

# SINTESIS KITOSAN DAN PEMANFAATANNYA SEBAGAI ANTI MIKROBIA IKAN SEGAR

---

F. Widhi Mahatmanti, Warlan Sugiyo, Wisnu Sunarto

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang

Abstrak. Penggunaan senyawa anti mikroba yang tepat dapat memperpanjang umur simpan suatu produk serta menjamin keamanan produk. Untuk itu dibutuhkan bahan sebagai anti mikroba yang alami supaya tidak membahayakan bagi kesehatan. Penggunaan kitosan untuk menghambat aktivitas mikrobia pada ikan nila segar akan diuji efektivitasnya. Pada penelitian ini kitosan yang digunakan sebagai anti mikrobia ikan nila disintesis dari cangkang udang windu (*Peneaus Monodon*). Populasi cangkang udang yang digunakan untuk penelitian ini adalah cangkang udang windu yang berasal dari Tempat Pelelangan Ikan Tambak Lorok Semarang Populasi ikan segar yang digunakan adalah ikan nila hidup yang langsung berasal dari tambak di Juwana Pati. Kitin dan Kitosan disintesis dari cangkang udang windu (*Peneaus Monodon*) dengan menggunakan metode Hong K.No (Mahatmanti, 2001). Kitin dan kitosan yang berhasil disintesis dikarakteristik hasilnya meliputi pengujian kadar air, kadar abu, kadar Nitrogen, Derajat Deasetilasi. Kitosan setelah dikarakteristik, digunakan sebagai anti mikrobia ikan nila segar. Kitosan dilarutkan dalam asam asetat 2% dengan konsentrasi kitosan bervariasi 1%, 1,5%, dan 2%. Sebagai control digunakan larutan asam asetat 2% dan akuades. Lama waktu penyimpanan ikan nila bervariasi 0 jam, 2 jam, 4 jam, 6 jam, 8 jam, 10 jam, 12 jam, dan 14 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Kitin mempunyai kadar air 2,5%, kadar abu 7,78%, kadar Nitrogen 5,6%, dan Derajat Deasetilasi 67,64%. Kitosan mempunyai kadar air 3,75%, kadar abu 8,75%, kadar Nitrogen 8,26%, dan Derajat Deasetilasi 81,11%. Hasil uji mikroba larutan kitosan terhadap ikan nila segar menunjukkan bahwa perlakuan dengan menggunakan larutan kitosan 1% pada ikan nila selama 10 jam ( $A_1B_1$ ) yaitu sebesar  $38.10^4$  Sel/ mL adalah kondisi paling optimum.

Kata Kunci : Kitosan, Anti mikrobia, Ikan Nila Segar.

## PENDAHULUAN

Ikan merupakan 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. Pendinginan akan memperpanjang masa simpan ikan. Pada suhu 15-20°C, ikan dapat disimpan hingga sekitar 2 hari, pada suhu 5°C tahan selama 5-6 hari, sedangkan pada suhu 0°C dapat mencapai 9-14 hari, tergantung spesies ikan.

Pengolahan ikan agar lebih awet perlu dilakukan agar ikan dapat tetap dikonsumsi dalam keadaan yang baik. Pada dasarnya pengawetan ikan bertujuan untuk mencegah bakteri pembusuk masuk ke dalam ikan. Nelayan biasanya memberi es sebagai pendingin agar memperpanjang masa simpan ikan sebelum sampai pada konsumen. Demikian pula dengan maraknya penggunaan bahan tambahan pangan sebagai pengawet yang tidak diijinkan untuk digunakan dalam makanan seperti formalin dan borak yang membahayakan bagi kesehatan. Penggunaan anti mikroba yang tepat dapat memperpanjang umur simpan dan menjamin keamanan produk pangan 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. Pada bahan yang menunjukkan aktivitas anti mikroba dibutuhkan identifikasi lebih lanjut untuk mengetahui komponen aktif anti mikroba, konsentrasi dan waktu yang dibutuhkan untuk hasil yang optimum yang dibutuhkan untuk menghambat atau membunuh mikroba targetnya. Dengan pengawetan maka nilai ekonomis ikan akan lebih lama dibandingkan jika tidak dilakukan pengawetan.

Penggunaan senyawa anti mikroba yang tepat dapat memperpanjang umur simpan suatu produk serta menjamin keamanan produk. Untuk itu dibutuhkan bahan alternatif lain sebagai anti mikroba yang alami sehingga tidak membahayakan bagi kesehatan yaitu penggunaan kitosan untuk menghambat aktifitas mikroba. Kitosan dapat disintesis dari kulit udang dan dari cangkang binatang invertebrata lainnya seperti kepiting, rajungan, dan lain sebagainya. Kulit udang yang mengandung senyawa kimia kitin dan kitosan merupakan limbah yang mudah didapat dan tersedia dalam jumlah yang banyak, yang belum dimanfaatkan secara optimal.

Kejelian di dalam memilih bahan makanan yang sehat dan jenis pengawetan yang aman bagi tubuh manusia adalah langkah awal yang mempunyai andil sangat besar dalam menentukan mutu akhir dari suatu hidangan yang sekaligus pula menentukan derajat kesehatan manusia.

Berdasarkan uraian di atas, permasalahan yang timbul dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah kitosan dapat menjadi senyawa anti mikroba terhadap ikan segar?
2. Pada konsentrasi berapa kitosan dapat di gunakan secara optimal untuk menghambat pertumbuhan mikroba?
3. Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :
4. Mendapatkan kitosan sebagai alternatif senyawa anti mikroba yang alami sehingga tidak membahayakan bagi kesehatan serta tidak merusak kualitas produk.
5. Mendapatkan konsentrasi kitosan yang optimal sebagai bahan anti mikroba yang dapat memperpanjang masa simpan ikan segar.

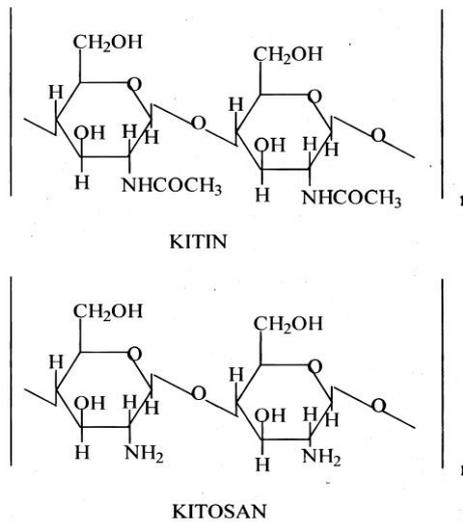
Ikan merupakan produk pangan yang sangat mudah rusak. Pembusukan ikan terjadi segera setelah ikan ditangkap atau mati. Pada kondisi suhu tropik, ikan membusuk dalam waktu 12-20 jam tergantung spesies, alat atau cara penangkapan. Pendinginan adalah salah satu cara yang mudah dan biasa dilakukan oleh nelayan dan masyarakat untuk memperpanjang masa simpan ikan. Pada suhu 15-20°C, ikan dapat disimpan hingga sekitar 2 hari, pada suhu 5 °C tahan selama 5-6 hari, sedangkan pada suhu 0 °C dapat mencapai 9-14 hari, tergantung spesies ikan.

## **Pemanfaatan Kitosan Sebagai Antimikroba**

Penggunaan senyawa antimikroba yang tepat dapat memperpanjang umur simpan suatu produk serta menjamin keamanan produk. Untuk itu dibutuhkan bahan alternatif lain sebagai antimikroba yang alami sehingga tidak membahayakan bagi kesehatan yaitu penggunaan kitosan untuk menghambat aktivitas mikroba. Kulit udang mengandung protein (25 % - 40%), kalsium karbonat (45% - 50%), dan kitin (15% - 20%), tetapi besarnya kandungan komponen tersebut tergantung pada jenis udangnya. Kitin berasal dari bahasa Yunani yang berarti baju rantai besi, pertama kali diteliti oleh Bracnot pada tahun 1811 dalam residu ekstrak jamur yang dinamakan *fungiue*. Pada tahun 1823 Odins mengisolasi suatu senyawa kutikula serangga Janis ekstra yang disebut dengan nama kitin. Kitin merupakan konstituen organik yang sangat penting pada hewan golongan *orthopoda*, *annelida*, *mollusca*, *corlengterfa*, dan *nematoda*. Kitin biasanya berkonyugasi dengan protein dan tidak hanya terdapat pada kulit dan kerangkanya saja, tetapi juga terdapat pada trachea, insang, dinding usus, dan pada bagian dalam kulit pada cumi-cumi.

Kitosan adalah polimer dari 2-amino-2 Deoksi-D-glukosa. Untuk membedakan polimer kitin dan kitosan berdasarkan kandungan nitrogennya. Polimer kitin mempunyai kandungan nitrogen

kurang dari 7% dan kitosan bila mempunyai kandungan nitrogen lebih dari 7%. Di alam kelompok kitin dan kitosan merupakan senyawa yang tidak dibatasi dengan stoikiometri secara pasti. Struktur kitin dan kitosan disajikan dalam gambar 1.



**Gambar 1. Struktur kitin dan kitosan.**

Pemanfaatan kitosan sangat banyak diantaranya, untuk pengawet makanan (pengganti formalin dan boraks), pengolahan limbah, obat pelangsing, kosmetik, dan lain sebagainya. Kitosan mempunyai gugus aktif yang akan berikatan dengan mikroba sehingga kitosan juga mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Satu hal yang sangat melegakan adalah kitosan sama sekali tidak berefek buruk. Saat ini, kitosan telah diproduksi secara industri di negara-negara maju terutama Jepang dan Amerika Serikat dan mengalami peningkatan yang cukup tajam. Kitosan ini merupakan bahan yang sumbernya melimpah dan dapat diperbaharui, maka dalam situasi pengurangan sumber-sumber alam yang berkelanjutan serta perkembangan bioteknologi yang demikian pesat menjadikan pemanfaatan sumber daya alam alternatif seperti limbah kulit udang merupakan hal yang sangat diperlukan.

## METODE PENELITIAN

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian di lakukan di laboratorium jurusan kimia dan jurusan biologi Universitas Negeri Semarang selama 4 bulan.

### Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi kulit udang yang digunakan untuk penelitian ini adalah kulit udang windu yang berasal dari Tempat Pelelangan Ikan Tambak Lorok Semarang Populasi ikan segar yang digunakan adalah ikan nila hidup yang langsung berasal dari tambak di Juwana Pati. Sampel dalam penelitian ini adalah kitosan hasil sintesis kulit udang windu yang disintesis di laboratorium kimia FMIPA UNNES. Sampel ikan yang diambil secara acak dan diketahui beratnya.

## Variabel Penelitian

Variabel bebas yaitu konsentrasi kitosan yang digunakan (0%, 1%, 1,5%, 2%) sebagai bahan anti mikrobia, masa simpan ikan (0 jam, 3 jam, 6, 9 jam, 10 jam, 12 jam, 14 jam) Variabel terikat yaitu optimasi kitosan sebagai bahan anti mikroba pada ikan segar pada waktu tertentu.

Variabel terkontrol yaitu variabel yang dijaga atau dikendalikan agar selalu konstan. Variabel ini meliputi suhu dan tekanan selama masa simpan, sifat-sifat sampel ikan, berat sampel ikan.

## Rancangan Penelitian

### 1. Alat dan Bahan

#### a. Alat dan bahan pembuatan kitin dan kitosan

- 1) Alat-alat gelas
- 2) Neraca analitis merk Ohaus
- 3) Saringan
- 4) Ayakan ukuran 50 mesh
- 5) Pengaduk
- 6) Pemanas
- 7) Termometer
- 8) Limbah udang windu (*Peneaus Monodon*)
- 9) NaOH p.a E. Merck
- 10) HCl pekat p.a E. Merck
- 11) Asam Asetat p.a E. Merck
- 12) Aquades

#### b. Alat dan bahan penentuan jumlah mikroba

- 1) Oven
- 2) Cawan Petri
- 3) Arloji
- 4) Kapas steril
- 5) Neraca analitik merk Ohaus
- 6) pH meter
- 7) Inkubator
- 8) Alat-alat gelas
- 9) Erlenmeyer
- 10) Ikan nila, kitosan dengan variasi konsentrasi dan masa simpan
- 11) Larutan kitosan 1 %, 1,5 % dan 2 %
- 12) Asam asetat
- 13) Ekstrak daging
- 14) Garam fisiologis 0,85%  
(0.85 g NaCl dalam 100 mL aquades)
- 15) Peptone
- 16) Agar powder
- 17) Aquades

### 2. Cara kerja

#### a. Pembuatan kitin dan kitosan

##### 1) Pembuatan kitin

Pembuatan kitin dan kitosan menggunakan metode Hong K. No (1989). Kulit, kepala, ekor udang yang tidak terpakai dikeringkan di udara terbuka, lalu digerus

kemudian diayak. Sebanyak 120 gram bahan tersebut ditempatkan dalam wadah kemudian ditambahkan NaOH 3,5% sebanyak 1200 mL dengan perbandingan (1:10), kemudian dipanaskan pada suhu 65<sup>0</sup>C selama 2 jam sambil diaduk. Setelah campuran dingin, disaring dan dicuci dengan akuades sampai netral. Hasilnya ditimbang 100 gram dan ditambahkan HCl 1 M sebanyak 1000 mL. Setelah selesai dicuci dengan akuades sampai netral dan dikeringkan pada suhu 65<sup>0</sup>C. Produk ini dinamakan kitin. Selanjutnya kitin dikarakterisasi gugus aktifnya menggunakan Spektrofotometri Infra Merah (IR) (Mahatmanti, 2001).

2) Pembuatan kitosan

Sebanyak 50 gram kitin ditambahkan dengan 500 mL NaOH 50% dengan perbandingan (1:10) dalam wadah dan diaduk sambil dipanaskan 100<sup>0</sup>C selama 30 menit. Setelah dingin disaring dan dicuci sampai netral dan dikeringkan pada suhu 65<sup>0</sup>C. Produk ini dinamakan kitosan. Selanjutnya kitosan dikarakterisasi gugus aktifnya menggunakan Spektrofotometri Infra Merah (IR) (Mahatmanti, 2001). Karakterisasi yang digunakan untuk membedakan kitin dan kitosan secara stoikiometri adalah kadar air, kadar abu, kadar N dan derajat deasetilasi (IR).

b. Karakterisasi kitin dan kitosan

1) Pengujian kadar air

Metode AOAC cara pemanasan (Sudarmadji, dkk., 1994).

- a) Timbang Sampel sebanyak 1-2 gr dalam cawan porselin atau gelas arloji yang telah diketahui beratnya.
- b) Masukkan dalam oven pada suhu 100-105<sup>0</sup>C selama 1-2 jam tergantung bahannya. Kemudian didinginkan dalam eksikator selama kurang lebih 30 menit dan ditimbang.
- c) Panaskan lagi dalam oven, didinginkan dalam eksikator dan diulangi hingga berat konstan.

Perhitungan kadar air dapat dilakukan dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{a - b}{c} \times 100 \%$$

Keterangan :

Sampel : Kitin dan Kitosan

- a : Berat cawan dan sampel awal (g)
- b : Berat cawan dan sampel setelah kering (g)
- c : Berat sampel awal (g)

2) Pengujian kadar abu (Sudarmadji, dkk., 1994)

- a) Timbang Sampel sebanyak 2-5 g dalam krus porselin yang kering dan telah diketahui beratnya.
- b) Lalu pijarkan dalam muffle sampai diperoleh abu berwarna keputih-putihan sambil diaduk.
- c) Kemudian krus dan abu didinginkan dalam eksikator selama kurang lebih 30 menit.
- d) Setelah dingin abu ditimbang.

Perhitungan kadar abu dapat dilakukan dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{a - b}{c} \times 100 \%$$

Keterangan :

Sampel : Kitin dan Kitosan

- a : Berat cawan dan sampel awal (gram)

- b : Berat cawan dan sampel setelah menjadi abu (gram)  
 c : Berat sampel awal (gram)

3) Penentuan kadar N

Menggunakan metode Makro-kyeldahl (AOAC, 1970).

- a) Ditimbang 1 gram bahan yang telah dihaluskan, masukkan kedalam labu kyeldahl.
- b) Tambahkan 7,5 gram K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan 0,35 gram HgO dan ditambah 15 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat.
- c) Campurkan dipanaskan dalam labu kyeldahl dalam almari asam sampai berhenti berasap. Teruskan pemanasan sampai cairan menjadi jernih dan dinginkan.
- d) Kemudian ditambahkan 100 ml akuades dalam labu kyeldahl yang didinginkan dalam air es dan beberapa lempeng Zn, tambahkan juga 15 ml larutan K<sub>2</sub>S 4 % (dalam air) dan akhirnya ditambahkan pelan-pelan larutan NaOH 50 % sebanyak 50 ml yang sudah didinginkan dalam almari es. Pasang labu kyeldahl dengan segera pada alat destilasi.
- e) Labu kyeldahl dipanaskan pelan-pelan sampai lapisan cairan tercampur, kemudian panaskan dengan cepat sampai mendidih.
- f) Distilat ditampung dalam erlenmeyer yang telah diisi dengan 50 ml larutan standart HCl 0,1 N dan 5 tetes indikator metil merah. Lakukan destilasi sampai destilat yang tercampur sebanyak 75 ml.
- g) Titration destilat yang diperoleh dengan larutan standart NaOH 0,1 N dan buat larutan blanko dengan mengganti bahan dengan akuades.

Perhitungan kadar % N dapat dilakukan dengan rumus sebagai berikut :

$$\% N = \frac{\text{ml NaOH (blanko - sampel)}}{\text{berat sampel (gram)} \times 1000} \times N. NaOH \times 14,008 \times 100 \%$$

4) Analisis Derajat Deasetilasi (IR)

Derajat deasetilasi adalah persentase gugus asetil yang berhasil dihilangkan selama proses deproteinasi kitin, dimana kitin diberi perlakuan dengan menambahkan NaOH 50 % yang menyebabkan terhidrolisisnya gugus asetil dari gugus asetamida pada kitin. Derajat deasetilasi dapat ditentukan dari spektrum serapan spektroskopi IR dengan metode garis dasar. Puncak tertinggi dicatat dan diukur dari garis dasar yang dipilih. Perbandingan dari bilangan gelombang antara serapan pita amida (1655 cm<sup>-1</sup>) dengan serapan pita hidroksi (3450 cm<sup>-1</sup>).

$$\% \text{ Derajat Deasetilasi} = 100 \frac{A_{1655} \times 100}{A_{3450} \times 1,33} \%$$

(Sumber : Bastaman S, 1989)

Keterangan :

- Sampel : Kitin dan Kitosan  
 A<sub>1655</sub> : Serapan pita amida  
 A<sub>3450</sub> : Serapan pita hidroksi

c. Pemanfaatan kitosan sebagai bahan antimikroba

Untuk mencari optimalisasi kitosan sebagai bahan anti mikroba maka kitosan yang digunakan divariasi konsentrasinya dengan cara melarutkan kitosan (w/v) kedalam asam asetat 2% (v/v). (Ahmad M dkk, 2003).

Sampel ikan nila yang diambil dari tambak, kemudian ditimbang untuk diketahui beratnya. Sampel ikan masing-masing direndam dalam larutan kitosan dengan konsentrasi yang bervariasi dengan perbandingan 1 kg ikan/1 L larutan kitosan.

Penyimpanan dilakukan dengan variasi waktu sampai batas aman yang ditetapkan SNI untuk jumlah mikroba dalam ikan beku adalah  $5 \times 10^5$  sel/mL.

Penentuan Jumlah Mikroba (Rahayu, dkk., 2004).

1) Sterilisasi Alat-alat Gelas

Cara kerja :

- a) Alat-alat yang akan disterilisasi dibungkus dengan kertas koran hingga tertutup semua dengan rapi.
- b) Alat-alat dimasukkan dalam *autoclave* dan dipanaskan pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 10-15 menit.
- c) Autoclave dimatikan dan dibiarkan sampai suhunya dingin.
- d) Alat-alat diambil dan dipergunakan atau disimpan dalam tempat yang aman dan masih dalam keadaan terbungkus.

2) Pembuatan Medium Nutrien Agar (NA)

Bahan :

Peptone	1 g
NaCl	0.5 g
Ekstrak of meat	0.5 g
Aquades	100 cc
Agar powder	2 g
pH =	7,2

Cara pembuatan :

- a) Menimbang bahan-bahan tersebut sesuai dengan kebutuhan dengan perbandingan seperti tersebut diatas.
- b) Masukkan ke dalam erlemeyer, tambahkan aquades dan campur sampai homogen.
- c) Diukur pHnya 7,2 dengan kertas lakmus atau pH meter.
- d) Erlemeyer ditutup dengan kapas rapat.
- e) Sterilkan dengan autoclave pada suhu  $121^\circ\text{C}$ , tekanan 1-2 atm selama 10-15 menit.
- f) Setelah di sterilkan, masih dalam keadaan hangat (suhu  $45-50^\circ\text{C}$ ) kemudian tuangkan ke dalam petridish untuk medium nutrient agar datar sedangkan tabung reaksi untuk agar miring.

3) Pengujian Jumlah Mikroba

- a) Dilarutkan 1 g sampel ke dalam 9 mL larutan garam fisiologis (larutan 1).
- b) Mengambil sampel 1 mL diencerkan menjadi  $1/10^2$  dengan menambahkan 9 mL larutan garam fisiologis (larutan 2).
- c) Dibuat pengenceran  $1/10^3$  dengan mengencerkan 1 mL larutan 2 ditambah 9 mL larutan garam fisiologis (larutan 3).
- d) Dibuat pengenceran  $1/10^4$  dengan mengencerkan 1 mL larutan 3 ditambah 9 mL larutan garam fisiologis (larutan 4).
- e) Dibuat pengenceran  $1/10^5$  dengan mengencerkan 1 mL larutan 4 ditambah 9 mL larutan garam fisiologis (larutan 5).
- f) Dibuat pengenceran  $1/10^6$  dengan mengencerkan 1 mL larutan 5 ditambah 9 mL larutan garam fisiologis (larutan 6).
- g) Dipipet 1 mL contoh yang telah diencerkan masing-masing ke dalam cawan petri, dimulai dari pengenceran yang terendah.
- h) Dituangkan  $\pm 15$  mL NA yang telah dipanaskan ( $47-50^\circ\text{C}$ ) ke dalam cawan petri sambil digoyangkan supaya campuran merata ke seluruh dasar petri.

- i) Cawan petri didiamkan selama 30 menit dan setelah beku dimasukkan ke inkubator dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama variasi masa simpan. Dihitung jumlah koloni yang tumbuh.
- j) Sebagai kontrol perhitungan dilakukan juga terhadap blanko ikan tanpa penambahan larutan kitosan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakterisasi kitin dan kitosan

Karakterisasi kitin dan kitosan secara lengkap dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Karakteristik Kitin dan Kitosan**

No	Sifat Fisik	Kitin	Kitosan
1.	Kadar Air	2,5%	3,75%
2.	Kadar Abu	7,78%	8,75%
3.	Kadar % N	5,6%	8,26%
4.	Derajat Deasetilasi	67,64%	81,11 %

### Pemanfaatan kitosan sebagai anti mikroba ikan segar

Pada pengujian ini akan diketahui jumlah mikroba pada ikan nila dengan berbagai perlakuan. Metode yang digunakan adalah metode uji angka lempeng total, dengan menghitung koloni pada serial pengenceran sampel. Hasil penelitian jumlah total mikroba pada ikan nila dengan variasi konsentrasi larutan kitosan dan lama penyimpanan dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2. Jumlah Total Mikroba (Sel/mL) Ikan Nila Pada Berbagai Konsentrasi Larutan Kitosan Dan Lama Penyimpanan Dengan Metode Hitungan Cawan.**

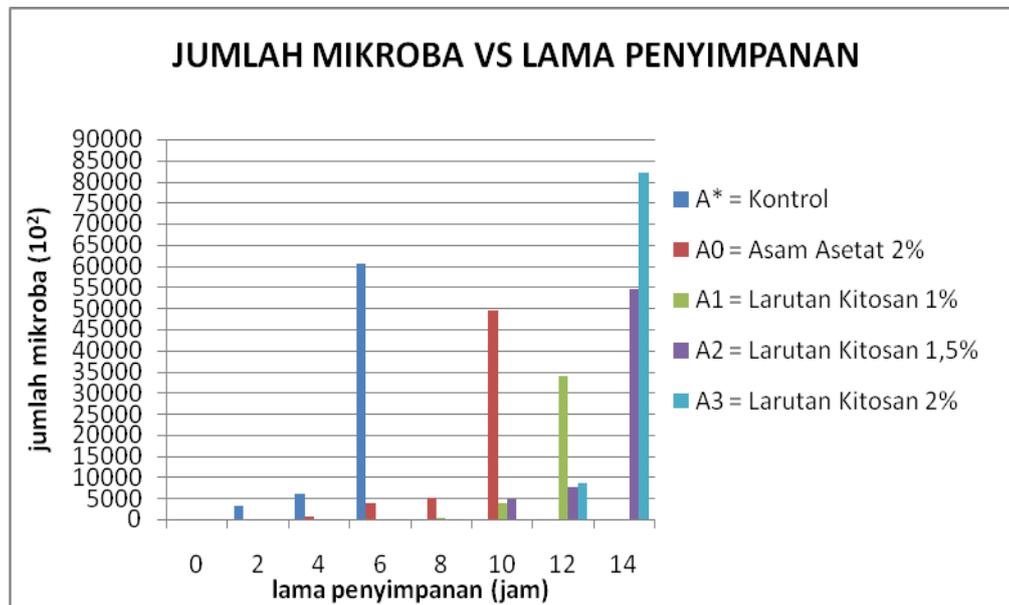
Sampel	Jumlah mikroba selama penyimpanan			
	(B <sub>0</sub> )	(B <sub>1</sub> )	(B <sub>2</sub> )	(B <sub>3</sub> )
A*	112.10 <sup>2</sup>	33.10 <sup>4</sup>	62.10 <sup>4</sup>	60,5.10 <sup>5</sup>
A <sub>0</sub>	58,5.10 <sup>3</sup>	39,5.10 <sup>4</sup>	52.10 <sup>4</sup>	49,5.10 <sup>5</sup>
A <sub>1</sub>	36.10 <sup>3</sup>	38.10 <sup>4</sup>	34.10 <sup>5</sup>	-
A <sub>2</sub>	46.10 <sup>4</sup>	77.10 <sup>4</sup>	54,5.10 <sup>5</sup>	-
A <sub>3</sub>	86.10 <sup>4</sup>	82.10 <sup>5</sup>	-	-

Keterangan :

- A\*B<sub>0</sub> = Larutan kontrol masa simpan 0 jam
- A\*B<sub>1</sub> = Larutan kontrol masa simpan 2 jam
- A\*B<sub>2</sub> = Larutan kontrol masa simpan 4jam
- A\*B<sub>3</sub> = Larutan kontrol masa simpan 6 jam
- A<sub>0</sub>B<sub>0</sub> = Larutan Asam asetat 2 % masa simpan 4 jam
- A<sub>0</sub>B<sub>1</sub> = Larutan Asam asetat 2 % masa simpan 6 jam
- A<sub>0</sub>B<sub>2</sub> = Larutan Asam asetat 2 % masa simpan 8 jam
- A<sub>0</sub>B<sub>3</sub> = Larutan Asam asetat 2 % masa simpan 10 jam
- A<sub>1</sub>B<sub>0</sub> = Larutan kitosan 1 % masa simpan 8 jam
- A<sub>1</sub>B<sub>1</sub> = Larutan kitosan 1 % masa simpan 10 jam
- A<sub>1</sub>B<sub>2</sub> = Larutan kitosan 1 % masa simpan 12 jam
- A<sub>2</sub>B<sub>0</sub> = Larutan kitosan 1,5 % masa simpan 10 jam
- A<sub>2</sub>B<sub>1</sub> = Larutan kitosan 1,5 % masa simpan 12 jam

A <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	= Larutan kitosan 1,5 % masa simpan 14 jam
A <sub>3</sub> B <sub>0</sub>	= Larutan kitosan 2 % masa simpan 12 jam
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	= Larutan kitosan 2 % masa simpan 14 jam

Tabel 2 dibuat dalam grafik berdasarkan jumlah mikrobia pada masa simpan tertentu, dapat dilihat dalam gambar 2. Berdasarkan uji cemaran mikroba, SNI.01-4110-1996 bahwa jumlah lempeng total mikroba maksimum yang masih diijinkan untuk ikan beku adalah  $5.10^5$  Sel/mL.



**Gambar 2. Grafik hubungan antara jumlah mikrobia dan lama penyimpanan**

Pada awal penyimpanan, total bakteri yang terdapat pada ikan nila masih dalam ambang batas. Selanjutnya jumlah bakteri semakin meningkat seiring dengan lamanya penyimpanan. Dari tabel 2 dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah mikroba tertinggi diperoleh pada perlakuan konsentrasi larutan kitosan 2 % selama 14 jam (A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>) yaitu sebesar  $82.10^5$  Sel/ mL, Dari hasil uji mikroba ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan menggunakan larutan kitosan 1 % pada ikan nila selama 10 jam (A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>) yaitu sebesar  $38.10^4$  Sel/ mL paling optimum karena jumlah total mikroba terendah diperoleh pada kontrol yaitu ikan nila tanpa perlakuan selama 0 jam (A<sup>\*</sup>B<sub>0</sub>) sebesar  $112.10^2$  Sel/ mL.

Pada umumnya keefektifan kerja antimikroba berhubungan secara eksponensial dengan konsentrasi (Irianto, 2006). Jika konsentrasi dinaikkan lagi maka tidak akan memberikan pengaruh yang signifikan. Kitosan mengandung gugus amino bebas yang bermuatan positif, yang dapat mengikat muatan negatif dari mikrobia (Widodo dkk, 2005).

Mekanisme kerja zat antimikroba secara umum adalah dengan merusak struktur-struktur utama dari sel mikroba seperti dinding sel, sitoplasma, ribosom, dan membran sitoplasma. Dengan adanya zat antimikroba (dalam hal ini adalah larutan kitosan yang bersifat **asam**) akan menyebabkan denaturasi protein. Keadaan ini menyebabkan inaktivasi enzim, sehingga sistem metabolisme terganggu atau menjadi rusak dan akhirnya tidak ada aktivitas sel mikroba (Volk dan Wheeler, 1990). Sebagai kation, kitosan mempunyai potensi untuk mengikat banyak komponen seperti protein. Muatan positif dari gugus  $NH_3^+$  pada kitosan dapat berinteraksi dengan muatan negatif pada permukaan sel bakteri (Helander et al, 2001). Adanya kerusakan pada dinding sel mengakibatkan pelemahan kekuatan dinding sel, bentuk dinding sel menjadi abnormal, dan pori-pori dinding sel membesar. Hal tersebut mengakibatkan dinding sel tidak mampu mengatur

pertukaran zat-zat dari dan ke dalam sel, kemudian membran sel menjadi rusak dan mengalami lisis sehingga aktifitas metabolisme akan terhambat dan pada akhirnya akan mengalami kematian. Dengan sifat tersebut kitosan dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan nila sehingga dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

### **Simpulan**

1. Kitosan dapat dimanfaatkan sebagai anti mikrobia ikan segar.
2. Hasil uji mikroba menunjukkan bahwa perlakuan dengan menggunakan larutan kitosan 1% pada ikan nila selama 10 jam ( $A_1B_1$ ) yaitu sebesar  $38.10^4$  Sel/ mL adalah kondisi paling optimum.

### **Saran**

Kitosan dapat dimanfaatkan sebagai anti mikrobia ikan segar. Kondisi lingkungan yang berbeda menyebabkan ikan mempunyai masa simpan yang berbeda. Mengingat kondisi tersebut maka perlu dilakukan penelitian terhadap jenis ikan yang lain.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Anonim. 2001. *Materi Penyuluhan bagi Perusahaan Makanan Industri Rumah Tangga*. Dinas Kesehatan Pemerintah Kabupaten Sleman.
- Anonim. SNI 01- 4110 – 1996. *Ikan Beku*. Badan Standarisasi Nasional (BSN).
- Ahmad M dan Nur Mazidah Shahidan, 2003. Membran Kitosan Terdop Bromotimol Biru sebagai Bahan Penderia untuk Pengesanan gas CO<sub>2</sub> Terlarut. *Malaysian Journal of Chemistry*. Vol. 5 No. 1, 015-022.
- Fahmi, R. 1997. Isolasi dan Transformasi Kitin Menjadi Kitosan. *Jurnal Kimia Andalas*. 3 (1) : 61 – 68.
- Ferrer, J., G. Paez, Z. Marmol, E. Ramons, H. Garcia and C.F. Forster. 1996. Acid hydrolysis of Shrimp ShellWastes and The Production of Single Chell Protein from The Hydrolysate. *Journal Bioresour Technology*. 57 (1) : 55 – 60.
- Focher, B., Naggi, A., Tarri, G., Cosami, A. and Terbojevich, M. 1992. Structural Differences Between Chitin Polymorphs and Their Precipitates from Solution Evidence from CP-MAS 13 C-NMR, FT-IR and FT-Raman Spectroscopy. *Charbohidrat Polymer*. 17 (2) : 97 – 102.
- Hirano, S. 1986. Chitin and Chitosan. *Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Republicka of Germany. 5th . ed. A 6: 231 – 232.
- Mahatmanti, W, 2001, Studi adsorpsi Ion Logam Seng(II) dan Timbal(II) Pada Kitosan dan Kitosan-sulfat Dari Cangkang Udang Windu (*Penaeus monodon*), *TesisS-2*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Mahatmanti, W; Woro Sumarni; Warlan Sugiyo. 2007. *Upaya Peningkatan Nilai Tambah Limbah Pengolahan Udang menjadi Kitosan di wilayah TPI Tambak Lorok Kota Semarang*. Laporan Pengabdian Kepada Masyarakat. LPM Universitas Negeri Semarang.
- Muzzarelli, R.A.A. 1986. Chitin. *Faculty of Medicine Univeersity of Ancona. Italy*. Pergamon Press. 81 –87
- Nuraini, Rahma. 2008. *Teknik Pengawetan Ikan untuk Dikonsumsi Dengan Metode Fermentasi Ensiling*. Sekolah Ilmu dan Tehnologi Hayati ITB.

- Nuswowati, M; Latifah, dan Endang Susilaningsih. 2007. *Kitosan sebagai Pengganti Boraks pada Bakso*. Laporan Pengabdian Kepada Masyarakat. LPM Universitas Negeri Semarang.
- Ristiati, Ni Putu. 2000. Pengantar Mikrobiologi Umum. Proyek Pengembangan Guru Sekolah Menengah IBRD Loan No. 3979. Departemen Pendidikan Nasional.
- Sarjono, P.R; N.S Mulyani; N Wulandari. 2008. Uji Antibakteri Kitosan dari Kulit Udang Windu (*Peneaus Monodon*) Dengan Metode Difusi Cakram Kertas. Universitas Diponegoro.
- Suseno, Sugeng Heri. 2006. *Abstrak Kitosan dari Limbah Invertebrata Laut Sebagai Bahan Pengawet Alami pada Pengolahan Ikan Asin*. Badan Penelitian dan Pengkajian Perikanan.
- Sudarmaji, Slamet; Bambang Haryono; Suhardi. 1994. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit : Liberty, Yogyakarta.
- Tokura, S. and N. Nishi. 1995. Specification and Characterization of Chitin and Chitosan. Collection of Working Papers. 28. Univesiti Kebangsaan Malaysia 8 : 67 – 78
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakata: P.T. Gramedia.
- Yudhabuntara, Doddi. 2003. Pengendalian Mikroorganisme Dalam Bahan Makanan Asal Hewan, *Jurnal Pangan*. Yogyakarta : UGM.