

“(Tema: 3 (pangan, gizi dan kesehatan))”

UJI TOTAL PLATE COUNT DAN ORGANOLEPTIK DARI BAKSO DENGAN PENGAWET KARBOKSIMETIL KITOSAN

Oleh

Mardiyah Kurniasih^{1*}, Purwati¹, Ratna Stia Dewi², Dadan Hermawan¹, Eva Vaulina¹,
Wulan M. Zuhna¹

¹Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

²Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

Email: m_kurniasih@yahoo.com

ABSTRAK

Bakso merupakan produk olahan yang mudah rusak karena mengandung kadar protein dan kadar air yang tinggi. Oleh karena itu, diperlukan pengawet seperti karboksimetil kitosan yang mempunyai gugus aktif yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Tujuan diadakan penelitian ini adalah untuk mensintesis karboksimetil kitosan yang kemudian diaplikasikan untuk memperpanjang daya tahan bakso. Karboksimetil kitosan adalah turunan kitosan yang diperoleh melalui proses eterifikasi alkalis dengan asam monokloroasetat pada suhu 80°C. Prosedur penelitian dibagi dalam lima tahap yaitu sintesis kitosan dan karboksimetil kitosan, karakterisasi hasil sintesis, aplikasi penambahan karboksimetil kitosan sebagai bahan pengawet bakso sapi dan analisis bakso terlapis karboksimetil kitosan. Hasil penelitian menunjukkan proses eterifikasi kitosan dengan asam monokloroasetat dapat menghasilkan karboksimetil kitosan sebanyak 36,19% (b/b). Karakterisasi dari karboksimetil kitosan yang meliputi kadar air, kadar abu, kelarutan dalam air, *porosity*, dan *efek swelling* berturut-turut sebesar 16,25%; 4,54%; 50,68%; 80,93%, dan 64,58%. Hasil uji organoleptik dan TPC menunjukkan pelapisan karboksimetil kitosan pada bakso disukai panelis dan dapat memperpanjang masa simpan bakso.

Kata kunci: bakso, karboksimetil kitosan, uji organoleptik, total plate count.

ABSTRACT

Meatballs are processed products that are easily damaged because they contain high levels of protein and water content. Preservatives such as carboxymethyl chitosan are needed which have an active group that can inhibit microbial growth. The purpose of this study was to synthesize carboxymethyl chitosan and applied to extend the durability of meatballs. Carboxymethyl chitosan is a chitosan derivative obtained through the alkalis etherification process with monochloroacetic acid at 80 ° C. The research procedure was divided into five stages, namely synthesis of chitosan and carboxymethyl chitosan, characterization of synthesis results, application of the addition of carboxymethyl chitosan as preservative for beef meatballs and analysis of carboxymethyl chitosan coated meatballs. The results showed the etherification process of chitosan with monochloroacetic acid can produce carboxymethyl chitosan. Characterization of carboxymethyl chitosan

including water content, ash content, water solubility, porosity, and swelling effects was 16.25%; 4.54%; 50.68%; 80.93%, and 64.58%. The organoleptic and TPC test results showed that the panelists liked carboxymethyl chitosan coating on meatballs and could extend the shelf life of meatballs.

Keywords: meatballs, carboxymethyl chitosan, organoleptic test, total plate count.

PENDAHULUAN

Bahan pengawet ditambahkan ke dalam makanan dengan tujuan untuk menghambat atau mencegah aktivitas mikroorganisme yang dapat merusak kualitas bahan makanan. Menurut Cahyadi (2006) secara umum bahan pengawet adalah bahan yang biasanya tidak digunakan sebagai makanan dan biasanya bukan merupakan komponen khas makanan, mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang dengan sengaja ditambahkan ke dalam makanan dengan maksud teknologi pada pembuatan, pengolahan, penyimpanan, perlakuan, pengemasan, dan penyimpanan. Penggunaan bahan pengawet tersebut harus tetap mengutamakan keamanan pangan. Menurut Food and Drugs Administration (FDA), keamanan suatu pengawet makanan harus mempertimbangkan jumlah yang mungkin dikonsumsi dalam produk makanan atau jumlah zat yang akan terbentuk dalam makanan dari penggunaan pengawet.

Bakso merupakan salah satu produk olahan yang sangat populer. Bakso yang dijual oleh pedagang belum tentu habis dalam satu hari. Pedagang bakso biasanya memilih bahan pengawet yang harganya murah sehingga memperoleh keuntungan yang banyak, misalnya formalin. Formalin bukanlah bahan pengawet pada makanan dan justru merupakan racun yang sangat berbahaya bila dikonsumsi oleh manusia baik dalam jumlah sedikit apalagi bila dikonsumsi dalam jumlah yang banyak (BPOM, 2006).

Salah satu penerapan kitosan yang penting dan dibutuhkan saat ini adalah sebagai pengawet bahan makanan pengganti formalin. Hal ini disebabkan dalam kitosan terdapat gugus aktif yang berinteraksi dengan mikroba, sehingga mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Bahan makanan yang ditambahkan dengan kitosan akan lebih awet karena aktivitas mikroba terhambat. Berdasarkan segi keamanan makanan (*food safety*) pemakaian kitosan sebagai pengawet alami aman untuk dikonsumsi karena kitosan merupakan polisakarida yang *biodegradable*. Hasil penelitian yang telah dilakukan Wulandari dkk. (2015) mengenai aplikasi kitosan untuk pengawetan bakso menunjukkan bahwa kitosan dapat memperpanjang masa simpan bakso.

Nilai pKa dari gugus amino dalam kitosan sekitar 6,5 sehingga kitosan akan larut dalam pH di bawah 6. Beberapa aplikasi dalam kesehatan, kosmetik, dan makanan menuntut kelarutan kitosan dalam pH netral. Kelarutan kitosan dalam pH netral dapat ditingkatkan dengan : (1) membuat derivat kitosan (Kurniasih *et al.*, 2018a dan Kurniasih *et al.*, 2018b); (2) meningkatkan nilai derajat deasetilasi dengan memodifikasi proses sintesis kitosan (Kurniasih dan Kartika, 2011).

Salah satu derivat kitosan adalah karboksimetil kitosan. Karboksimetil kitosan diperoleh melalui suatu proses eterifikasi alkalis kitosan dengan asam monokloroasetat (Kurniasih *et al.*, 2014). Karboksimetil kitosan ini mempunyai lebih mudah larut di dalam air dibandingkan dengan kitosan sehingga mudah diaplikasikan pada industri pangan maupun nonpangan, di samping itu karboksimetil kitosan bersifat *biodegradable*, *biocompatible* dan tidak beracun (Basmal dkk., 2007). Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan sifat antimikroba dan kelarutan yang tinggi dari karboksimetil kitosan untuk diaplikasikan sebagai pengawet alami pada bakso.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah limbah kulit udang, bola-bola bakso, NaOH, HCl, NaOCl, CH₃OH, CH₃COOH, ClCH₂COOH, larutan buffer pH 7,4, alkohol 70% dan Natrium Agar.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas, mikropipet, mortar, hot plate, tanur, blender, ayakan 100 mesh, alat refluks, neraca digital, oven, autoklaf, inkubator, dan *Fourier Transform Infrared* (FTIR).

Prosedur Penelitian

1. Sintesis kitosan

Prosedur sintesis kitosan mengacu pada penelitian Kurniasih dan Kartika (2011). Kulit udang diblender dan dihaluskan, disaring dengan ayakan 100 mesh. Satu gram serbuk kulit udang kemudian direaksikan dengan 10 mL NaOH 4% pada suhu 80°C selama 1 jam. Endapan yang diperoleh kemudian dicuci dan dikeringkan pada suhu 60°C. Satu gram endapan yang diperoleh kemudian direaksikan dengan HCl 1M sebanyak 15 mL pada suhu kamar selama 3 jam. Selanjutnya endapan tersebut dicuci sampai netral dan dikeringkan kembali. Satu gram endapan yang didapatkan kemudian direaksikan dengan

NaOCl sebanyak 10 mL sampai endapan yang semula coklat menjadi putih. Endapan tersebut kembali dicuci dan dikeringkan. Endapan tersebut merupakan kitin. Kitin yang diperoleh kemudian dideasetilasi dengan NaOH 60% pada suhu 120°C selama 3 jam. Endapan kitosan kembali dicuci dan dikeringkan.

2. Sintesis karboksimetil kitosan

Prosedur sintesis karboksimetil kitosan mengacu pada penelitian Kurniasih *et al.* (2014). Lima gram kitosan dilarutkan dalam 100 mL larutan NaOH 20% dan diaduk selama 15 menit. Kemudian 15 gram asam monokloroasetat ditambahkan kedalam larutan kitosan dan diaduk selama 2 jam pada suhu 80°C. Kemudian campuran larutan kitosan-monokloroasetat dinetralkan dengan larutan asam asetat 10%, selanjutnya dituangkan kedalam larutan metanol 70% berlebih, disaring dan dicuci dengan metanol. Produk karboksimetil kitosan yang diperoleh kemudian dikeringkan pada suhu 55°C.

3. Karakterisasi karboksimetil kitosan

- a. Karakterisasi dengan Fourier Transform Infrared (FTIR)
- b. Penentuan kadar air (AOAC, 2005)
- c. Penentuan kadar abu (AOAC, 2005)
- d. Uji kelarutan (Kurniasih *et al.*, 2014)
- e. Penentuan *porosity* (Sekomo *et al.*, 2011)

Porosity η [%] dihitung dari rata-rata *bulk density* dan *particle density*.

$$\eta = 1 - \frac{\rho_b}{\rho_p} \times 100$$

Pengukuran *bulk density*: $\rho_b = \frac{m_{v,r}}{V_1}$

Dimana $m_{v,r}$ adalah massa sampel padatan yang menempati suatu gelas ukur dan V_1 adalah volume gelas ukur.

Pengukuran *particle density*: $\rho_p = \frac{m_{v,r}}{V_2}$

Dimana $m_{v,r}$ adalah massa sampel padatan yang ditambahkan ke air dalam gelas ukur dan V_2 adalah volume padatan yang dihitung sebagai volume total dikurangi volume air.

- f. Penentuan efek *swelling* (Nggah *et al.*, 2002)

Sebanyak 20 ml larutan buffer dengan pH 7,4 ditempatkan ke dalam *beker glass* kemudian 10 mg kitosan dimasukkan ke dalam *beker glass* yang telah berisi larutan buffer dan dibiarkan selama 24 jam sampai mengembang. Setelah mengembang kitosan disaring dan ditimbang sampai menunjukkan angka timbangan yang konstan. Perlakuan yang sama dilakukan untuk menentukan *efek swelling* pada karboksimetil kitosan. Persen pengembangan (*swelling*) dari kitosan dan karboksimetil kitosan dihitung dengan persamaan berikut:

$$\text{Persen pengembangan (swelling)} = \frac{W_s - W}{W}$$

Dimana W_s adalah berat kitosan dan karboksimetil kitosan terkembang dan W adalah berat awal kitosan dan karboksimetil kitosan.

4. Aplikasi karboksimetil kitosan sebagai bahan pengawet bakso sapi

Bola-bola bakso seberat 5 gram dilapisi dalam larutan karboksimetil kitosan dengan berbagai variasi konsentrasi yaitu 0,5%, 1%, 1,5%, dan 2%. Pelapisan bakso tersebut dilakukan dengan variasi waktu pelapisan 60, 90, 120, dan 150 menit dalam wadah yang berbeda. Pelapisan bakso dalam asam asetat 0,5 % dilakukan sebagai kontrol. Pelapisan bakso dalam larutan kitosan dilakukan sebagai pembandingan. Uji organoleptik dan uji total bakteri (TPC) pada bakso setiap hari selama 4 hari berturut-turut dilakukan untuk mengetahui karakteristik bakso.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kitosan

Kulit udang merupakan bahan baku utama yang digunakan dalam sintesis kitosan. Kulit udang yang digunakan adalah kulit udang putih (*Penaeus vannamei*) yang didapatkan dari daerah Cilacap. Menurut Marganov (2003), kulit udang mengandung berbagai komponen seperti protein 25-40%, kalsium karbonat 45-50%, dan kitin 15-20%. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan sintesis kitosan melalui beberapa tahap. Kulit udang yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu guna menghilangkan pengotor dan sisa-sisa daging yang masih melekat pada cangkang kulit udang kemudian dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari untuk menghilangkan sisa-sisa air pada kulit udang. Setelah itu, kulit udang dihaluskan untuk memperkecil ukuran kulit udang.

Tahap pertama yaitu deproteinasi atau tahap pemisahan protein dengan larutan basa. Larutan basa yang digunakan yaitu NaOH 4% (Kurniasih dan Kartika, 2011). Larutan NaOH akan terdisosiasi menghasilkan Na^+ yang kemudian berikatan dengan protein membentuk Na-proteinat yang larut dalam air (Kurniasih dan Dwiasi, 2007). Oleh karena itu, dilakukan pencucian dengan akuades yang bertujuan menghilangkan Na-proteinat yang akan terbawa bersama akuades pada saat pencucian. Proses pencucian juga bertujuan untuk menghilangkan NaOH yang mungkin masih tersisa.

Tahap kedua yaitu demineralisasi. Tahap demineralisasi bertujuan untuk memisahkan mineral anorganik yang terikat pada kulit udang. HCl digunakan pada tahap demineralisasi karena kekuatan HCl dapat dengan mudah melepaskan mineral sehingga dihasilkan sisa mineral yang rendah. Penggunaan larutan asam dengan konsentrasi yang lebih tinggi dapat menyebabkan degradasi kitin (Pamekas, 2007). Proses demineralisasi dipengaruhi oleh proses pengadukan yang konstan agar panas yang dihasilkan menjadi homogen. Panas yang homogen tersebut akan meningkatkan kemampuan HCl dalam mengikat mineral sehingga HCl dapat mengikat mineral secara sempurna. Jika pengadukan yang dilakukan tidak konstan maka panas yang dihasilkan tidak merata, sehingga reaksi pengikatan mineral oleh HCl juga akan tidak sempurna. Pencucian yang kurang sempurna akan mengakibatkan mineral yang telah terlepas dapat melekat kembali pada permukaan molekul kitin.

Tahap selanjutnya yaitu *bleaching* bertujuan untuk menghilangkan pigmen atau zat warna yang terdapat pada kitin. Pada kulit udang pigmen yang paling banyak adalah astaxanthin. Tahap *bleaching* ini dilakukan dengan mereaksikan serbuk hasil demineralisasi dengan NaOCl sehingga mendapatkan kitin yang berwarna lebih putih. Tahap yang terakhir adalah deasetilasi dengan mereaksikan kitin dengan basa berkonsentrasi tinggi. Reaksi deasetilasi bertujuan untuk memutuskan gugus asetil yang terikat pada C_2 dalam struktur senyawa kitin dan untuk memperbesar persentase gugus amina pada kitosan. Produk akhir dari reaksi deasetilasi berupa kitosan dan garam natrium asetat sebagai hasil samping.

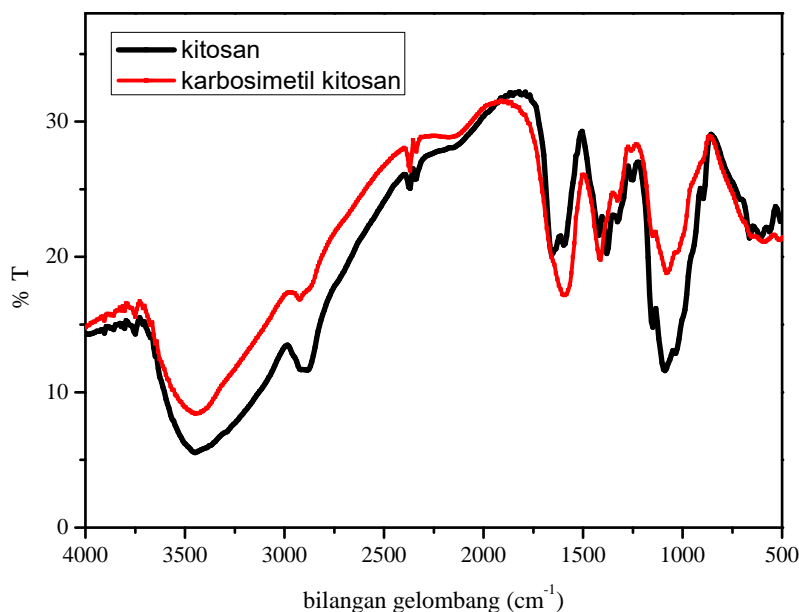
2. Karboksimetil kitosan

Karboksimetil kitosan merupakan senyawa derivat kitosan. Sintesis karboksimetil kitosan dilakukan dengan melarutkan kitosan dalam larutan NaOH dan kemudian ditambahkan dengan asam monokloroasetat. Penambahan NaOH bertujuan untuk membuat

suasana alkali pada kitosan sehingga kitosan akan mengikat ion Na^+ yang selanjutnya saat ditambahkan asam monokloroasetat akan terjadi pertukaran ion. Ion Na^+ akan terikat oleh Cl^- yang dilepaskan oleh asam monokloroasetat membentuk larutan garam NaCl , sedangkan kitosan yang telah melepaskan ion Na^+ akan berikatan dengan gugus karboksimetil dari asam monokloroasetat sehingga membentuk karboksimetil kitosan (Kurniasih dkk., 2014). Campuran kitosan dengan asam monokloroasetat kemudian dinetralkan dengan asam asetat 1% dan direaksikan dengan metanol untuk proses presipitasi karboksimetil kitosan (Basmal dkk., 2007).

3. Karakteristik kitosan dan karboksimetil kitosan

Kitosan dan karboksimetil kitosan hasil sintesis dikarakterisasi dengan FTIR untuk menghitung derajat deasetilasi (DD) dari kitosan dan juga mengetahui gugus-gugus fungsi karakteristiknya. Spektra IR dari kitosan dan karboksimetil kitosan disajikan dalam Gambar 1. Berdasarkan Gambar 1 terlihat bahwa pada spectra IR kitosan, menunjukkan adanya serapan melebar pada daerah bilangan gelombang $3448,72 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan tumpang tindih serapan gugus $-\text{OH}$ dan N-H . Pita serapan pada bilangan gelombang $2885,51 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi rentangan C-H alifatik. Serapan pada $1597,06 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi bengkokan N-H pada gugus $-\text{NH}_2$. Serapan pada daerah $1419,61 \text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi bengkokan dari $-\text{CH}_2-$, sedangkan serapan pada daerah $1381,03 \text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi bengkokan dari $-\text{CH}_3$ yang muncul karena kitosan yang digunakan masih mengandung gugus asetil. Serapan pada daerah $1087,85 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi rentangan C-O yang berasal dari C-O-H ataupun C-O-C . Berdasarkan analisis gugus fungsi di atas, spektra IR kitosan telah menunjukkan munculnya serapan-serapan karakteristik kitosan. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa produk hasil sintesis pada penelitian ini adalah kitosan. Spektrum IR kitosan juga digunakan untuk perhitungan menggunakan *baseline b* yang diusulkan oleh Baxter (Khan *et al.*, 2002) untuk menentukan nilai derajat deasetilasi (DD) dari kitosan. Berdasarkan perhitungan tersebut nilai DD kitosan adalah sebesar 82,19%.



Gambar 1. Spektra IR kitosan dan karboksimetil kitosan

Spektra karboksimetil kitosan menunjukkan serapan pada $3441,01 \text{ cm}^{-1}$ yang melebar menunjukkan O-H uluran. Spektrum OH karboksimetil kitosan melebar dikarenakan pada karboksimetil kitosan terdapat gugus karboksil yang membentuk dimer dengan ikatan hidrogen (Sastrohamidjojo, 1992). Munculnya serapan pada bilangan gelombang $2924,09 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan serapan vibrasi ulur simetri C-H alifatik (C-H ring, -CH₃ dan -CH₂-). Bertambahnya puncak serapan pita ulur C=O yang muncul pada bilangan gelombang $1597,06 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan bertambahnya gugus C=O akibat penambahan gugus karboksilat (-COOH) yang berarti telah terbentuknya karboksimetil kitosan. Selain bukti kemunculan puncak serapan -OH dan C=O, terbentuknya karboksimetil kitosan dari kitosan juga dapat diperkuat dengan adanya daerah serapan eter (vibrasi ulur C-O) pada bilangan gelombang $1000-1300 \text{ cm}^{-1}$ yang semakin menajam daripada spektra IR kitosan. Berdasarkan analisis di atas, maka dapat disimpulkan bahwa proses karboksimetilasi kitosan menjadi karboksimetil kitosan telah berhasil.

Karakteristik fisik dari kitosan dan karboksimetil kitosan hasil sintesis tersaji pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 diperoleh kadar air dari karboksimetil kitosan lebih besar daripada kitosan. Hal ini disebabkan karena adanya gugus karboksimetil pada struktur karboksimetil kitosan yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan molekul-molekul air, sehingga menyebabkan molekul-molekul air terhidrat yang mengelilingi rantai karboksimetil kitosan lebih banyak dibandingkan yang mengelilingi rantai kitosan. Hal ini juga mengakibatkan karboksimetil kitosan memiliki kelarutan dalam air yang lebih tinggi

bila dibandingkan dengan kitosan. Kelarutan sangat dipengaruhi oleh jumlah gugus karboksimetil yang bereaksi dengan kitosan. Semakin banyak gugus karboksimetil yang bereaksi maka kelarutan akan semakin tinggi.

Tabel 1. Karakteristik kitosan dan karboksimetil kitosan hasil sintesis

Karakteristik	Kitosan	Karboksimetil kitosan
Kadar air	6,86%	16,25%
Kadar abu	0,99%	4,54%
Kelarutan dalam air	6,42%	50,68%
Porosity	76,13%	80,93%
Swelling	63,39%	64,58%

4. Aplikasi karboksimetil kitosan sebagai bahan pengawet bakso sapi

Uji organoleptik dilakukan untuk mengetahui kesukaan responden terhadap bakso setelah dilapisikarboksimetil kitosan berbagai variasi konsentrasi dan waktu pelapisan. Penilaian dilakukan menggunakan sistem *score sheet* organoleptik bakso terhadap 25 orang responden. *Score sheet* mempunyai skala nilai 1-9, dengan batas penolakan 5. Penilaian meliputi pengamatan terhadap perubahan tekstur, bau dan lendir selama 4 hari. Pengamatan kondisi fisik bakso tersebut, setelah 4 hari dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji organoleptik

Konsentrasi karboksimetil kitosan (%)	Hari ke-	60 menit			90 menit			120 menit			150 menit		
		Tekstur	Bau	Lendir	Tekstur	Bau	Lendir	Tekstur	Bau	Lendir	Tekstur	Bau	Lendir
0,5	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+ -	+ -	+ -
	4	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+ -	+ -	+ -
1	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+ -	+ -	+ -
1,5	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+ -	+ -	+ -	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+ -	+ -	+ -
2	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+ -	+ -	+ -	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	3	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	4	-	-	-	-	-	-	+ -	+ -	+ -	+ -	+ -	+ -

Keterangan :

+ : Bakso masih berbau daging, teksturnya masih bagus, kenyal

+ - : Bakso masih berbau daging, namun teksturnya sudah mulai lembek dan mulai ditumbuhi jamur

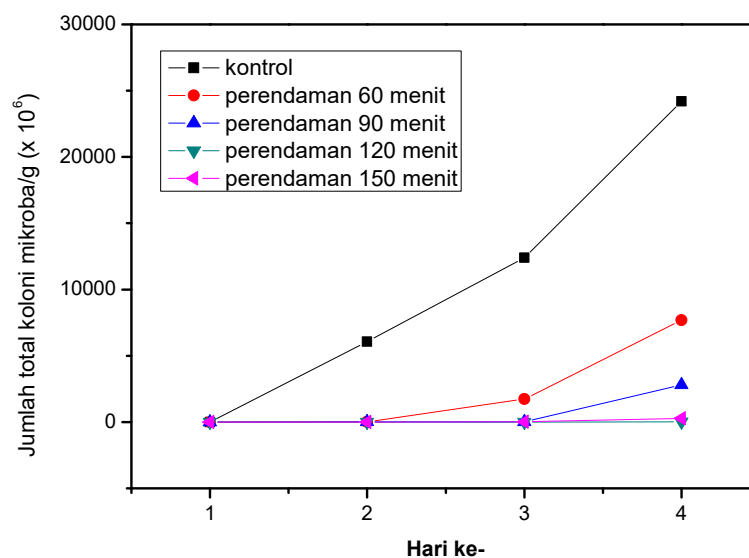
- : Bakso sudah berbau busuk, teksturnya lembek dan sudah penuh jamur

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bakso yang dilapisikarboksimetil kitosan 2% dengan waktu pelapisan 90 menit hanya mampu bertahan selama 1 hari. Setelah dilakukan pengamatan lebih lanjut, bakso yang dilapisikarboksimetil kitosan pada konsentrasi 0,5 dan

1,5% dengan pelapisan 120 menit baru ditumbuhi jamur pada hari ke-5, bakso yang dilapisikarboksimetil kitosan pada konsentrasi 1% dengan pelapisan 90 menit baru ditumbuhi jamur pada hari ke-8 dan bakso yang dilapisikarboksimetil kitosan pada konsentrasi 1% dengan pelapisan 120 menit baru ditumbuhi jamur pada hari ke-9.

Berdasarkan uji organoleptik yang dilakukan terhadap tekstur, bau dan lendir bakso didapatkan hasil konsentrasi karboksimetil kitosan yang paling optimum adalah karboksimetil kitosan 1% dan waktu pelapisan yang optimum adalah 120 menit. Hasil tersebut didukung oleh hasil uji statistik dengan nilai *mean* total yang paling tinggi. Berdasarkan uji ANOVA, dapat dibuktikan bahwa hari, konsentrasi, dan waktu pelapisan berpengaruh secara langsung terhadap tekstur, bau dan lendir. Interaksi hari*konsentrasi, hari*waktu, konsentrasi*waktu dan hari*konsentrasi*waktu mempunyai pengaruh terhadap tekstur, bau dan lendir. Adanya pengaruh ditunjukkan dengan nilai signifikan yang kurang dari 0,05.

Berdasarkan hasil uji Duncan terlihat pengaruh waktu pelapisan, konsentrasi karboksimetil kitosan dan hari penyimpanan terhadap tekstur, bau dan lendir berbeda nyata karena berada pada subset yang berbeda-beda. Nilai yang terbaik adalah nilai yang menunjukkan angka paling tinggi pada subset. Nilai yang paling besar ditunjukkan pada waktu pelapisan 120 menit dan konsentrasi karboksimetil kitosan 1%, sedangkan nilai subset hari penyimpanan terlihat nilainya semakin menurun dengan bertambahnya hari. Hal tersebut membuktikan bahwa bakso yang dilapisi dengan konsentrasi karboksimetil kitosan 1% dan waktu pelapisan 120 menit merupakan yang paling disukai responden.



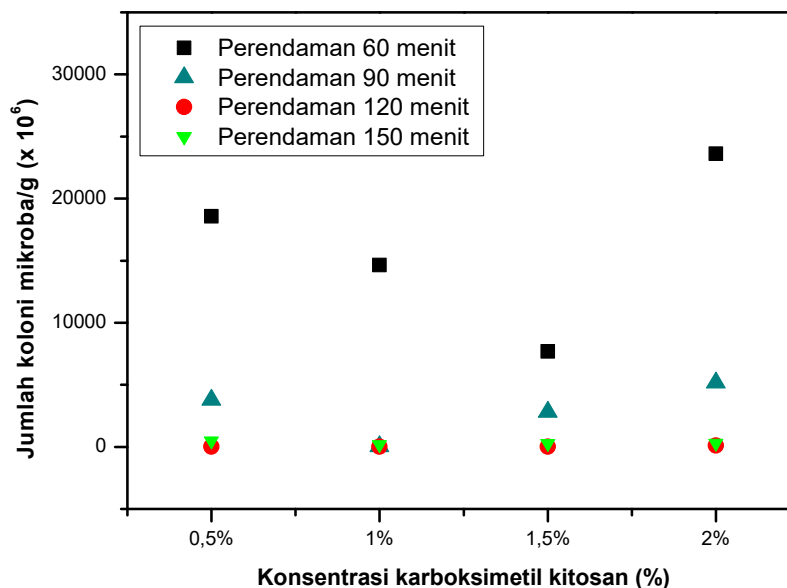
Gambar 2. Total koloni mikroba/g pada bakso yang dilapisikarboksimetil kitosan 1,5%

Metode TPC digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada pada bakso setelah dilapisi karboksimetil kitosan dengan berbagai variasi konsentrasi dan waktu pelapisan. Metode ini menggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual berupa angka dalam koloni (CFU) per gram. Total mikroba pada bakso yang dilapisi dalam karboksimetil kitosan 1,5% dengan variasi waktu pelapisan tersaji pada Gambar 2.

Uji ANOVA membuktikan bahwa waktu pelapisan dan hari berpengaruh secara langsung terhadap total koloni mikroba dengan karboksimetil kitosan. Adanya pengaruh ditunjukkan dengan nilai signifikan yang kurang dari 0,05. Uji lanjut menggunakan uji Duncan menunjukkan nilai total koloni mikroba tidak berbeda nyata dengan waktu pelapisan bakso dalam larutan karboksimetil kitosan karena berada pada subset yang sama. Hari penyimpanan ke-1, 2 dan 3 tidak berbeda nyata dengan total nilai koloni mikroba, sedangkan hari penyimpanan ke-4 berbeda nyata dengan total nilai koloni mikroba. Dapat disimpulkan bahwa hari penyimpanan yang paling tepat untuk menentukan konsentrasi karboksimetil kitosan dan waktu pelapisan yang optimum dalam menambah daya awet bakso adalah hari ke-4 karena memberikan pengaruh dan berbeda nyata terhadap total koloni mikroba dan waktu pelapisan.

Pengukuran total mikroba dilakukan pada bakso yang dilapisi dalam larutan karboksimetil kitosan dengan berbagai variasi konsentrasi dan waktu pelapisan pada hari ke-4. Total mikroba pada bakso berdasarkan pada metode *total plate count* dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan Gambar 3, bakso yang dilapisi karboksimetil kitosan 1% selama 120 menit dengan total mikroba paling sedikit pada hari ke-4. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa bakso yang dilapisi dalam larutan karboksimetil kitosan 1% selama 120 menit memiliki nilai *mean* total yang paling rendah yaitu 6.00 dan 36.69. Dapat dibuktikan dengan uji Anova bahwa konsentrasi dan waktu pelapisan berpengaruh secara langsung terhadap nilai total koloni mikroba. Adanya pengaruh ditunjukkan dengan nilai signifikan yang kurang dari 0,05. Berdasarkan uji lanjut menggunakan Duncan terlihat pengaruh konsentrasi karboksimetil kitosan tidak berbeda nyata terhadap nilai total koloni mikroba karena berada pada subset yang sama dan waktu pelapisan hanya berbeda nyata pada pelapisan selama 60 menit. Nilai yang terbaik adalah nilai yang menunjukkan angka paling rendah pada subset karena semakin rendah nilai pada subset berarti nilai total koloni

mikroba pada bakso semakin sedikit. Nilai yang paling kecil ditunjukkan pada waktu pelapisan 120 menit dan karboksimetil kitosankonsentrasi 1%.



Gambar 3. Total koloni mikroba/gpada bakso yang dilapisi dalam larutan karboksimetil kitosapada hari keempat

Karboksimetil kitosan dapat digunakan sebagai pengawet karena sifat-sifat antimikroba yang dimilikinya yaitu dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan dua gugus aktif yaitu gugus $-NH_3$ dan gugus $-COO^-$. Gugus polikationik $-NH_3$ yang akan berinteraksi dengan muatan negatif pada permukaan mikroba sehingga menyebabkan perubahan permeabilitas permukaan sel, hilangnya beberapa penyusun sel seperti protein, asam amino dan glukosa yang akhirnya akan menghambat metabolisme dan mengakibatkan kematian sel (Kurniasih dan Kartika, 2009). Sedangkan gugus negatif $-COO^-$ akan berikatan dengan ribosom dan menyebabkan terganggunya proses pembacaan kode pada mRNA, sehingga dapat menghambat proses sintesis protein dan mengakibatkan kematian sel (Pelczar dan Chan, 1986). Menurut Young *et al* (1982), Khusus untuk jamur berfilamen, karboksimetil kitosan berinteraksi langsung dengan membran sel sehingga mengganggu permeabilitas membran dan dapat menyebabkan kebocoran materi protein sel. Selain itu karboksimetil kitosan juga berfungsi sebagai agen pengkelat yang akan mengikat *trace element* dan nutrisi esensial sehingga jamur terganggu pertumbuhannya.

Pelapisan bakso dalam larutan kitosan sebagai pembanding, pelapisan bakso dalam larutan larutan cuka (kontrol pelarut) dan bakso tanpa pelapisan (kontrol negatif) juga dilakukan pada penelitian ini. Hasil pengamatan fisik selama 4 hari tersaji

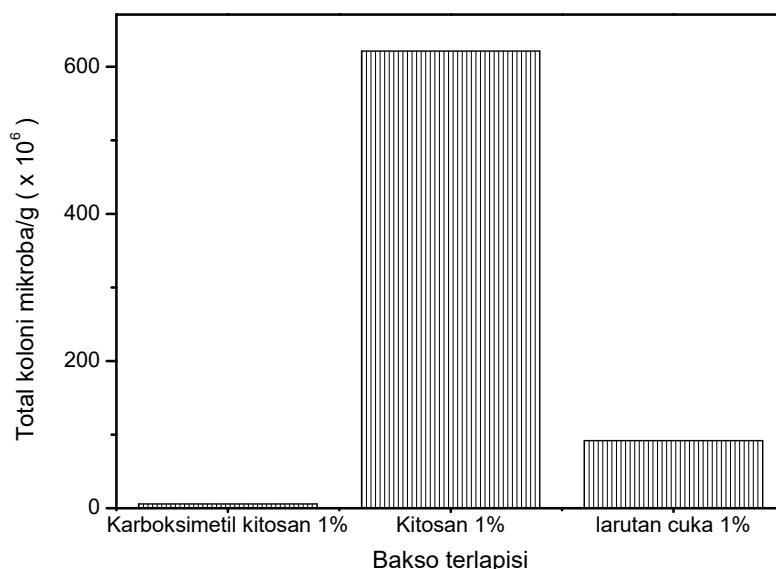
pada Tabel 2. Berdasarkan uji statistik pada hasil organoleptik didapat bahwa tekstur, bau, dan lendir bakso yang dilapisi larutan karboksimetil kitosan adalah yang paling disukai responden karena memiliki nilai *mean* total tekstur, bau, dan lendir paling tinggi yaitu 7.83; 7,56 dan 8.52. Hasil uji ANOVA menunjukkan ada perbedaan nyata antara lama penyimpanan bakso terhadap tekstur dan bau bakso setelah dilapisi dengan kitosan dan larutan cuka. Uji lanjut menggunakan Duncan menunjukkan hasil yang sama yaitu ada perbedaan nyata antara lama penyimpanan bakso terhadap tekstur dan bau bakso setelah dilapisi dengan kitosan dan asam cuka. Sedangkan pada bakso yang dilapisi dalam karboksimetil kitosan, lama penyimpanan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata karena tidak terjadi keberagaman subset.

Tabel 2. Hasil pengamatan fisik

Hari ke-	Bakso kontrol negatif			Bakso kontrol pelarut			Bakso dilapisi kitosan		
	Tekstur	Bau	Lendir	Tekstur	Bau	Lendir	Tekstur	Bau	Lendir
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	+	+	+	+	+	+
3	-	-	-	+ -	+ -	+ -	+ -	+ -	+ -
4	-	-	-	+ -	+ -	+ -	-	-	-

Keterangan:

- + : Bakso masih berbau daging, teksturnya masih bagus, kenyal
- + - : Bakso masih berbau daging, namun teksturnya sudah mulai lembek dan mulai ditumbuhi jamur
- : Bakso sudah berbau busuk, teksturnya lembek dan sudah penuh jamur



Gambar 4. Total koloni mikroba/g pada hari ke-4

Perhitungan total mikroba pada bakso yang dilapisi dalam kitosan dan asam cuka pada konsentrasi 1% dan waktu pelapisan 120 menit dilakukan pada hari keempat. Hasil yang diperoleh tersaji pada Gambar 4. Karboksimetil kitosan memiliki kemampuan yang paling

baik dalam menghambat pertumbuhan mikroba dibandingkan dengan kitosan dan larutan cuka. Hal ini disebabkan karena kitosan hanya memiliki gugus $-NH_3$, asam cuka memiliki gugus $-COO^-$ sedangkan karboksimetil kitosan memiliki gugus $-NH_3$ dan $-COO^-$ untuk menghambat pertumbuhan mikroba

KESIMPULAN

Karboksimetil kitosan berpotensi diterapkan sebagai pengawet alami pada bakso. Bakso yang dilapisi karboksimetil kitosan dengan waktu perendaman 120 menit dan konsentrasi 1% merupakan bakso yang paling disukai panelis pada uji organoleptik. Selain itu juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri paling besar sampai pada hari ke empat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini pada hibah Strategis Nasional Institusi tahun 2018 dengan nomor kontrak penelitian: 059/SP2H/LT/DRPM/2018.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist International 18th edition 2005*. Association of Official Analytical Chemist SUITE 500, 481 North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417 USA.
- Basmal, J., P. Agung, dan Y. Farida, 2007, Pengaruh Suhu Eterifikasi Terhadap Kualitas dan Kuantitas Kitosan Larut Air yang Dibuat dari Cangkang Ranjungan, *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, Vol. 2 No. 2, 99-106.
- Badan Pengawas Obat & Makanan (BPOM). Agency for Food and Drugs supervisor. (2006). *Formalin Ghosts Haunting*. [Online]. Available: <http://suarapembaharuan.com>.
- Cahyadi, W., 2006, *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*, Bumi Aksara, Jakarta.
- Khan T.A., K. K. Peh, dan H. S. Ch'ng, 2002, Reporting Degree of Deacetylation, Values of Chitosan: the Influence of Analytical Methods, *J Pharm Pharmaceut Sci* No. 5, Vol 3: 201-212.
- Kurniasih. M., dan D. W. Dwiasi, 2007, Preparasi dan Karakterisasi Chitin Dari Kulit Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*), *Molekul*, 2 (2).
- Kurniasih, M. dan D. Kartika, 2009, Aktivitas Antibakteri Kitosan terhadap Bakteri *S. aureus*, *Molekul*, No. 1, Vol. 4: 1-5.

- Kurniasih, M & Kartika, D. (2011). Sintesis dan Karakterisasi Fisika-Kimia Kitosan, *Jurnal Inovasi*, Vol. 5 No. 1: 42-48.
- Kurniasih, M., Purwati., Hermawan, D & Zaki, M. (2014). Optimum Conditions For The Synthesis of High Solubility Carboxymethyl Chitosan. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, Vol.10 No.4: 189-195.
- Kurniasih. M., Kartika. D. & Riyanti. (2016). Optimasi Kondisi Adsorpsi Kolesterol Menggunakan Karboksimetil Kitosan. *Molekul*, Vol. 11 No. 1: 112-124
- Kurniasih, M., Purwati, Cahyati T., Dewi, R. S., 2018, Synthesis, Carboxymethyl chitosan as an antifungal agent on gauze, *International Journal of Biological Macromolecules*, 119: 166–171.
- Kurniasih, M., Dewi, R. S., Purwati, Hermawan, D., dan Aboul-Enein, H. Y., 2018, Synthesis, Characterization and Antifungal Activity of N-methyl Chitosan and Its Application on The Gauze. *Current Bioactive Compounds*, 14. 347-356.
- Ngah, W.S.W., Endud C.S., Mayanar R., 2002, Removal of Copper(II) Ions from Aqueous Solution onto Chitosan and Cross-Linked Chitosan Beads, *Reactive & Functional Polymers* Vol 50, Hal: 181- 190.
- Marganov, 2003, *Potensi Limbah Udang sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium, dan Tembaga) di Perairan*, http://rudyc.topcities.com/pps702_71034/marganof.htm.
- Pamekas, K. (2007). Potensi Ekstrak Cangkang Kepiting untuk Mengendalikan Penyakit Pasca Panen Antracnosa pada Buah Cabai Merah. *Jurnal Akta Agrosia*, Vol. 5 No. 2: 72-75
- Pelczar M. J & E. C. S. Chan. (1986). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. RS Hadiotomo, T. Imas, S.S. Tjitrosomo, S. L. Angka Penerjemah, UI-Press, Jakarta. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*. Maryland: Mc Graw Hill Book co.
- Sastrohamidjojo, H. (2007). *Spektroskopi*. Liberty: Yogyakarta
- Sekomo, C.B., D.P.L. Rousseau, P.N.L. Lens, 2011, Use of Gisenyi Volcanic Rock for Adsorptive Removal of Cd(II), Cu(II), Pb(II), and Zn(II) from Wastewater, Water, Air, & Soil Pollution, *Jurnal Ilmiah*, Vol. 2, No. 533-547.
- Wulandari K., Sulistijowati R., Mile L., (2015). Kitosan Kulit Udang Vaname sebagai Edible Coating pada Bakso Ikan Tuna. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 3(3), pp. 118-121.
- Young, A. W., D. Hellawell & D. C. Hay. (1982). Configurational Information in Face Perception. *Journal Perception*, Vol. 16. No. 6: 747-775.