

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)

Jamur tiram putih termasuk ke dalam kelas *Basidiomycota* yang tumbuh berderet menyamping pada batang kayu lapuk dengan ciri tudung jamur berdiameter 5-20 cm, bertepi tudung mulus sedikit berlekuk warna putih, dan memiliki tekstur permukaan yang hampir licin (Wijoyo,2011). Jamur tiram terbagi menjadi beberapa jenis salah satunya adalah jenis jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Kegiatan budidaya ini didukung dengan kemudahan media tanam jamur tiram yang tidak memerlukan tempat yang luas, masa panen yang singkat sekitar 10-15 hari setelah masa inokulasi dan dapat tumbuh pada semua media tanam yang mengandung selulosa, air, dan nutrisi yang cukup seperti serbuk kayu dan bekatul (Suriawira, 2006).



Gambar 2.1 Jamur Tiram

Kedudukan taksonomi jamur tiram menurut Djarijah (2001) dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kedudukan Taksonomi Jamur Tiram

Super Kingdom	Eukaryota
Kingdom	Myceteae (Fungi)
Divisio	Amastigomycota
Sub-Divisio	Basidiomycotae
Kelas	Basidiomycotae
Ordo	Agaricales
Familia	Agaricaceae
Genus	Pleurotus
Spesies	<i>Pleurotus ostreatus Jacq</i>

Adapun komposisi dan kandungan nutrisi untuk setiap 100 gram jamur tiram dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komposisi Kimia Jamur Tiram (100 gr)

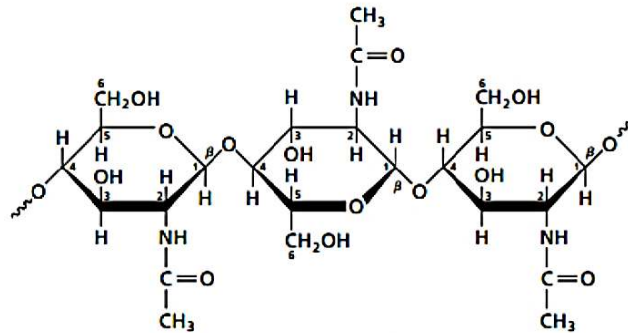
Zat Gizi	Kandungan
Kalori (Energi)	367 kal
Protein	10,5-30,4 %
Karbohidrat	56,6 %
Lemak	1,7-2,2 %
Thiamin	0,20 mg
Rriboflavin	4,7-4,9 mg
Niacin	77,2 mg
Ca (kalsium)	314,0 mg
K (kalium)	3.793,0 mg
P (fosfor)	717,0 mg
Na (natrium)	837,0 mg
Fe (besi)	3,4-18,2 mg

Sumber : Djarijah, 2001

2.2 Kitin

Senyawa kitin adalah suatu polimer golongan polisakarida yang tersusun atas satuan-satuan beta-(1→4)2-asetamido-2-deoksi-D-glukosa sebagai senyawa turunan selulosa yang gugus hidroksil pada atom C-2 nya digantikan oleh gugus

asetil. Kitin umumnya ditemukan pada cangkang hewan *crustacea* diantaranya udang, kepiting dan lobster. Adapun struktur kiti dapat dilihat pada gambar 2.2.



Sumber : Moran dkk., 2012:244

Gambar 2.2 Struktur Kitin

Sumber lain yang dapat ditemukan adalah kandungan kitin pada berbagai jenis jamur. Tanvir, dkk (2020), dalam penelitiannya telah menemukan kandungan kitin dalam jamur jenis tiram putih sebesar 24,11 %. Selain itu, telah ditemukan juga kandungan kitin pada jenis jamur merang (Matheis, dkk.,2018), *Skizofillum* (Kalutharage dkk.,2019), *Rhizopus oryzae* (Sebastian,dkk.,2019), dan kebanyakan jamur dari kelas *Zygomycota* dan *Basidiomycota*. Secara umum persentasi kitin pada hewan dan tumbuhan dapat dilihat pada tabel 2.3.

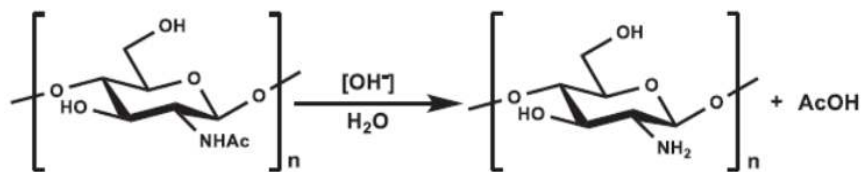
Tabel 2.3 Persentasi Kitin pada Hewan dan Tumbuhan

SUMBER	% KITIN
Jamur	5-20%
Cacing	3-20%
Gurita	30%
Laba-laba	38%
Kalajengking	38%
Kecoa	35%
Kumbang air	37%
Kepiting	71%
Udang	20-30%

Sumber : (Muzzarelli, 1985)

2.3 Kitosan

Kitosan merupakan biopolimer alami dengan kelimpahan terbesar kedua setelah selulosa dan merupakan produk deasetilasi kitin melalui proses reaksi kimia maupun reaksi enzimatik (Hafdani, 2011). Berikut ini mekanisme proses deasetilasi kitin menjadi kitosan diilustrasikan dalam gambar 2.3.



Gambar 2.3. Mekanisme Reaksi Proses Deasetilasi dengan Katalis Basa

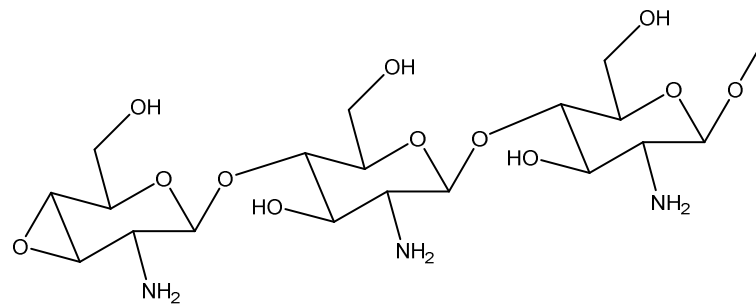
Kitosan memiliki kelarutan yang lebih baik dari kitin sehingga banyak dimanfaatkan pada bidang kesehatan sebagai bahan baku pembuatan biomaterial maupun obat-obatan dan dibidang lingkungan seperti pembuatan adsorben untuk pengikat logam-logam berat. Menurut Nuraida (2004), kitosan memiliki derajat deasetilasi $\geq 70\%$, sedangkan kitin memiliki derajat deasetilasi $<70\%$. Kualitas standar kitosan ditunjukkan pada tabel 2.4.

Tabel 2.4 Kualitas Standar Kitosan

Sifat-Sifat Kitosan	Nilai yang Dikehendaki
Ukuran partikel	Butiran-bubuk
Kadar air (% W/W)	$< 10,0$
Kadar abu (% W/W)	$> 2,0$
Derajat deasetilasi	$> 70,0$
Viskositas	
• Rendah	< 200
• Sedang	200-799
• Tinggi	800-2.000
• Paling tinggi	> 2000

Sumber : Setiautami, 2013

Struktur kimia kitosan ditunjukkan pada gambar 2.4 (Setiautami,2013)



Gambar 2.4 Struktur Kimia Kitosan

2.4 Sifat-sifat Kimia Kitin dan Kitosan

Kitin memiliki kombinasi sifat khas seperti bioaktivitas, biodegradabilitas dan sifat liat, sehingga merupakan jenis polimer yang menarik dan dapat dimanfaatkan diberbagai bidang industri, misalnya bidang pangan, pertanian, mikrobiologi, penanganan air limbah, industri-industri kertas, tekstil, kosmetika dan lain-lain (Savitha dan Timothy, 1997).

Kitin secara alami tidak memiliki tingkat asetilasi yang lengkap, Kitin biasanya mempunyai derajat deasetilasi kurang dari 10% (Hartati, F.K., dkk, 2002). Penggunaan kitin dibatasi oleh sifat-sifat yang tidak larut, baik dalam air, alkohol dan hampir semua pelarut organik serta sulit dipisahkan dengan bahan lain yang terikat dengan protein, sehingga untuk meningkatkan fungsinya kitin perlu diubah terlebih dahulu menjadi kitosan (Hendri, 2008).

Kitin tidak larut dalam air sehingga penggunaannya terbatas. Namun dengan modifikasi struktur kimianya maka akan diperoleh senyawa turunan kitin yang memiliki sifat kimia yang lebih baik. Salah satu turunan kitin adalah kitosan. Kitin secara alami memiliki gugus asetilasi yang tidak lengkap sedangkan kitosan juga biasanya masih mengandung gugus asetil dengan berbagai tingkatan (Hendri, 2008).

Kitosan merupakan produk deasetilasi kitin melalui proses reaksi kimia menggunakan basa natrium hidroksida atau melalui reaksi enzimatik menggunakan enzim kitin deasetilase. Kitosan yang merupakan biopolimer yang resisten terhadap tekanan mekanik. Unsur-unsur yang menyusun kitosan hampir

sama dengan unsur- unsur yang menyusun kitin yaitu C,H, N, O dan unsur-unsur lainnya. Perbedaan kitin dan kitosan terletak pada kandungan nitrogennya. Bila kandungan total nitrogennya kurang dari 7%, maka polimer tersebut adalah kitin dan kombinasi kandungan total nitrogennya lebih dari 7% maka disebut kitosan, selain itu kitin biasanya mempunyai derajat deasetilasi sampai 10%, sedangkan kitosan derajat deasetilasinya >70%.

Kitosan merupakan kapolimer alam berbentuk lembaran tipis, tidak berbau, terdiri dari dua jenis polimer, yaitu poli (2-deoksi-2-asetilamin-2-glukosa) dan poli (2-Deoksi-2- aminoglukosa) yang berikatan B-D (1-4). Kitosan tidak beracun dan mudah terbiodegradasi. Kitosan tidak larut dalam air, dalam larutan basa kuat, dalam H₂SO₄, dan dalam beberapa pelarut organik seperti alkohol dan aseton. Kitosan sedikit larut dalam HCl dan HNO₃, serta larut baik dalam asam lemah, seperti asam farniat dan asam asetat (Hendri, 2008).

Sifat kation kitosan adalah linier polielektrolit, bermuatan positif, flokulan yang sangat baik, pengkelat ion-ion logam. Sifat biologi kitosan adalah non-toksik, biodegradable, polimer alami; sedangkan sifat kimia seperti linier poliamin, gugus amino, dan gugus hidroksil yang aktif. Aplikasi kitosan dalam berbagai bidang tergantung sifat-sifat kationik, biologi, dan kimianya (Sandford dan Hutchings, 1987).

2.5 Pelarut (*Solvent*)

Pelarut adalah suatu zat yang dapat melarutkan zat terlarut (cairan, padat atau gas) sehingga menghasilkan suatu larutan. Biasanya berupa cairan namun adapula dalam bentuk padat, gas, atau fluida superkritis. Pelarut organik dibedakan menjadi dua yaitu pelarut polar dan pelarut non-polar berdasarkan konstanta dielektriknya. Semakin tinggi konstanta dielektrik maka pelarut bersifat semakin polar (sudarmadji,dkk.,1989). Senyawa polar termasuk didalamnya air, etanol, metanol, dan butanol. Adapun pelarut non-polar yaitu n-heksan, eter, serta kloroform (Kasminah, 2016). Dalam pemilihan pelarut harus memperhatikan beberapa hal diantaranya selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan, serta harga pelarut (Putri W.S dkk, 2013).

Keberadaan pelarut sangat dibutuhkan dalam suatu industri maupun dalam kehidupan sehari-hari. Namun, tidak dapat dipungkiri bahwa pelarut organik, seperti aseton serta pelarut aromatik lain (benzene, toluen, dan pelarut terklorinasi) masih digunakan dalam jumlah besar dan sangat berdampak buruk terhadap lingkungan juga kesehatan makhluk hidup terutama merusak sistem pernapasan dan saraf. Oleh karena itu, untuk mengurangi penggunaan pelarut tersebut dilakukan upaya penggantian ke jenis pelarut dengan toksisitas rendah, mudah terdegradasi dan dapat di daur ulang. Prinsip *green chemistry* atau kimia hijau merupakan upaya untuk menggantikan pelarut umum dengan pelarut hijau (*green-solvent*) yang diharapkan dapat lebih ramah lingkungan. Air termasuk pelarut hijau, namun kelarutannya untuk senyawa organik dan organo-logam dinilai kurang baik. Fase *fluorous* dan *ionic liquid* juga telah dilaporkan sebagai pelarut ramah lingkungan yang dapat di daur ulang. Selain itu, cairan CO₂ superkritis dan polimer non-toksik seperti *polyethylene glycol* (PEG) dan gliserol dapat digunakan sebagai alternatif pelarut hijau.

2.6 Pelarut Gliserol

Gliserin merupakan nama dagang untuk gliserol, biasanya gliserin mengandung 95% gliserol, gliserol biasanya menunjukkan senyawa sebenarnya dalam larutan. Keduanya memiliki susunan molekul yang sama yaitu 1,2,3-trihydroxy-propane. Gliserin biasanya digunakan secara luas dalam preparasi oral, topikal, dan parenteral. Pada formulasi topikal dan kosmetik, gliserin digunakan sebagai humektan dan emolien pada konsentrasi 30%. Selain itu, juga digunakan dalam gel cair maupun non-cair, sebagai pelarut dan kosolven. Bahan ini tidak kompatibel dengan agen pengoksidasi kuat, seperti kalium permanganate (Rowe, 2009).

Gliserol memiliki titik didih tinggi (290°C) sehingga tidak mudah menguap, mudah di daur ulang, dan merupakan media reaksi yang ramah lingkungan. Gliserol memiliki potensi besar untuk digunakan sebagai pelarut hijau dalam reaksi organik. Beberapa reaksi katalitik dan non-katalitik telah berhasil dilakukan berbantu gliserol sebagai pelarut. Hasil dan selektivitas produk yang tinggi

tercapai, selain itu kelarutan reaktan dan katalis serta pemisahan produk yang mudah, penggunaan gliserol juga memudahkan dalam daur ulang katalis, reaksi berbantu gelombang mikro dan mode emulsi (Wolfson, A. dkk 2007). Selain itu, apabila dibandingkan dengan pelarut ramah lingkungan lain seperti cairan ionik, gliserol sebagai produk samping dari produksi biodiesel mudah diperoleh, tidak berbahaya, murah dan dapat terurai secara hayati. Sifat ini sesuai dengan persyaratan pelarut hijau paling ideal dan proses kimia berkelanjutan saat ini. Dalam penelitian Liu, dkk (2017), deasetilasi kitin menggunakan pelarut gliserol berhasil dilakukan dengan hasil derajat deasetilasi kitosan sebesar 85,35% dan molekul rata-rata viskositas sebesar 30.874 g/mol.

2.7 Proses Isolasi Kitosan

Isolasi kitin cangkang udang dan sumber kitin berbahan baku *crustacea* terdiri dari tahap demineralisasi, deproteinasi, depigmentasi dan deasetilasi. Proses deproteinasi merupakan proses pemisahan protein dari kitin, sedangkan deasetilasi adalah tahap pemutusan gugus asetil kitin melalui pemanasan dalam larutan alkali (NaOH atau KOH) dengan konsentrasi tinggi maupun secara enzimatik dengan bantuan mikroorganisme. Pada penelitian sebelumnya, Anvir, dkk (2020) telah melakukan isolasi kitosan dari *Oyster mushroom* hanya melalui tahap demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi saja dengan derajat deasetilasinya mencapai 73,42 %. Derajat deasetilasi kitosan tergantung dari konsentrasi alkali yang digunakan, lama reaksi, ukuran partikel kitin, dan berat jenis.

Kitin sendiri diperoleh dengan melalui beberapa proses yaitu deproteinasi, demineralisasi, dan depigmentasi yang saat ini telah dilakukan pada berbagai jenis serangga seperti kupu-kupu, kumbang dan hewan lain yang mempunyai zat kitin pada lapisan kutikular luarnya. Komponen kitin juga dapat ditemukan pada dinding sel yeast dan beberapa jenis jamur lainnya (Taufan dan Zulfahmi, 2010).

Kitin kemudian dideasetilasi melalui proses hidrolisis basa dengan menggunakan basa kuat sehingga diperoleh kitosan. Proses pembentukan kitosan dari kitin melalui proses deasetilasi yaitu dengan cara mereaksikan sumber bahan

baku kitin menggunakan alkali pada konsentrasi tinggi dengan waktu yang relatif lama dan suhu reaksi tinggi (Taufan dan Zulfahmi, 2010).

2.7.1 Deproteinasi

Deproteinasi dapat dilakukan sebelum dan sesudah proses demineralisasi. Deproteinasi biasa dilakukan terlebih dahulu apabila protein yang terlarut akan dimanfaatkan dengan lebih lanjut. Proses deproteinasi bertujuan untuk mengurangi kadar protein dengan menggunakan alkali encer dan pemanasan yang sesuai.

Deproteinasi merupakan proses pemisahan protein dari kitin. Proses deproteinasi bisa menggunakan berbagai pereaksi seperti Na_2CO_3 , NaHCO_3 , KOH , Na_2S , Na_3PO_4 dan NaOH digunakan lebih banyak. Adapun penggunaan enzim yaitu untuk memisahkan protein dalam proses deproteinasi, penelitian dengan memanfaatkan enzim yang telah dilakukan diantaranya menggunakan enzim pepsin, tripsin dan enzim proteolitik yang didemineralisasi sebelumnya dengan suatu zat. Perlakuan dengan enzim ini masih menyisakan protein sekitar 5% yang memerlukan proses lanjutan (Said, 2012).

Proses deproteinasi dilakukan dengan menggunakan dua metode yaitu secara enzimatik menggunakan enzim proteolitik dan secara kimia menggunakan NaOH atau KOH . Namun, pada proses deproteinasi lebih sering digunakan yaitu natrium hidroksida, karena lebih mudah dan efektif. Pada pemisahan protein dengan menggunakan NaOH yang berlangsung pada proses protein yang diekstraksi sebagai Na-proteinat yang larut dalam air sedangkan menggunakan KOH diperoleh sebagai K-proteinat yang mengendap dan enzim proteolitik akan mendegradasi protein sehingga terpisah dari kitin (Said, 2012).

2.7.2 Deasetilasi

Kitin yang diperoleh dari proses deproteinasi dan demineralisasi tidak dapat larut dalam sebagian besar pereaksi kimia. Untuk memudahkan kelarutannya, maka kitin dideasetilasi dengan pelarut alkali menjadi kitosan. Setelah melalui proses deasetilasi maka daya adsorpsi kitin akan meningkat dengan bertambahnya gugus amino (NH_2) yang terdapat didalamnya.

Perubahan kitin menjadi kitosan dapat dilakukan secara enzimatik atau kimiawi (Muzzarelli, 1977).

Proses deasetilasi kimiawi dilakukan untuk menghilangkan gugus asetil kitin melalui perebusan dalam larutan alkali konsentrasi tinggi. Hwang dan Shin (2000) menggunakan larutan NaOH 40% dalam proses deasetilasi kitin, pada suhu 70°C selama 6 jam yang menghasilkan kitosan dengan derajat deasetilasi 92%. Derajat deasetilasi kitosan tergantung dari konsentrasi alkali yang digunakan, lama reaksi, ukuran partikel kitin, dan berat jenis.

Makin tinggi konsentrasi alkali yang digunakan, makin rendah suhu atau makin singkat waktu yang diperlukan dalam proses ini. Pada deasetilasi kitin secara enzimatik dapat diawali dengan salah satu cara yaitu dengan pengamatan proses perubahan kitin menjadi kitosan pada mikroba. Kandungan kitin dalam jamur atau bakteri sangat rendah, sehingga bahan tersebut belum sering digunakan sebagai sumber kitin. Namun, penggunaan kitin dan kitosan dari dinding sel jamur sebenarnya sangat berpotensi jika kultivasinya dapat dilakukan dengan baik. Hal tersebut, disebabkan karena laju pertumbuhan mikroorganisme yang cepat dan biomassa jamur yang meningkat 2 kali lipat dalam waktu 1-3 jam (Synowiecky dan Al-Khateeb, 2003).

2.8 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen senyawa yang diinginkan dari suatu bahan dengan menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat senyawa yang akan dipisahkan. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai macam metode tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, juga senyawa yang ingin di ekstrak. Terdapat dua macam metode ekstraksi yaitu metode konvensional dan metode modern.

2.8.1 Metode Ekstraksi Konvensional

Metode ekstraksi konvensional secara umum meliputi maserasi dan refluks. Maserasi adalah metode ekstrak yang paling sederhana yaitu dengan merendamkan simplisia dalam suatu pelarut. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak serta terhindar dari perubahan struktur kimia

bahan akibat adanya pemanasan (Pratiwi, 2009). Selain itu, dikenal pula metode ekstraksi lain seperti perkolasi dan sokletasi. Perkolasi merupakan proses melewatkan pelarut organik pada sampel sehingga senyawa organik akan terbawa selama proses tersebut. Adapun sokletasi adalah ekstraksi yang dilakukan secara berulang-ulang menggunakan sejumlah pelarut pada suhu tertentu (Nazarudin, 1992). Metode ekstraksi konvensional yang masih umum digunakan adalah refluks atau ekstraksi panas.

Refluks adalah salah satu jenis ekstraksi yang umum digunakan dalam proses isolasi kitin. Metode ini memang umum digunakan untuk mensintesis senyawa-senyawa yang mudah menguap (volatil), baik organik maupun anorganik. Prinsip dari metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi dalam rentang titik didih pelarutnya selama waktu dan sejumlah pelarut tertentu, kemudian didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun kembali ke dalam labu reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam. Selanjutnya filtrat yang diperoleh akan dikumpulkan dan dipekatkan (Sudjadi, 1986).

Kelebihan metode refluks adalah dimana padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan dapat langsung diekstrak. Adapun kelemahannya yaitu membutuhkan jumlah pelarut yang banyak (Irawan, B. 2010). Dalam skala besar, refluks banyak digunakan dalam industri yang menggunakan kolom distilasi dan fraksinasi diantaranya pabrik kimia dan petrokimia, kilang minyak serta industri pengolahan gas alam.

2.8.2 Metode Ekstraksi Modern

Salah satu metode ekstraksi modern yang saat ini banyak digunakan yaitu berupa pemanfaatan gelombang mikro atau yang dikenal dengan *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Dalam metode ini energi dalam bentuk gelombang mikro (mikrowave) membantu pemisahan senyawa aktif dari sampel ke dalam pelarut. Gelombang mikro memiliki medan listrik dan magnet yang tegak lurus

satu sama lain. Listrik yang dialirkan menghasilkan panas melalui rotasi dipolar dan konduksi ionik. Selama proses berlangsung, panas akan mengganggu ikatan hidrogen yang lemah sehingga meningkatkan penetrasi pelarut kedalam sampel atau matriks. Dengan meningkatnya konstanta dielektrik pelarut maka pemanasan yang dihasilkan semakin cepat. Berbeda dengan metode ekstraksi konvensional, dimana ekstraksi dengan bantuan microwave dapat memanaskan sampel secara bersamaan.

Metode ekstraksi dengan *microwave* termasuk teknologi *green chemistry* sama halnya dengan metode ekstraksi sonikasi karena mengurangi penggunaan pelarut organik. Penerapan metode ini memiliki banyak keuntungan seperti meningkatkan hasil ekstrak, mengurangi degradasi termal, dan pemanasan selektif untuk sampel. Ada dua jenis metode ekstraksi dengan microwave yaitu *solvent free extraction* (biasanya untuk komponen yang volatil) dan *solvent extraction* (untuk komponen yang tidak volatil).

2.9 Karakterisasi Material

Saat ini sebagian besar teknik karakterisasi material atau senyawa kimia berkembang dengan memanfaatkan interaksi antara berbagai sumber energi dengan karakter tertentu seperti foton, elektron, medan magnet, ion, kalor dan sebagainya. Berdasarkan jenis sumber energi, model interaksi sinar dengan materi dan respon yang dideteksi setelah interaksi, teknik karakterisasi material dikelompokkan menjadi empat yakni teknik spektroskopi, teknik difraksi, teknik mikroskopi, serta analisis termal. Saat berkas sinar-X berinteraksi dengan suatu material terdapat tiga kemungkinan yang akan terjadi diantaranya absorpsi (penyerapan), difraksi (penghamburan), atau fluoresensi yakni pemancaran kembali sinar-X dengan energi yang lebih rendah. Ketiga fenomena inilah yang menjadi landasan dalam analisa menggunakan teknik sinar-X (Agus, 2012).

2.9.1 Scanning Electron Microscopy (SEM)

SEM merupakan salah satu jenis mikroskop yang berfungsi untuk melihat suatu benda yang berukuran kecil (mm). Prinsip kerjanya menggunakan elektron dan cahaya tampak sebagai sumber cahayanya. Elektro menghasilkan

gelombang yang lebih pendek dibandingkan cahaya foton dengan ukuran 0,1 nm dan menghasilkan gambar dengan resolusi yang lebih baik (Lee,1993 dalam Rini 2010). SEM menghasilkan gambar dari permukaan spesimen dengan kedalaman fokus 500 kali lebih besar dibandingkan mikroskop cahaya. Biasanya gambar yang dihasilkan memiliki fokus yang baik, sehingga gambar yang dihasilkan berupa bentuk tiga dimensi dengan perbesaran hingga 50.000 kali (Fujita dkk dalam Rini 2010).

Pengoprasian SEM dilakukan dalam keadaan vakum (10^6 bar) sehingga elektron hanya berinteraksi dengan sampel yang diteliti. Sampel harus bersifat konduktif dan karena pengoprasian SEM berlangsung dalam keadaan vakum, maka sampel harus bebas air dan lemak. Adapun untuk sampel yang tidak konduktif, sampel harus di *sputering* (dilapisi secara tipis) dengan Au (emas) atau Pt (Platinum). Analisa dengan elektron mikroskopi telah banyak digunakan, misalnya untuk mempelajari morfologi permukaan material membran silikon karbida (Agus, 2012).

2.9.2 Spektroskopi FTIR

Fourier Transform Infrared Spectroscopy atau yang dikenal dengan singkatan FTIR banyak digunakan oleh para peneliti untuk karakterisasi material. Spektroskopi merupakan studi antaraksi radiasi yang didasarkan pada fenomena terabsorpsinya radiasi elektromagnetik inframerah oleh vibrasi molekul. Spektroskopi vibrasi digunakan untuk menganalisis struktur material organik dan anorganik, serta material hasil sintesa yang dapat menyerap radiasi inframerah. Kelebihan FTIR jika dibandingkan dengan teknik dipersi adalah kemampuan untuk menghasilkan spektra dengan rasio S/N yang lebih tinggi dalam waktu yang relatif singkat (Agus, 2012).

Metode FTIR dapat digunakan pada berbagai aplikasi diantaranya analisa material alami bentonit dan modifikasinya, serta analisa polimer pada proses sulfonasi kitosan. Keberhasilan proses sulfonasi membrane kitosan dapat diketahui dengan menggunakan metode FTIR, dimana penambahan gugus sulfonat pada membrane kitosan akan mengubah pola spektrum inframerah

yang akan memunculkan puncak-puncak serapan pada bilangan gelombang yang mengidentifikasi gugus sulfonat dalam kitosan (Agus, 2012).

2.10 Analisa Kadar Kitosan

Derajat deasetilasi kitosan dapat diukur dengan berbagai metode dan yang paling lazim digunakan adalah metode garis dasar spektroskopi IR transformasi Fourier (FTIR) yang pertama kali diajukan oleh Moore dan Robert pada tahun 1977. Selain itu, karakterisasi kitosan juga dapat diperoleh menggunakan metode titrasi. Penentuan derajat deasetilasi (DD) dilakukan dengan melarutkan kitosan sebanyak 0,3g yang ditambahkan dengan 30 ml larutan HCl 0,1 M dan diaduk sampai larut sempurna pada suhu kamar. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes indikator (campuran jingga metil dan biru anilin) serta 0,1 M NaOH digunakan sebagai larutan titrant. Analisa dilakukan dengan mengamati perubahan warna larutan dari warna ungu menjadi biru-hijau (sekitar pH 4,3). Derajat Deasetilasi kitosan di hitung dengan persamaan sebagai berikut :

$$DD (\%) = \frac{(C1 V1 - C2 V2) \times 0,016}{M \times 0,0094} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

Keterangan :

- C1 : Konsentrasi standar larutan HCl
- V1 : Volume larutan standar HCl (mL)
- C2 : Konsentrasi larutan NaOH
- V1 : Volume titran NaOH (mL)
- M : Massa sample kitosan (gr)