

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan pembuatan Nanokitosan berbasis jamur tiram putih (*pleurotus ostreatus*) melalui beberapa tahapan pembuatan, yaitu preparasi bahan dan alat, pembuatan kitosan, pembuatan larutan kitosan, pembuatan larutan TPP, pembuatan nanokitosan dan analisa uji FTIR dan SEM

4.1 Pengaruh Perbedaan TPP Terhadap Karakteristik Nanokitosan

Berikut ini data kadar Derajat Deasetilasi (DD) dan Yield yang didapatkan berat Kitosan yang digunakan yaitu 0,3 gram

Tabel 4.1 Data Kondisi Pembuatan dan Hasil dari Kitosan

Waktu (Menit)	Suhu (°C)	Jamur tiram (Bahan Baku) (gr)	kitosan (Produk) (gr)	Persentase Produk/bahan baku	Konsentrasi HCl (C1) (Molar)	Vol HCl (V1)	Konsentrasi NaOH (C2) (Molar)	Vol Titrasi (larutan NaOH) (V2)	Massa Kitosan (gr)	%Derajat Deasetilasi (DD)
120	60	15	3.2	0.213	0.1	30	0.25	7.9	0.3	54.997

Tabel 4.2 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	
<input type="checkbox"/> Rendah	< 200
<input type="checkbox"/> Sedang	200-799

<input type="checkbox"/> Tinggi	800-2.000
<input type="checkbox"/> Paling tinggi	> 2000

Sumber : Setiautami, 2013

Dalam pembuatan kitosan ini kami sudah melakukan pengulangan sebanyak kurang lebih 5x dengan variasi kadar DD yang bervariasi dengan berbagai faktor yang akan dijelaskan dibawah ini.

Pada data pada tabel 4.1 terlihat derajat deasetilasi (kadar DD) kitosan yang diperoleh yaitu sebesar 54,997 atau 55% sedangkan standar rata-rata kitosan pada tabel 4.2 memiliki nilai kadar DD >70% (Setiautami, 2013), ini bisa terjadi karena beberapa factor yang dapat mempengaruhi nilai kadar DD dan yield seperti konsentrasi NaOH, temperatur dan juga waktu.

Salah satu factor yang mempengaruhi nilai kadar DD dan yield yang didapatkan yaitu faktor suhu, semakin lamanya proses pemanasan yang dilakukan maka akan membuat semakin banyak mineral yang akan hilang sehingga berat kitosan yang dihasilkan akan semakin kecil. Kemudian faktor selanjutnya yaitu waktu, jangka waktu yang cukup lama dapat mempengaruhi nilai kadar DD yang didapat karena perpanjangan waktu yang berlebihan akan menyebabkan penurunan efisiensi deasetilasi. Hal ini dikarenakan kitosan akan mengalami kejenuhan dan produk lain akan mulai terbentuk seperti natrium asetat, sehingga apabila waktu yang digunakan terlalu lama maka efisiensi deasetilasi akan mengalami penurunan (Liu, 2017). Waktu reaksi merupakan faktor yang dapat mempengaruhi hasil produk kitosan yang diperoleh, semakin lama waktu reaksi, maka nilai derajat deasetilasi (DD) kitosan yang dihasilkan akan semakin tinggi, karena seiring berjalannya waktu, molekul pelarut (NaOH) akan teradisi ke dalam molekul kitin, semakin lama waktu reaksi akan semakin banyak pula molekul pelarut (NaOH) yang akan teradisi ke dalam molekul kitin sehingga membuat yield produk kitosan akan menurun. Sehingga waktu reaksi yang terlalu singkat atau terlalu lama akan menyebabkan proses deasetilasi berjalan tidak sempurna, karena jika terlalu singkat maka akan banyak gugus asetil yang belum tereduksi dan apabila terlalu lama maka reaksi akan melampaui titik kesetimbangan (Chang, et al 1997).

Tabel 4.3 Data Kadar Derajat Deasetilasi (DD) dan Yield Kitosan yang Didapat.

	Kadar DD (%) Kitosan	Yield (%) Kitosan
Sampel 1 (TPP 0)	54.997	21.33

Tabel 4.4 Data Berat dan Yield Nanokitosan yang Didapat dari Variasi TPP

	Berat Nanokitosan yang sudah dikeringkan	Persentase	Yield (%) Nanokitosan
Sampel 1 (TPP 0)	0.11	0.44	44
Sampel 2 (TPP 0.2)	0.11	0.44	44
Sampel 3 (TPP 0.4)	0.11	0.44	44
Sampel 4 (TPP 0.6)	0.12	0.48	48
Sampel 5 (TPP 0.8)	0.1	0.4	40
Sampel 6 (TPP 1.0)	0.1	0.4	40

Larutan TPP berfungsi sebagai zat pengikat silang yang akan memperkuat matriks nanopartikel kitosan (Yongmei dan Yumin, 2003). Trifolifosfat (TPP) dengan gugus negatifnya ($P_3O_{10}^{5-}$) akan berinteraksi secara ionic dengan dengan gugus positif kitosan (NH_3^+) pada kitosan melalui pembentukan ikatan gelas ionic antara kitosan dengan TPP. Trifolifosfat (TPP) dipilih sebagai pengikat silang karena TPP memiliki lebih banyak muatan negatif sehingga dapat

berinteraksi lebih kuat dibandingkan polianion lain seperti sulfat dan sitrat, TPP juga bersifat Non-Toksik sehingga dapat juga diaplikasikan dalam medis (Alauhdin. M. N. Widiarti 2014).

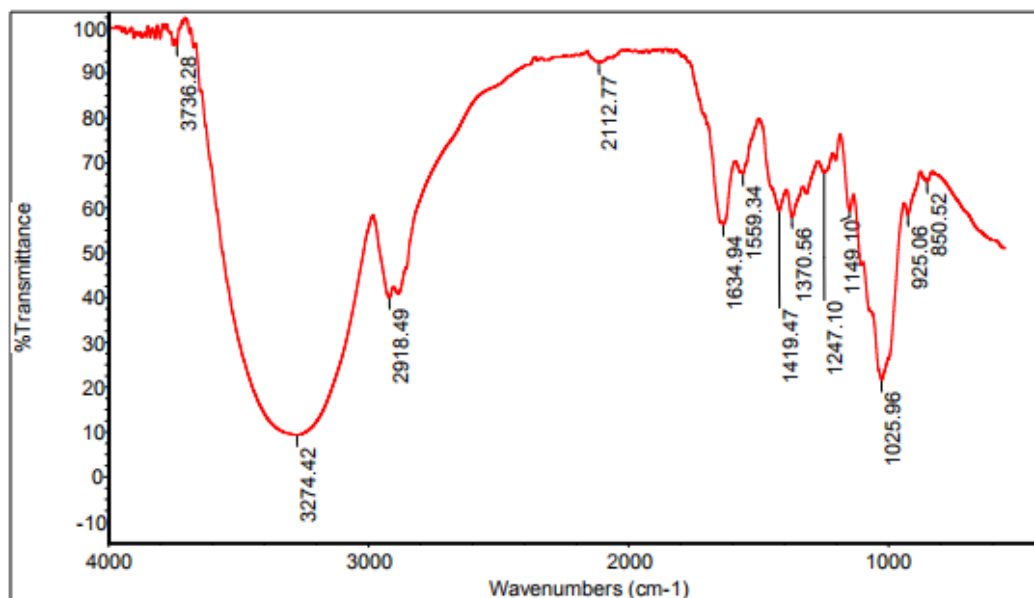
Pengadukan yang dilakukan dalam pembuatan nanokitosan ini menggunakan alat magnetic stirrer, magnetic stirrer memiliki kelebihan yaitu proses homogenisasi antara larutan kitosan dengan bahan gelasi ionic, dapat dikendalikan secara merata dengan kecepatan yang tinggi menghasilkan partikel-partikel yang homogen dan stabil tidak terjadi aglomerasi (pengumpulan atau penumpukan partikel atau zat menjadi satu) sedangkan apabila menggunakan alat lain pembentukan partikel bisa lebih kecil tetapi masih terjadi aglomerasi partikel, sehingga dalam proses pengeringan yang terbentuk partikel nano hanya partikel yang sudah stabil terlebih dahulu bukan yang aglomerasi.

Pada teori kinetic molekul gas menyatakan bahwa molekul gas sering bertumbukan satu dengan lainnya. Laju reaksi akan berbanding lurus dengan banyaknya atau frekuensi tumbukan molekul. Semakin cepat putaran pada magnetic stirrer, akan memperbanyak intensitas molekul pelarut untuk bersentuhan atau bertumbukan dengan kitosan, sehingga semakin besar kecepatan putaran pada magnetic stirrer partikel yang dihasilkan akan semakin kecil (Chang 2005). Penambahan jumlah trifolifosfat akan menurunkan jumlah nanopartikel kitosan yang akan terbentuk (Shu dan Zhu 2002).

4.2 Uji FTIR

Uji FTIR yaitu pengujian dengan basis alat spektroskopi menggunakan sinar infra merah, pengujian ini biasanya dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa, mengetahui gugus fungsi, dan menganalisis campuran dan sampel yang dianalisis. Pada penelitian ini uji FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada kitosan dan nanokitosan

4.2.1 Uji FTIR Kitosan



Gambar 4.1 Spektrum FTIR Kitosan

Pada gambar 4.1 memperlihatkan spectra FTIR dari kitosan. Pada spectra di atas terlihat pita-pita serapan kitosan yang muncul pada berbagai bilangan, dimana pada puncak pita serapan pada bilangan gelombang yaitu $3274,42 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus fungsi O-H, pita serapan pada bilangan $1634,94 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus fungsi N-H, pita serapan pada bilangan $1370,56 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus fungsi C-H, pita serapan pada bilangan $1247,10 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus fungsi C-N, pita serapan pada bilangan $1247,10 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus fungsi C-O

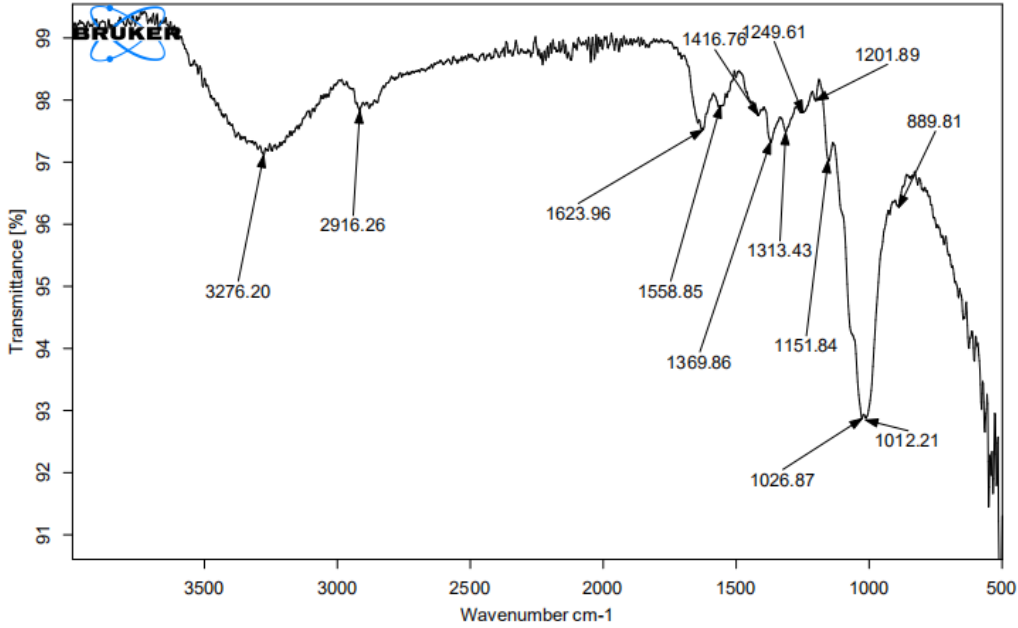
Tabel 4.5 Serapan FTIR Kitosan

Gugus Fungsi	Bilangan gelombang kitosan uji (cm^{-1})	Rentang bilangan gelombang (cm^{-1}) (Pavia et al., 2009)
O-H stretching	3274,42	3200-3650
N-H bending	1634,94	1560-1640

C-H bending	1370,56	1370-1465
C-N stretching	1247,10	1000-1350
C-O stretching	1247,10	900-1300

Berdasarkan perbandingan dari nilai literature dengan nilai spectra IR hasil penelitian, menunjukkan gugus fungsi pada masing-masing senyawa masuk dalam rentang nilai gugus fungsi dari literature yang menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut adalah kitosan.

4.2.2 Uji FTIR Nanokitosan



Gambar 4.2 Spektrum FTIR Nanokitosan

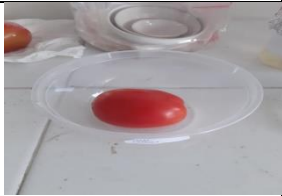





Pada gambar 4.2 menunjukkan antara kitosan dan TPP telah terjadi interaksi, yang ditandai bergesernya bilangan gelombang pada gugus O-H yaitu dari $3274,42\text{ cm}^{-1}$ (kitosan, gambar 4.1) menjadi $3276,20\text{ cm}^{-1}$, kemudian bergesernya juga bilangan gugus N-H yaitu dari $1634,94\text{ cm}^{-1}$ (Kitosan, gambar 4.1) menjadi $1623,96\text{ cm}^{-1}$.












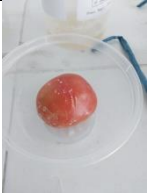
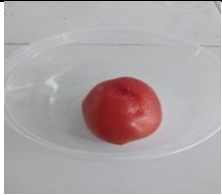





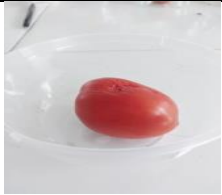





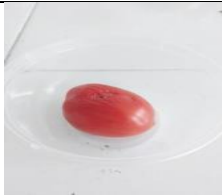











Pada spectra FTIR nanopartikel kitosan dengan penstabil TPP terdapat puncak serapan baru pada bilangan gelombang $1012,21\text{ cm}^{-1}$, yang menunjukkan spectrum serapan gugus posfat (P=O), yang diduga berasal dari TPP yang digunakan dalam pembuatan nanopartikel kitosan. Pergeseran bilangan gelombang dan intensitas pada hasil FTIR ini menunjukkan terjadinya ikatan silang antara ion ammonium pada kitosan dan ion posfat pada TPP.

4.3 Uji Susut Bobot

Pada penelitian ini, mengaplikasikan edible coating terhadap permukaan buah tomat yaitu dengan cara mencelupkan tomat pada edible coating. Metode ini biasanya dilakukan pada sayur dan buah.

Tabel 4.6 Hasil Pengamatan Tomat

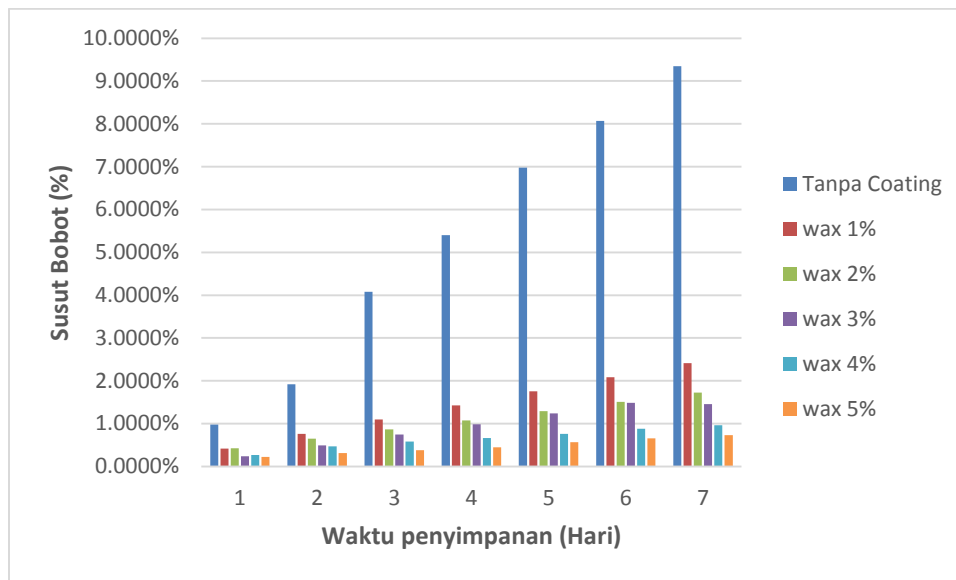
Hari penyimpanan	Tomat tanpa Edible Coating	Tomat dengan pelapisan Edible Coating				
		wax 1%	wax 2%	wax 3%	wax 4%	wax 5%
Hari Ke-1						

Hari Ke-2						
Hari Ke-3						
Hari Ke-4						
Hari Ke-5						
Hari Ke-6						
Hari Ke-7						

Tabel di atas menunjukkan kondisi buah tanpa pelapisan edible coating, dan buah tomat yang dilapisi edible coating dengan variasi wax 1%, 2%, 3%, 4% dan 5% selama 7 hari masa penyimpanan. Dilihat dari warna dan teksturnya, tomat tanpa dilapisi oleh edible coating mengalami perubahan warna tomat pada hari ke-3 penyimpanan menjadi warna merah yang

sedikit tambah lebih tua dengan sedikit kecoklatan, sedangkan tomat yang dilapisi edible coating mengalami perubahan warna dari hari ke hari namun tidak terlalu signifikan. Selain itu tomat tanpa edible coating sudah mulai mengalami penyusutan pada hari ke-4 sedangkan tomat yang dilapisi edible coating tidak terlihat mengalami penyusutan secara kasat mata atau secara fisik.

Susut bobot merupakan salah satu factor yang mengindikasikan kualitas sebuah tomat. Susut bobot atau penurunan berat pada buah dapat terjadi akibat proses respirasi (Proses masuknya oksigen dan keluarnya karbondioksida), transpirasi (proses pergerakan air dalam tubuh tanaman atau buah dan hilang menjadi uap air ke atmosfer) dan aktivitas bakteri. Nilai susut bobot buah dapat dihitung berdasarkan selisih berat awal buah dengan berat pada saat dilakukannya pengamatan terhadap buah. Pada penelitian ini dilakukan perlakuan penambahan konsentrasi rice bran wax agar dapat mengetahui pengaruhnya terhadap susut bobot buah tomat.



Gambar 4.3 Susut Bobot Tomat Berdasarkan Konsentrasi Coating Rice Bran Wax

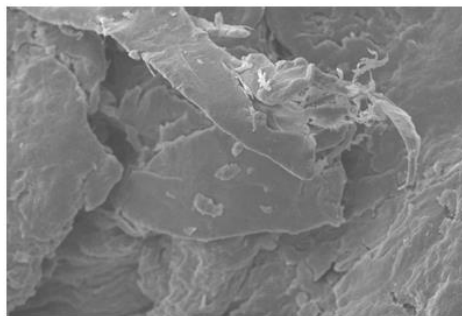
Pada penelitian ini yang divariasikan adalah konsentrasi rice bran wax yaitu 1%, 2%, 3%, 4% dan 5%. Grafik diatas menunjukkan bahwa pelapisan *edible coating* pada permukaan buah tomat dapat menahan dan menurunkan penyusutan bobot tomat ketika menggunakan *edible coating* rice bran wax secara signifikan. Penambahan susut bobot pada buah yang disimpan disebabkan oleh kehilangan kandungan air, kehilangan kandungan air dapat menyebabkan kurangnya mutu dan kerusakan produk seperti terjadinya layu dan pembusukan (Muchtadi dan

Sugiyono. 1992). Ini dikarenakan *edible coating* memiliki sifat yang dapat menahan laju perpindahan uap air (respirasi) dari buah tomat itu sendiri

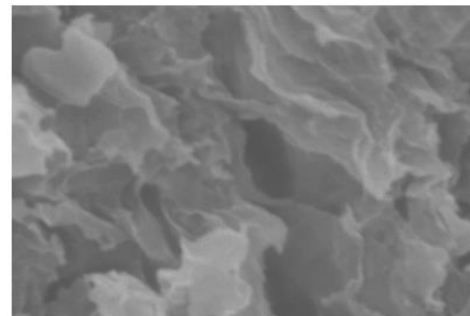
Gambar 4.3 menunjukkan nilai susut bobot tertinggi pada hari ke-7 nilai susut bobot tanpa coating, konsentrasi rice bran wax 1%, 2%, 3%, 4%, 5% berturut-turut yaitu 9,3479%, 2,415%, 1,727%, 1,4564%, 0,9645%, 0,7329%. Dapat dilihat bahwa, semakin bertambah nya konsentrasi rice bran wax menyebabkan penurunan susut bobot pada buah tomat. Menurut (Suharjo, 1992) transpirasi pada buah menyebabkan ikatan sel menjadi longgar dan ruang udara menjadi besar seperti mengeriput, keadaan sel yang demikian menyebabkan perubahan volume ruang udara, tekanan turgor, dan kekerasan buah. Dengan adanya coating rice bran wax, akan menutup pori-pori dari ikatan sel tersebut dan mencegah terjadinya tranpirasi pada buah. Oleh karena itu, semakin meningkatnya kadar konsentrasi rice bran wax pada coating buah tomat akan meningkatkan ikatan partikel coating menjadi lebih kecil yang nantinya dapat melapisi pori-pori buah dan menurunkan penyusutan bobot tomat.

4.4 Analisa Morfologi dengan Menggunakan *Scanning Elektron Microscop* (SEM)

Analisa *Scanning Elektron Microscop* (SEM) ini dilakukan untuk mengetahui bentuk morfologi permukaan dan homogenitas suatu bahan atau sampel, disini sampel yang kita buat yaitu nanokitosan dengan bahan dasar jamur tiram. Hasil analisa ini juga dapat mengidentifikasi struktur lapisan yang terbentuk, homogenitas suatu bahan, halus atau kasarnya permukaan sehingga bentukan, lekukan, tonjolan dan pori-pori nya dapat terlihat (Ulpa, 2011).



(a)



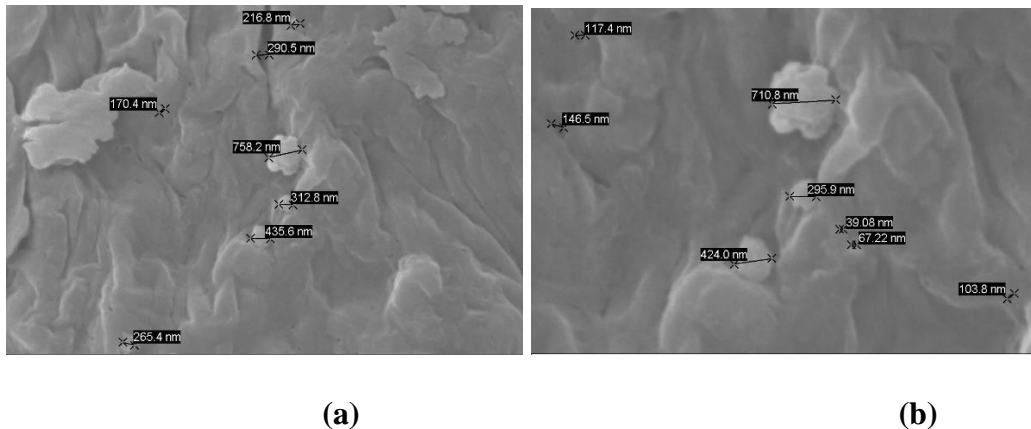
(b)

Gambar 4.4 Morfologi Permukaan Hasil SEM Nanokitosan Perbesaran (a) 1000x dan (b) 20.000x

Pada gambar 4.4 (a) terlihat pori-pori dari sampel Nanokitosan yang mulai pecah dan putus karena pengaruh dari pemberian TPP, surfaktan, pengadukan dan pemanasan yang dilakukan. Sedangkan pada gambar 4.4 (b) pada perbesaran 20.000x terlihat permukaan kitosan yang berukuran kecil atau adanya kitosan yang berukuran nano. Fungsi diberikannya TPP bertujuan untuk menghindari terbentuknya gumpalan (agregat) dan sebagai penstabil nanopartikel yang terbentuk. Namun pemberian TPP yang terlalu banyak atau konsentrasi kitosan yang terlalu banyak akan membuat nano partikel yang terbentuk tidak optimal atau sedikit nya nano partikel yang akan terbentuk. Penambahan jumlah TPP akan menurunkan jumlah nano partikel kitosan yang terbentuk (Shu dan Zhu 2002). Penambahan surfaktan bertujuan untuk menstabilkan emulsi partikel dalam larutan dengan cara mencegah terjadinya atau timbulnya penggumpalan (aglomerasi) antar partikel (Keuteur 1996). Hasil karakterisasi morfologi nanokitosan dengan metode gelas ionic (penambahan TPP) menunjukkan adanya permukaan berpori pada struktur nanokitosan, permukaan yang berpori ini dikarenakan pengaruh dari pengeringan (Foodreview, 2013)

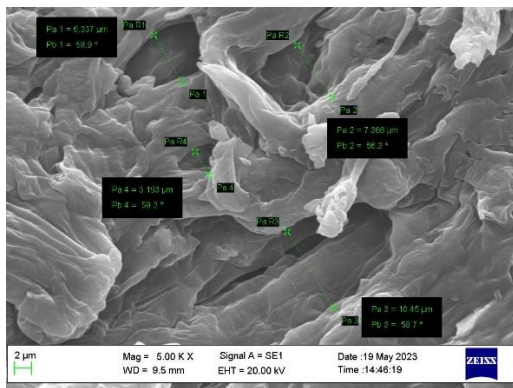
4.5 Analisa Ukuran Partikel

Pada analisa ini bertujuan untuk mengetahui ukuran dari nanokitosan yang dibuat

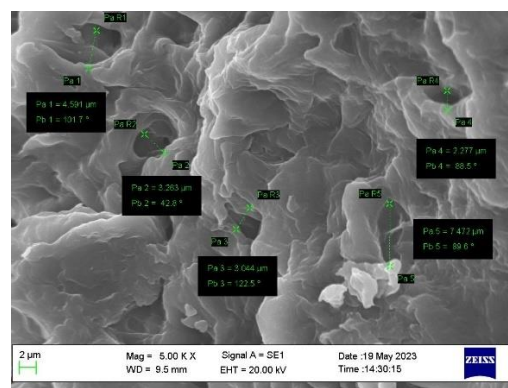


Gambar 4.5 Nanokitosan dengan TPP 0,4% dengan (a) perbesaran 10.000x dan (b) perbesaran 20.000x

Pada Gambar 4.5 (a) pada perbesaran 10.000x, dan Gambar 4.5 (b) pada perbesaran 20.000x terlihat ukuran partikel nanokitosannya yaitu 39,08nm - 754,1nm. Namun ada diantara partikel yang masih berukuran mikro ini disebabkan karena pengaruh perbandingan massa antara kitosan dan TPP ditemukan bahwa pebandingan massa antar kitosan dan TPP juga memberikan pengaruh yang cukup besar. Karena semakin kecil perbandingan massa antara kitosan dan TPP yang dimasukkan maka ukuran nanopartikel kitosan akan menurun seperti misalnya perbandingan kitosan dan TPP antara 4:1 dengan 2,9:1 lebih bagus perbandingan 2,9:1 karena perbedaannya tidak terlalu jauh. Namun penurunan ukuran nanopartikel ini tidak mutlak terjadi, karena ada suatu kondisi dimana perbandingan dibawah 3,03:1 justru membuat ukuran nanopartikel ini meningkat secara drastic. Pada perbandingan 4:1 larutan reaksi berubah warna menjadi jernih ini dikarenakan volume TPP tidak cukup banyak untuk melakukan reaksi cross-linking dengan kitosan sehingga pembentukan nanokitosan tidak terjadi secara sempurna. Ketika perbandingan massa kitosan diperkecil volume TPP ditambah maka ukuran nanopartikel kitosan akan berkurang dikarenakan meningkatnya cross-linking yang terjadi antara kitosan dan TPP. Namun ketika perbandingan massanya lebih rendah dari 3,03 :1, maka kitosan sudah ter cross-linking seluruhnya dan TPP yang tidak bereaksi akan menyebabkan ukuran partikel lebih besar. Nanopartikel merupakan butiran atau partikel padat dengan kisaran ukuran 10-1000 nm (Mohanraj dan Chen 2006).

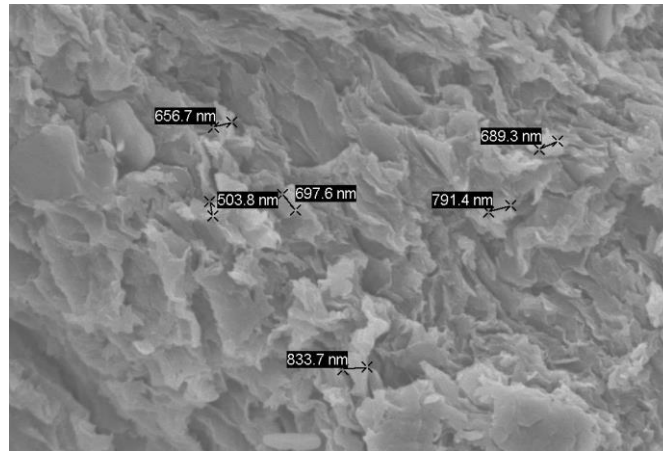


(a)



(b)

Gambar 4.6 Nanokitosan dengan perbesaran 5000x dengan konsentrasi TPP (a) 0,2% dan (b) 0,3%



Gambar 4.7 Nanokitosan dengan Perbesaran 5000x dengan konsentrasi TPP 0,4%

Pada Gambar 4.6 (a) Nanokitosan dengan konsentrasi TPP 0,2% memiliki rasio ukuran partikel 3,193 – 10,45 μm dan pada Gambar 4.6 (b) Nanokitosan dengan konsentrasi TPP 0,3% memiliki rasio ukuran partikel 2,277 – 7,742 μm . Sebagai pembandingan dapat kita lihat pada Gambar 4.7, Nanokitosan dengan konsentrasi 0,4% TPP memiliki rasio ukuran partikel 503,8 – 791,4 nm. Dalam pembentukan nanopartikel kitosan (Nanokitosan) dibutuhkan penstabil berupa Natrium Tripolyphosphate (Na-TPP), TPP merupakan polyanion non-toksik yang dapat berinteraksi dengan kation pada kitosan dengan gaya elektrostatis. Perbedaan ukuran pada setiap konsentrasi TPP ini tentunya disebabkan oleh TPP sendiri sebagai penstabil matriks nanopartikel (Shu, 2002; Ko *et al* 2002; Rodriguez, 2012).

Pada proses pembentukan Nanopartikel kitosan terjadi proses yang dinamakan gelasi ionik. Proses gelasi ionik ini merupakan proses terjadinya sambung silang antara polielektrolit yang bermuatan (Mourya *et al*, 2000). Dalam proses gelasi ionik sendiri terjadi ikatan ion antara anion $-\text{P}_3\text{O}_{15}^-$ pada TPP dengan kation NH_3^+ pada satu gugus kitosan. Oleh karena itu, Dapat disimpulkan dari pembahasan sebelumnya, semakin besar konsentrasi TPP maka akan semakin banyak kemungkinan terjadi proses gelasi ionik yang menyebabkan semakin banyaknya

Nanokitosan yang didapat. Semakin tinggi konsentrasi TPP maka akan semakin kecil pula ukuran partikel yang didapat. (Bhumkar dan Pokharkhar, 2006)

Dalam pembuatan Nanokitosan terdapat banyak faktor yang dipengaruhi seperti banyak kitosan, banyak penyambung silang (TPP), pH larutan kitosan, suhu larutan kitosan, konsentrasi asam asetat dan kecepatan pengadukan (Fan et al, 2012). Ukuran partikel pada konsentrasi TPP 0,2% dan 0,3% yang belum mencapai ukuran nano dapat diakibatkan oleh faktor kurang banyaknya konsentrasi TPP tersebut.