

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini adalah produksi kitin jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) melalui beberapa tahapan pembuatan yaitu penyiapan bahan, ekstraksi dengan alat microwave dan ultrasonikator, analisa kandungan kadar protein dan analisa kandungan kadar kitin dengan spektrofotometer FTIR yang menjelaskan dalam sub bab berikut ini:

4.1 Variasi Waktu Ekstraksi dengan Hotplate dan Microwave

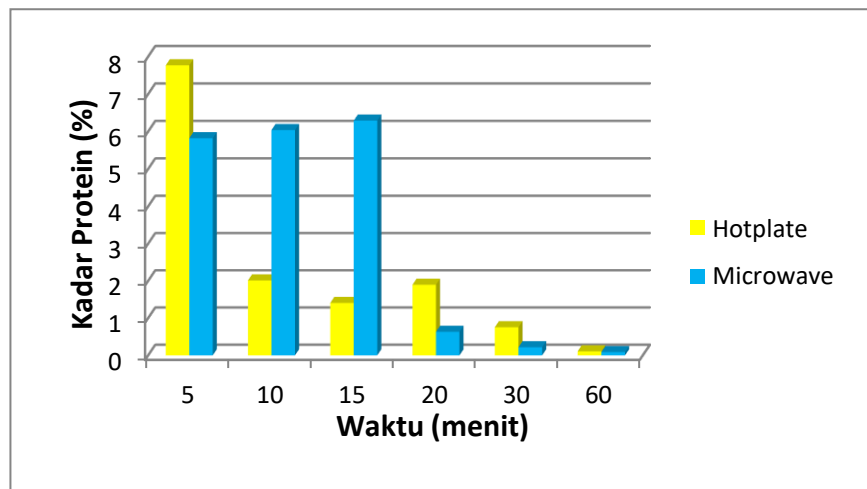
Saat menentukan kitin, dapat diekstraksi dengan bantuan hotplate dan oven microwave. Data yang diperoleh dari hotplate dan oven microwave dari jamur tiram putih disajikan Tabel 4.1

Tabel 4.1 Kadar Protein dengan Hotplate dan Microwave (%)

Waktu	Hotplate	Microwave
5 menit	7,770 %	5,822 %
10 menit	2,013 %	6,041 %
15 menit	1,407 %	6,292 %
20 menit	1,896 %	0,632 %
30 menit	0,755 %	0,218 %
60 menit	0,109 %	0,087 %

Dilihat dari hasil Tabel 4.1, terdapat perbedaan antara waktu yang pendek dan panjang. Kandungan protein tertinggi setelah 5 menit adalah 7,77% dan hasil yang terendah setelah 60 menit yaitu 0,10%. Hasil gelombang microwave tertinggi adalah 6,29% setelah 15 menit dan hasil terendah adalah 0,08% setelah 60 menit. Menurut Damayanti (2004), protein sangat sensitif terhadap panas dan berubah struktur kimianya (denaturasi) ketika dipanaskan. Winarno (1995), menambahkan bahwa pemanasan pada suhu tinggi akan memecah molekul protein. Degrasasi ini menghasilkan produksi banyak turunan protein yang larut dalam air. Namun menurut Budiyanto dan Yulianingsih (2008), waktu ekstraksi terlalu singkat bisa menyebabkan tidak semua campuran kitin terekstraksi dari bahan tersebut.

Hasil kandungan kadar protein yang diperoleh dari ekstraksi microwave dan hotplate dalam menentukan waktu yang optimal adalah sebagai berikut :



Gambar 4.1 Kadar Protein alat Microwave dan Hotplate

Untuk menentukan waktu produksi kitin yang optimal dilakukan dengan menggunakan variasi waktu 5, 10, 15, 20, 30, dan 60 menit. Dari hasil pada Gambar 4.1 dapat dilihat hasilnya dalam bentuk grafik. Hasil pada hotplate menunjukkan penurunan dari 5 menit sampai 15 menit, kemudian meningkat dari 20 menit dan menurun lagi dari 30 menit sampai 60 menit. Hasil microwave meningkat dari 5 menit sampai 15 menit dan menurun dari 20 menit sampai 60 menit.

Metode yang digunakan untuk mengukur kandungan kadar protein, menggunakan metode Kjeldhal dalam menghitung kandungan kadar nitrogen. Kami juga mengacu pada kitosan ketika molekul mengandung lebih dari 7% berat nitrogen (Muzzarelli, 1985). Hal ini diketahui menyebabkan penurunan kandungan kadar protein yang kurang signifikan dari antara perlakuan. Hal ini diduga karena kadar protein mengalami denaturasi akibat peningkatan temperatur dan waktu pengeringan

Seperti yang dilansir oleh Yuniarti dkk. (2013) pemanasan yang lama pada temperatur tinggi mendenaturasi protein . Pemanasan dapat merusak asam amino, dan ketahanan protein terhadap panas berkaitan erat dengan asam amino dalam menyusun protein. Protein didenaturasi ketika dipanaskan dari temperatur 50°C hingga 80°C. Laju denaturasi protein meningkat hingga 600 kali lipat untuk setiap kenaikan temperatur 10°C. Pemanasan sampel suhu antara 50°C dan 80°C secara tidak langsung mengubah sifat protein dan mengurangi konsentrasinya.

Oleh karena itu kandungan kadar protein dihasilkan penelitian ini jauh lebih rendah apabila peneliti menggunakan pengering dengan suhu 80°C selama 3 jam .(Razak,et.all.2017) memiliki temperatur pengeringan 105°C adalah unit pengering yang dia gunakan selama 4 jam. Pengeringan ini menyebabkan denaturasi kandungan protein akibat suhu tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa ketika menganalisis kandungan takaran protein jamur tiram putih atau bahan makanan lainnya, diperlukan kombinasi temperatur dan waktu pengeringan untuk hasil optimal.

4.2 Perhitungan Kadar Kitin

Penelitian ini meliputi pengujian kadar kitin yang diperoleh dengan mengulang proses destruksi sampel, distilasi dan titrasi sampel sebanyak dua kali. Prosedur yang ada bertujuan untuk mendapatkan titrasi sampel yang digunakan untuk perhitungan kandungan kadar kitin. Kadar kitin dapat dihitung dengan menggunakan cara berikut:

- Kadar Nitrogen (N) total %

$$KN = \frac{(V_b - V_s)}{\text{berat sampel (mg)}} \times N_{NaOH} \times 14,008 \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

$$\text{Kadar Kitin} = (\text{Kadar N total}) \times Fk \dots \dots \dots (2)$$

Keterangan:

Vs = Volume titrasi Sampel (ml)

Vb = Volume tirtasi blangko (ml)

N = Normalitas NaOH baku

Fk = Faktor Konversi : 14,5

Ekstraksi kitin dari jamur tiram putih dapat dilakukan dengan bantuan ultrasonikator memanfaatkan energi dari gelombang ultrasonic maupun dengan bantuan gelombang mikro dari microwave. Prosesnya memerlukan waktu yang singkat dan memerlukan sedikit pelarut karenanya menghasilkan sedikit limbah sehingga lebih ramah lingkungan. Sebagian penelitian menunjukkan bahwa MAE bisa meningkatkan efisiensi dan efektifitas ekstraksi bahan aktif dari berbagai klasifikasi rempah-rempah, jamu, dan buah-buahan (Calinescu et al.,2001). Gelombang mikro dapat mengurangi aktivitas enzimatis yang merusak senyawa target (Salas et al.,2010). Ekstraksi ultrasonik waktu singkat dalam beberapa menit dan reproduktivitas tinggi (Chemat et al, 2011) gelombang mekanis (Chemat et al, 2016)

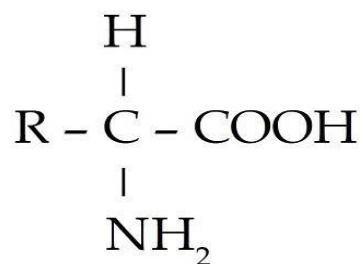
Ekstraksi yang dilakukan untuk mendapatkan kitin dari jamur tiram putih hasilnya berupa padatan kitin. Kadar kitin yang diperoleh dengan beberapa tahapan proses uji. Padatan kitin yang dihasilkan ini memiliki kisaran berat 0,5-2,5 gr. Tahapan uji diawali dengan mendestruksi sampel kitin yang diperoleh selama 5-6 jam menggunakan labu Kjeldahl hingga berubahnya warna larutan agak biru kehijauan. Selanjutnya larutan akan diencerkan dengan 50 mL NaOH 30% dan 100 mL aquades untuk selanjutnya didestilasi. Padatan kemudian di destilasi untuk mendapatkan destilat yang akan dititrasi menggunakan indikator PP. Hasilnya akan dititrasi dilakukan secara duplo untuk mendapatkan kadar nitrogen total yang kemudian akan dihitung kadar kitinnya dengan Persamaan 2.

Berikut merupakan data yang diperoleh melalui ekstraksi kitin dari jamur tiram putih dengan bantuan ultrasonikator, microwave dan hotplate terdapat Tabel 4.2:

Tabel 4.2 Kadar Kitin

Waktu	Suhu	NaOH 2%			NaOH 3,5%	
		Hotplate	Microwave	sonikator	Microwave	Sonikator
60 menit	50	6,090	6,1,92	6,293	6,293	6,496
	60	6,192	6,496	6,496	6,5975	6,5975
	70	6,395	6,902	6,598	6,8005	6,902
	80	6,699	7,105	7,004		

Kitin sebagai senyawa biopolymer memiliki berbagai macam kandungan, salah satunya unsur nitrogen (N₂). Dalam menentukan hasil kadar kitin digunakan cara yaitu dengan menentukan hasil kadar nitrogen. Hasil kadar kitin yang diperoleh ditunjukkan lewat kenaikan kadar N₂ seiring dengan kenaikan suhu proses ekstraksi yang dilakukan. Ini karena, semakin tinggi suhu yang digunakan mengakibatkan denaturasi protein semakin optimal sehingga kadar unsur N₂ yang terhitung adalah bagian dari senyawa kitin bukan senyawa protein.



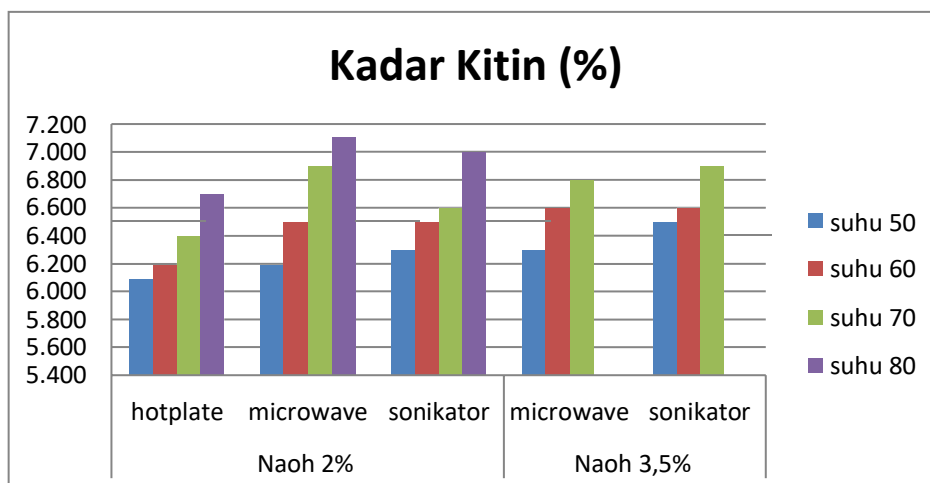
Gambar 4.2 Senyawa protein

Selain itu, proses deproteinasi berbeda tergantung bahan baku. Hasil analisis memperlihatkan bahwa perlakuan bahan baku, jenis alkali, dan interaksi bahan baku dengan alkali berpengaruh nyata terhadap kandungan kadar N yang dihasilkan. Menurut Muzzarelli (1985) dalam Taufan & Zulfahmi (2010), diketahui kadar kitin yang terdapat pada jamur yaitu sekitar 5-20%. Sehingga hasil kadar kitin yang optimal pada alat microwave di suhu 80°C dengan kadar yang didapat yaitu 7,105%. Terdapat pada Gambar 4.1 menunjukkan hasil kenaikan kadar dengan semakin tingginya suhu. Kandungan kadar kitin ditentukan menggunakan cara Kjeldahl, karena cara ini biasa digunakan untuk analisis protein dalam makanan.

Cara ini menentukan kandungan kadar kitin dalam bentuk kasar, karena mengandung N₂ yang tidak protein contohnya urea, asam nukleat, purin, dan pirimidin.(Usysus, et al, 2009). Prinsip kerja Kjeldhal yakni menentukan jumlah berdasarkan jumlah N₂ dalam bahan. Lalu, bahan teroksidasi oleh amonia (yang dihasilkan dari senyawa mengandung N₂) bereaksi dengan asam yang membentuk amonium sulfat. Pada suasana basa, amonia menguap lalu terpenangkap dengan larutan asam. Banyaknya N adalah

titrasi HCl. Cara kjeldhal biasanya dibagi menjadi tiga tahap yakni cara destruksi, cara distilasi dan cara titrasi (Legowo & Nurwantoro, 2004)

Berikut merupakan hasil grafik dari data perhitungan kadar kitin yang sudah didapat :



Gambar 4.3 Kadar Kitin

Tahap destruksi, sampel kitin dipanaskan bersama asam sulfat pekat untuk memecahnya menjadi unsur-unsurnya. Unsur karbon dan hidrogen dioksidasi menjadi CO, CO₂, dan H₂. N₂ menjadi (NH₄)₂SO₄. Tahap selanjutnya adalah distilasi, bertujuan memisahkan zat yang dibutuhkan dengan cara menguraikan amonium sulfat (NH₄)₂SO₄ menjadi amonia (NH₃) penambahan NaOH dan pemanasan. Menambahkan NaOH berfungsi menyediakan keadaan basa karena reaksi tidak dapat terjadi sebagai asam. Amonia dilepaskan lalu ditangkap larutan asam standar. Saat titrasi dilakukan, N₂ terlepas dari pengikatan protein dan tertangkap larutan titrasi.

Asam sulfat digunakan untuk destruksi pencernaan memperhitungkan keberadaan protein, lemak, dan karbohidrat. Asam borat bereaksi dengan amonia dan di titrasi asam klorida 0,1 N dengan indikator phenolphtalein, menandakan akhir dari titrasi mengalami berubah warna larutan

bening menjadi ungu. Takaran titrasi sampel dan titrasi blanko adalah takaran ekuivalen nitrogen. Blanko berfungsi sebagai faktor koreksi terhadap larutan N₂ akibat pereaksi digunakan (Legowo & Nurwantoro, 2004).

4.3 Kebutuhan Listrik Pada Ultrasonikator dan Microwave

Microwave Assisted Extraction (MAE) adalah ekstraksi yang dimanfaatkan radiasi gelombang mikro untuk mempercepat ekstraksi selektif dengan memanaskan pelarut secara cepat dan efisien (Jain et al., 2009). Dalam menggunakan microwave ini, diketahui juga untuk nilai arus dan daya listrik.

Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) adalah cara ekstraksi yang dimanfaatkan bantuan energi gelombang ultrasonik. Proses ekstraksi ultrasonik hanya memakan waktu beberapa menit, sangat dapat direproduksi dan merupakan alternatif untuk ekstraksi konvensional. Di bawah ini adalah hasil data arus dan daya yang digunakan dalam oven microwave :

Tabel 4.3 Data Arus dan Daya Listrik Microwave

MICROWAVE							
Variasi		NaOH 2% (w/v)			NaOH 3,5% (w/v)		
Suhu	Waktu	watt merah	watt hijau	Arus (A)	watt merah	watt hijau	Arus (A)
50	60 menit	225	226	0,63	-	-	-
60		226	227	0,65	226	227	0,65
70		221	223	0,64	224	225	0,67
80		224	226	0,65	227	226	0,66

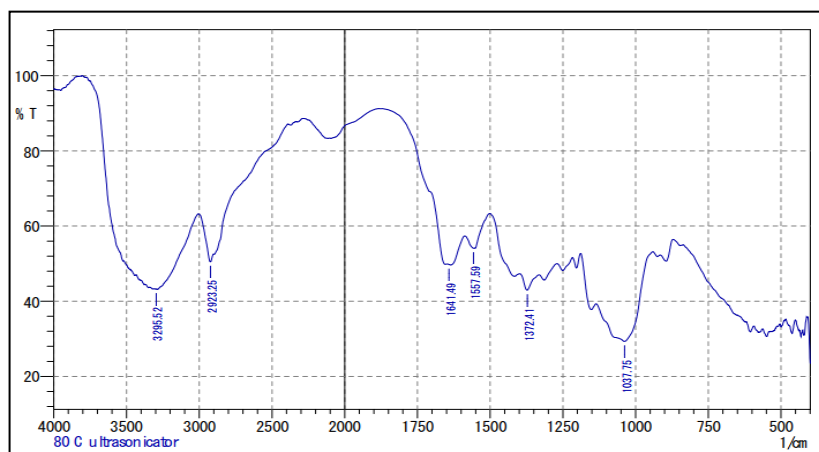
Tabel 4.4 Daya dan Arus Listrik Sonikator

SONIKATOR					
Variasi		NaOH 2% (w/v)		NaOH 3,5% (w/v)	
Suhu	Waktu	Daya (watt)	Arus (A)	Daya (watt)	Arus (A)
50	60 menit	120	0,55	120	0,55
60		120	0,55	120	0,55
70		120	0,55	120	0,55
80		120	0,55	120	0,55

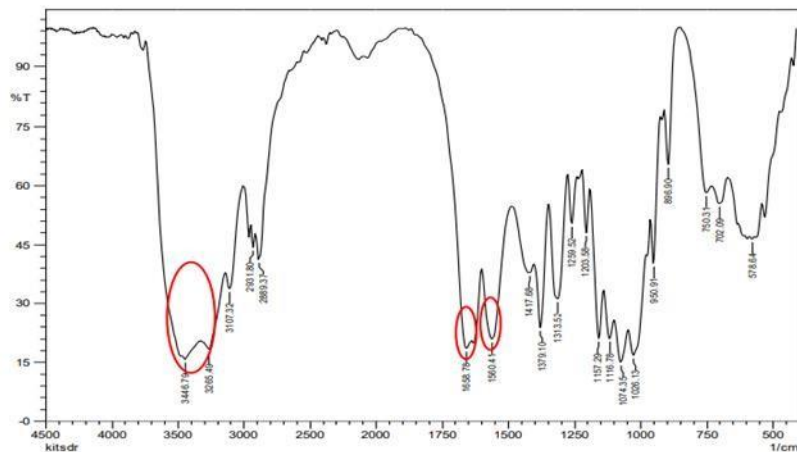
Dari Tabel 4.3 terlihat arus listrik yang cenderung kecil pada kisaran 0,63A - 0,67 A, namun dengan penggunaan daya yang lebih tinggi. Sedangkan pada Tabel 4.4 tidak adanya perubahan terhadap arus dan daya listrik yang digunakan. Dengan nilai arus sekecil itu, menggambarkan kebutuhan listrik yang hemat energi dari microwave dan ultrasonik. Berdasarkan hasil kadar kitin yang didapatkan, terdapat hubungan semakin tinggi penggunaan daya listrik pada alat sebanding dengan kadar kitin yang didapatkan. Hal ini dibuktikan dengan hasil kadar kitin yang menggunakan bantuan microwave lebih besar dibandingkan dengan menggunakan bantuan ultrasonikator.

4.4 Pengujian Kadar Kitin dengan FTIR

Senyawa kitin tersebar luas pada jamur yang merupakan komponen dinding sel dan membran struktural miselia, batang, dan spora. Ekstrak jamur tiram telah diteliti mengandung senyawa kitin yang selanjutnya dapat dideasetilasi menjadi kitosan dan nanokitosan. Pengujian kadar kitin dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer FTIR yang menampilkan panjang gelombang pada sampel kitin dari jamur tiram. Hasil pengujian spektrofotometer FTIR pada sampel ditunjukkan Gambar 4.4 :



Gambar 4.4 Ekstraksi dengan Ultrasonikator pada 80°C



Gambar 4.5 FTIR Kitin Standar (Dhini Annisa,dkk. 2019)

Terbentuknya grafik FTIR diatas merupakan hasil dari penggunaan ultrasonikator dalam ekstraksi kitin dari jamur tiram. Grafik diatas menggambarkan bagaimana rantai ikatan kimia yang ada pada sampel dan dapat menjelaskan senyawa atau zat apa yang terkandung didalamnya. Berdasarkan gambar diatas, dapat diketahui bahwa ada beberapa ikatan kimia yang ditandai dengan beberapa titik pita serapan gelombang. Tiap ikatan kimia memiliki titik serapan gelombang yang berbeda-beda dan menjadi indikator utama dalam penentuan hasil penelitian yang dilakukan.

Berikut table hasil karakterisasi dengan FTIR terhadap sampel kitin yang dihasilkan dari penelitian ini :

Tabel 4.5 Hasil Karakterisasi FTIR

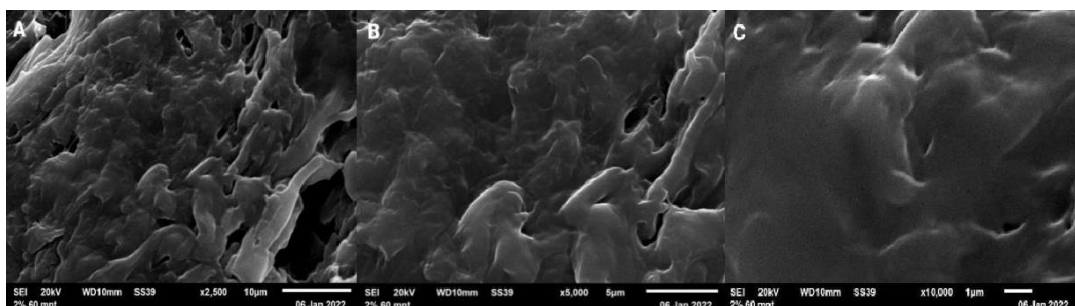
No	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		
		Kitin		Kitin Standar
		Literatur	Sampel	
1	OH (stetching)	3200-3600	3295,52	3265,49
2	C-H (alkana	2850-3000	2923,25	2931,80
3	C=O (ester)	1650-1760	1641,49	1658,78
4	C=C (cincin aromatik)	1500-1600	1557,59	1560,41
5	CH ₃	1325-1400	1372,41	1379,10
6	C-O-C (eter)	1230-1270	1037,75	1259,52

Kitin yang sudah diperoleh dengan analisis gugus fungsi pada spektrofotometer FTIR dapat menunjukkan sebagian pola serapan seperti Tabel 4.4. Grafik yang dihasilkan Gambar 4.4 membentuk puncak amida bilangan gelombang 1650 hingga 1760 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O *stretching* (Tan 2020). Oleh karena itu, puncak ini sesuai dengan gugus hidroksil C=O muncul pada 1660 hingga 1680 cm^{-1} .

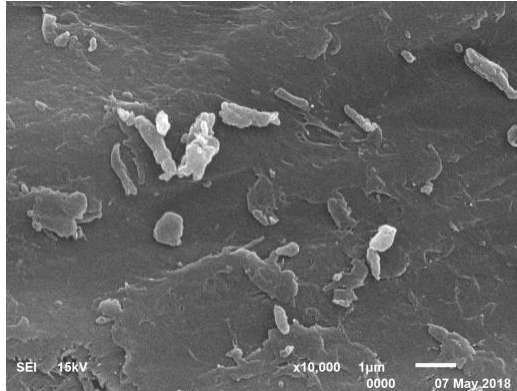
Terdapat pula pita serapan dengan vibrasi –OH yang terjadi pada 3295,52 cm^{-1} . Artinya, vibrasi ulur karbonil (amida I) sama dengan vibrasi gugus C=O. kemudian serapan lain pada 2923,25 cm^{-1} dari vibrasi C-H juga terjadi pada kitin dengan intensitas kuat. Adanya pita serapan antara 1500-1600 cm^{-1} pada titik 1557,59 cm^{-1} membantuk vibrasi cincin aromatik C=C. Sedangkan vibrasi CH₃ muncul bilangan gelombang 1372,41 cm^{-1} dan vibrasi C-O-C muncul bilangan gelombang 1037,75 cm^{-1} . Sehingga Tabel 4.4 terbukti terdapat data yang sesuai dengan literatur pada Gambar 4.4 bahwa serapan panjang gelombang yang muncul mengindikasikan hasil grafiknya merupakan senyawa kitin.

4.5 Pengujian Kitin dengan SEM

Selain melakukan pengujian dengan alat Ftir, maka digunakan juga pengujian kitin dengan alat mikroskop elektron (SEM) yaitu menunjukkan bagian morfologi pada sampel kitin yang telah di uji dengan menggunakan perbesarannya yaitu 2.500x, 5.000x, dan 10.000x. Berikut ini merupakan hasil gambar kitin yang telah diuji.



Gambar 4.6 Hasil uji SEM perbesaran (A) 2.500x, (B) 5.000x, (C) 10.000x



Gambar 4.7 Hasil Uji SEM Kitin Standar (Dhini Annisa,dkk. 2019)

Gambar 4.6 merupakan hasil uji SEM sampel kitin dari jamur tiram putih. Dari gambar A dan B menunjukkan bentuk morfologi pada kitin jamur hasil ekstraksi semakin jauh terlihat bentuk yang kasar atau bisa disebut juga sebagai bergerombol. Selain itu juga, ada bentuk seperti batang yang di selimuti dengan lembaran tipis. Sedangkan gambar C menunjukkan semakin besarnya perbesaran yang digunakan maka gambar terlihat seperti lembaran yang besar dengan bagian batang yang diselimuti kurang terlihat. Sehingga hanya terlihat seperti gambar yang besar dengan lubang-lubang kecil dengan jarak tertentu.

Ketiga gambar dari hasil uji SEM terhadap sampel penelitian, telah menunjukkan bahwa sampel yang diperoleh mengandung kitin dengan bahan baku jamur tiram putih dan sesuai dengan gambar hasil uji SEM beberapa literatur mengenai ekstraksi kitin dari jamur. Ini sangat berbeda morfologi bentuk kitin dan kitosan yang diekstraksi dari morfologi bentuk kitin standar pada Gambar 4.7. Hal ini merujuk berbagai sumber organisme yang digunakan untuk ekstraksi kitin mempengaruhi sifat dan karakteristik kitin terdapat kembali.