2011. Karakteristik dan aktivitas antioksidan nanopartikel ekstrak kulit mahoni tersalut kitosan. Prosiding hasil-hasil penelitian IPB. Bogor: IPB
- Guo, L. 2000. Highly Monodisperse Polymer-capped ZnO Nanoparticles:Preparation and Optical Properties. Applied Physics Letter
- Guibal, E. 2004. Interactions of Metal Ions with Chitosan-Based Sorbents; a review. Separation & Purification Technology. 38:43-74
- Haryono., Abdullah., I. Sumantri. 2008. Pembuatan kitosan Dari Limbah Cangkang Udang Serta Aplikasinya Dalam Mereduksi Kolesterol Lemak Kambing. J.Reaktor. Vol. 12 (1) hal. 53-57

- Harianingsih. 2010. Pemanfaatan limbah cangkang kepiting menjadi kitosan sebagai bahan pelapis (coater) pada buah stroberi. *Tesis*. Universitas Diponegoro.
- Henriette M.C. Azeredo, Douglas de Britto, and Odílio B. G. Assis, 2010. Chitosan Edible Films and Coating Review. Embrapa Tropical Agroindustry, Fortaleza, CE, Brazil, ISBN 978-1-61728-831-9
- Hein, S. C., C. Ng., W. F. Steven., K. Wang. 2007. Selection of a Practical Assay for the Determination of the Entire Range of Acetyl Content in Chitin and Chitosan: UV Spectrophotometry with Phosphoricn Acid as Solvent. Wiley Interscience.
- Hu, Y.,& Jiang,X.2002. synthesis and characterization of chitosan-poly(acrylic acid) nanoparticles. Biomaterials 23(15):3193-3201
- Hui Liu, Yumin Du, Xiaohui Wang, Liping Sun, 2004. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage, International Journal of Food Microbiology 95: 147–155 Henriette M.C.
- Irawan, A. 1995. Pengawetan Ikan dan Hasil Perikanan, Cara Mengolah dan Mengawetkan Secara Tradisional dan Modern. Penerbit CV. Aneka Solo
- Jenkins, D.W and Hudson, S.M. 2001. Review of Vinyl Graft Copolymerization Featuring Recent Advances toward Controlled Radical-Based Reactions and Illustrated with Chitin/Chitosan Trunk Polymers Chem. Rev., 2001, 101 (11), pp 3245–327 **DOI:** 10.1021/cr000257f
- Killay, A. 2013. Kitosan Sebagai Anti Bakteri Pada Bahan Pangan Yang Aman dan Tidak Berbahaya : Review. Prosiding FMIPA Universitas Patimura. ISBN : 978-602-97522-0-5

- Khan, T.A., Peh, K.K. dan Ching, H.S. (2002). Reporting degree of deacetylation of chitosan: the influence of analytical method.
- Kencana, A.L. 2009. Perlakuan Sonikasi Terhadap Kitosan: Viskositas dan Bobot Molekul. (Skripsi). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Bandung. Bandung
- Keuteur J. 1996. Nanoparticles and microparticles for drug and vaccine delivery. Europe Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 189(15):503-505.
- Killay, A. 2013. Kitosan sebagai Antibakteri pada Bahan Pangan yang Aman dan Tidak Berbahaya (Review). Prosiding FMIPA Universitas Pattimura.
- Knorr D. 1982. Function properties of chitin and chitosan. J Food Sci 47(36).
- Krochta, J.M., Mulder-Jhnston, C. 1997. Edible and Biodegradable Film: Challengens and Their Applications. Food Techlogy51(2): 61-74
- Khan TA, Kok K, Hung S. 2002. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. J Pharm Pharmaceut *Sci* 5:205-212.
- Kurniasih, M. dan D. Kartika. 2011. Sintesis dan karakterisasi fisika-kimia kitosan. Jurnal Inovasi. 5:42-48.
- Komariah, A., 2013. Efektivitas Antibakteri Nano Kitosan terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus(in vitro). Seminar Nasional Universitas Negeri Surakarta
- Kim, F., X. Chen, Wang and Rajapakse. 2005. Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*ocimum basilicum* L.). *Journal of agric food chemical*. 53, 3696
- Kim, S.W. 2011. Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivates. Ebook. USA: CRC Press

- Luque AP, Rubiales D. 2009. Nanotechnology for parasitic plant control. J. Pest. Manag. Sci. 65:540–545.
- Liu, N., et.al. (2006). Effect of MW and Concentration of Chitosan on Antibacterial Activity of Escher ichia coli, Carbohydrate Polymers, 64:60–65
- Morhsed, AA Bashir1, M H Khan, and M K Alam, 2011, Antibacterial activity of shrimp chitosan against some local food spoilage bacteria and food bornepathogens. angladesh J Microbiol, 28(1): 45-47
- Mayas MA dan Al-Remawi. 2012. Properties of chitosan nanoparticles formed using sulfate anions as crosslinking bridges. American Journal of Applied Sciences 9(7):1091-1100.
- Minda Azhar, Jon Efendi, Erda Syofyeni, Rahmi Marfa Lesi, dan Sri Novalina. 2010. Pengaruh Kosentrasi NaOH dan KOH Terhadap Derajat Deasetilasi Kitin dari Limbah Kulit Udang. Eksakta. Vol. 1 Tahun XI
- Martien, R., Adhyatmika, I.D.K. Irianto, V. Farida, dan P. Sari. 2012. Perkembangan teknologi nanopartikel sebagai sistem penghantaran Obat. Majalah Farmaseutik. 8(1): 133-144
- Mohanraj, VJ & Y. Chen. 2006. Nanoparticles. A Review. Nigeria: *tropical J.Pharm*Res, 561-573
- Mulyono, 2000. Metode Analisis Proksimat. Jakarta. Erlangga Muzzarelli, R.A.A., 1997, Chitin, Pergamon Press, New York
- Mayas MA dan Al-Remawi. 2012. Properties of chitosan nanoparticles formed using sulfate anions as crosslinking bridges. American Journal of Applied Sciences 9(7):1091-1100.
- Muzzarelli RAA, Rochetti R, Stanic V, Weckx M. 1997. Methods for the determination of the degree of acetylation of chitin and chitosan. Di dalam: Muzzarelli RAA, Peter

- MG (eds.). Chitin Handbook. Grottamare: European Chitin Soc.
- Muzzarelli R.A.A., 1985. Chitin. In G.O. Aspinall, The Polysaccharides. (Vol. 3) (pp. 417-450). New York: Academic Press.
- Nugroho, A., N.D. Nurhayati, dan B.Utami. 2011. Sintesis dan karakterisasi membran kitosan untuk aplikasi sensor deteksi logam berat. Jurnal Molekul. 6(2):123-136
- Nadia, L. M. H., P. Suptijah, dan B. Ibrahim. 2014. Produksi dan karakterisasi nanokitosan dari cangkang udang windu dengan metode gelas ionik. *JPHPI*. 17(2)
- Poole C.P and F.J. Owens. 2003. Introduction to Nanotechnology. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey
- Pray, L., and A. Yaktine. 2009. Nanotechnology in Food Products: Workshop Summary National Academics Press. USA.
- Qi L, Xu Z, Jiang X, Hu C, Zou X. 2004. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. Carbohydrate Research. 339(16): 2693:2700.
- Ramsden, J. 2011. *Nanotechnology: an introduction*. eBook ISBN: 9781437778373
- Rochima, E., S. Y. Azhary, R.I. Pratama, C. Panatarani, and I. M. Joni. 2016. Preparation and characterization of nano chitosan from crab shell by Beads-milling method. International Conference on Food Science and Engineering. 193. doi:10.1088/1757-899X/193/1/012043
- Rumengan, I.F.M., P. Suptijah., S. Wullur. 2016. Pengembangan Nanokitosan dari Biomassa Rotifer dan Limbah Sisik Ikan Sebagai Pelapis dan Pengemas Produk Segar yang Higienis dan Ramah Lingkungan. Laporan Akhir Tahun ke-1 Penelitian Prioritas Nasional MP3EI. Unsrat.

- Rumengan, I.F.M., P. Suptijah., S.Wullur. 2017. Pengembangan Nanokitosan dari Biomassa Rotifer dan Limbah Sisik Ikan Sebagai Pelapis dan Pengemas Produk Segar yang Higienis dan Ramah Lingkungan. Laporan Akhir Tahun ke-2 Penelitian Prioritas Nasional MP3EI. Unsrat.
- Rumengan, I.F.M., P. Suptijah, S. Wullur, and A. Talumepa. 2017. Characterization of chitin extracted from fish scales of marine fish species purchased from local markets in North Sulawesi, Indonesia. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. doi: 10.1088/1755-1315/89/1/012028
- Rumengan, I.F.M., P. Suptijah., S.Wullur. 2018. Pengembangan Nanokitosan dari Biomassa Rotifer dan Limbah Sisik Ikan Sebagai Pelapis dan Pengemas Produk Segar yang Higienis dan Ramah Lingkungan. Laporan Kemajuan Tahun ke- 3 Penelitian Strategis Nasional. Unsrat.
- Santosa, S.J., D. Siswanto, dan S. Sudiono. 2014. Dekontaminasi Ion Logam dengan Biosorben Berbasis Asam Humat, Kitin dan Kitosan. Yogjakarta: Gadjah Mada University Press
- Shu, XZ. Zhu, KJ. 2002. Controlled Drug Release Properties of Ionically Cross- linked Chitosan beads: The Influence of Anion Structure. International Journal of Pharmaceticals . Pages: 217-225
- Siswina, R.M. 2011. Kitosan Sebagai Edible Coating pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Asap yang Dikemas Vakum Selama Penyimpanan Suhu Ruang. Skripsi. Departemen Teknologi Hasil Perairan Institut Pertanian Bogor
- Sagoo S, R. Board and S. Roller. 2002. Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products. Journal of Food Microbiology Vol 19 No.2

- Shalini, S. and S. Prema. 2012. Phytochemical screening and antimicrobial activity of plant extracts for disease management. Int J CURR SCI Research Article: 209-218.
- Supratman, U., 2010. Elusidasi Struktur Senyawa Organik, Widya Padjadjaran, Bandung
- Shahidi,F. 1999. Food Application of Chitin and Chitosan. Review, Trends in Food Science and Technology.10: 37-51
- Stevens MP. 2001. Kimia Polimer. Sopyan I, penerjemah. Jakarta: PT Pradnya Paramita. Terjemahan dari: Polymer Chemistry: An Introduction.
- Siregar, M. 2009. Pengaruh Berat Molekul Kitosan Nanopartikel Untuk Menurunkan Kadar Logam Besi (Fe) dan Zat warna pada Limbah Industri Tekstik Jeans. Tesis. Pascasarjana Medan: Universitas Sumatera utara
- Stevens, M.P. (2001) Kimia Polimer . PT. Pradnya Paramita, cetakan pertama, Jakarta.
- Sanusi, M. 2004. Transformasi kitin dari hasil isolasi limbah industri udang beku menjadi kitosan. *Jurnal Marina Chimica Acta*. 5(2): 28-32.
- Suseno, Karsono S. Padmawijaya, Andree S., dan Nathanael K. 2015. Pengaruh Berat Molekul Kitosan terhadap Sifat Fisis Kertas Daur Ulang. Vol. 18, No. 1, Juni 2015, hal : 33-39 Majalah Polimer Indonesia ISSN 1410-7864
- Suptijah, Pipih, Agoes Mardiono Jacoeb, and Desie Rachmania. 2011. Karakterisasi Nanokitosan Kitosan Cangkang Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan Metode Gelasi Ionik. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia 14.2 (2011).
- Swarbrick, J., 2007. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Third Edition, Volume 2, Informa Healthcare, New York

- Suptijah, P., E. Salamah, H. Sumaryanto, S. Purwaningsih, and J. Santoso. 1992. Pengaruh Berbagai Metode Isolasi Kitin Kulit Udang Terhadap Mutunya. Laporan Penelitian Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan. IPB. Bogor.
- Santosa, S.J., D. Siswanto, dan Sudiono. 2014. Dekontaminasi Ion Logam dengan Biosorben Berbasis Asam Humat, Kitin dan Kitosan. Yogjakarta: Gadjah Mada University Press
- Suptijah, P. 2012. Pengembangan Kitosan sebagai Absorben Pengotor dalam Aplikasi Pemurnian Agar dan Karagenan.Disertasi. Program Studoi Teknologi Kelautan, Sekolah Pasca Sarjana, IPB Bogor. 99 hal
- Tiyaboonchai, W. 2003. Chitosan nanoparticles: A promising system for drug delivery. *Naresuan University Journal*. 11 (3): 51–66.
- Terbojevich, M. dan Muzzarelli, RA .(2000).Chitosan.University of Ancona.
- Torres, A. 2007. Food for Thought: Microorganism Contaminants in Dried Fruits. California: California State Science Fair Project Summary.
- Valiyaveetiil3.2010. Deasetilasi Kitin secara Bertahap dan Pengaruhnya terhadap Derajat Deasetilasi serta Massa molekul Kitosan . jurnal Kimia Indonesia. Vol. 5 (1), 2010, h. 17-21
- Wahyono D. 2010. Ciri Nanopartikel Kitosan dan Pengaruhnya pada Ukuran Partikel dan Efisien Penyalutan Ketopren. Tesis. Program Pasca Sarjana IPB: Bogor
- Wang T, Turhan M, Gunasekaram S. 2004. Selected properties of PH-sensitive, biodegradable chitosan-poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Polym Int* 53:911-918.

- Wardaniati, R.A & Setyaningsih, S. 2014. Pembuatan kitosan dari kulit udang dan aplikasinya untuk pengawetan bakso. Universitas Diponegoro. <a href="http://eprints.undip.ac.id/">http://eprints.undip.ac.id/</a>
- Wibowo, S. 2000. Industri Pengasapan Ikan. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Won J et al. 2008. Stability analysis of zinc oxide nanoencapsulated conjugated linoleic acid and gamma linoleic acid. J of Food Sci 73:39-43.
- Xu Y, Du Y. 2003. Effect of moleculer structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. International Journal of Pharmaceutics 250(4):215-226.
- Younes, Islem, Sellimi, S., Rinaudo, M., Jellouli, K., Nasri, M. (2014). Influence of acetylation degree and molecular weight of homogeneous chitosans on antibacterial and antifungal activities, International Journal of Food Microbiology, 185: 57-63
- Yogaswari, V. 2009. Karakteristik kimia dan fisik sisik ikan gurami (Osphronemus gouramy). Skripsi. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yongmei, X. Yumin, D. 2003. Effect of Molecular Structure of Chitosan on Protein Delivery Properties of Chirosan Nanoparticles. International Journal of Pharmacetics. Pages:215-226.
- Zaku, S.G., S.A.E. Aguzue, and S.A. Thomas. 2011. "Extraction and characterization of chitin; a fuctional biopolymer obtained from scales of common carp fish (Cyprinus carpio l.): A lesser known source". *Afr. J. Food Sci.* 5 (8): 478-483
- Zahiruddin, W., A. Ariesta, dan E. Salamah. 2008. Karakteristik mutu dan kelarutankitosan dari ampas silase kepala udang

windu (*Penaeus monodon*). Buletin teknologi hasil perikanan. 11(2): 140-151.

#### PROFIL PENULIS



Inneke F. M. Rumengan menyelesai-kan program pendidikan strata satu dalam bidang Budidaya Perairan di Fakultas Perikanan, Universitas Sam Ratulangi pada tahun 1984 dan sampai saat ini merupakan pengajar dan peneliti di fakultas ini yang sekarang menjadi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Pada tahun 1988 penulis menyelesaikan strata dua dalam bidang yang sama di Faculty of Fisheries, Kagoshima

University, Japan dan melanjutkan program doktor di Graduate School and Marine Science, Nagasaki University, Japan sampai tahun 1991 dengan penelitian tentang sitogenetika sejenis zooplankton laut. Penulis menggeluti pengajaran tentang beberapa mata kuliah terkait Bioteknologi Perairan termasuk Rekayasa Genetika pada mahasiswa program strata satu, dua dan tiga. Pada tahun 2010, penulis dikukuhkan sebagai Guru Besar dalam bidang Rekayasa Genetika dan hingga saat ini terus mengembangkan riset-riset terapan terkait eksplorasi potensi molekuler biota air berorientasi Bioteknologi Perairan menghasilkan teknologi dan produk inovasi untuk dihilirisasi ke masyarakat seperti yang terealisasikan dalam skim pengabdian masyarakat, Program Pengembangan Produk Unggulan Daerah di salah satu wilayah pesisir Poigar Bolaang Mongondow, Sulawesi Utara. Produk yang dikembangkan adalah nanokitosan berbahan baku sisik ikan, sebagai biomaterial biota laut yang diproses dari molekul kitosan yang dimodifikasi dari kitin yang diekstrak dari sisik ikan dengan pendekatan Nanoteknologi. Produk ini ini merupakan hasil riset terapan sejak tahun 2016 yang didanai dari Direktorat Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi.