

KARAKTERISASI KITOOLIGOSAKARIDA YANG DIDEPOLIMERISASI DENGAN METODE BERBEDA DAN KAJIANNYA SEBAGAI *ACTIVE FILM*

Muhammad Hauzan Arifin*, Nugraha Edhi Suyatma, Dias Indrasti
Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University,
Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680 Jawa Barat

Diterima: 24 Januari 2022/Disetujui: 24 Februari 2022

*Korespondensi: hauzanarifin09@gmail.com

Cara sitasi: Arifin MH, Suyatma NE, Indrasti D. 2021. Karakterisasi kitooligosakarida yang didepolimerisasi dengan metode berbeda dan kajiannya sebagai *active film*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 25(1): 18-33.

Abstrak

Active film adalah salah satu tren dunia untuk kemasan makanan. *Active film* seringkali mengandung bahan aktif antimikroba, antioksidan, penangkap oksigen, dan sawar UV untuk membantu menjaga kesegaran makanan. Kitosan merupakan salah satu bahan aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai *active film*. Kitosan memiliki aktivitas antimikroba yang baik tetapi hanya dapat digunakan pada pH rendah. Oleh karena itu, kitooligosakarida/*chito-oligosaccharide* (COS) yang merupakan oligomer kitosan dengan kelarutan lebih baik berpotensi sebagai alternatif. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakter COS yang dihasilkan dengan metode depolimerisasi mikrogelombang, ultrasonik, dan kombinasi mikrogelombang-ultrasonik serta menentukan sifat mekanis *active film* terbaik dari COS yang diproduksi dengan konsentrasi 1,5% dan 2%. COS yang diperoleh berwarna kekuningan dengan nilai viskositas 12-17 cP dan bobot molekul berkisar dari 22,1-29,3 kDa yang nilainya lebih kecil daripada kitosan (>50 kDa). COS yang diproduksi menunjukkan aktivitas antimikroba pada bakteri *B. subtilis*, *S. aureus*, dan *E. coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat berat molekul COS yang optimal yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan film. COS dengan berat molekul rendah cenderung memiliki sifat mekanis film yang buruk karena ikatan antar-molekulnya lemah. Secara keseluruhan, sifat mekanis terbaik film dicapai pada film COS ultrasonik konsentrasi 2%. Film tersebut memiliki ketebalan 0,25 mm nilai WVTR terendah pada 5,25 g/m²/hari, kekuatan tarik, dan elongasi berturut-turut 5,43 N/mm² dan 76,7%. Warna film COS yang kekuningan cenderung menyerap sinar UV lebih baik dibandingkan dengan film kitosan.

Kata kunci: *active film*, depolimerisasi, kitooligosakarida, mikrogelombang, ultrasonik

Chito-oligosaccharide Characterization Depolymerized by Different Method and Its Study as Active Film

Abstract

Active film is one of the world trends for food packaging. It often contains active material such as antimicrobials, antioxidant, and oxygen scavengers to help maintain food freshness. Chitosan is one of active material that can be utilized as active film. It has good antimicrobial activity, but it can only be utilized in low pH. Thus, chito-oligosaccharide, an oligomer of chitosan with better solubility can be used as an alternative. The aim of this experiment was to characterize COS produced by microwave, ultrasound and microwave-ultrasound combination and to determine the best active film mechanical properties based on COS obtained at a concentration of 1.5% and 2%. The COS obtained have a yellowish color with viscosity ranged from 12 to 17 cP and its molecular weight ranged from 22.1 to 29.3 kDa which is lower than chitosan (>50 kDa). The COS obtained shown antimicrobial activity on *B. subtilis*, *S. aureus*, and *E. coli*. The result suggests that there is an optimal molecular weight of COS that can be utilized as film material. COS with low molecular weight tend to have poor mechanical film properties as it has a less stable bond. Overall, the best mechanical properties of film achieved by 2% ultrasound treated COS. It has the highest tensile strength and elongation consecutively 5.43 N/mm² and 76,7% with the lowest WVTR value at 5.25 g/m²/day. The

yellowish COS film color tends to absorb UV light better compared to chitosan film.

Keyword: active film, chito-oligosaccharide, depolymerization, microwave, ultrasound

PENDAHULUAN

Active film adalah salah satu tren dalam pengemasan karena memiliki fungsi tambahan di luar fungsi dasar kemasan. *Active film* dapat mengandung agen yang memiliki bioaktivitas, yaitu antimikroba, antioksidan, penangkap oksigen, sawar UV, dan juga aktivitas enzim (Bastarrachea *et al.* 2015). Tujuan utamanya adalah untuk menjaga kualitas dari komoditas yang dikemas atau dilapisi agar tetap segar dan awet. Prinsip dasar dari aplikasi film yaitu lapisan tipis yang terbuat dari bahan yang mampu menghalangi transfer massa (kelembapan, oksigen, cahaya, lemak, serta zat terlarut), sehingga dengan pengaplikasian yang baik dan benar dapat memperpanjang umur simpan serta kualitas dari suatu komoditas pangan (Mailoa *et al.* 2017). Konstituen utama dari *active film* berdasarkan materialnya dapat dibagi menjadi tiga yaitu polisakarida (yaitu selulosa, pati, pektin, dan kitosan), protein (kasein, gelatin, jagung, kedelai), dan lipid (mentega, lilin lebah, lesitin) (Lagarón *et al.* 2016). Kitosan merupakan salah satu polisakarida yang mempunyai bioaktivitas yang banyak dimanfaatkan dalam bidang pangan maupun nonpangan.

Kitosan adalah biopolimer natural nontoksik yang diproduksi dari hasil deasetilasi kitin. Kitosan diperoleh dari eksoskeleton serangga dan krustasea. Kitosan memiliki tiga jenis gugus reaktif fungsional, gugus amino, dan juga gugus hidroksil primer dan sekunder (Lodhi *et al.* 2014). Kitosan memiliki sifat larut pada asam atau *water insoluble*. Kitosan dikenal sebagai bahan yang memiliki aktivitas antimikroba dalam spektrum yang cukup luas untuk bakteri gram positif, negatif, dan bahkan fungi (Goy *et al.* 2009). Aktivitas antimikroba pada kitosan memang cukup menjanjikan, namun hal tersebut hanya dapat dilakukan pada kondisi asam. Salah satu solusi untuk hal tersebut adalah mengonversi kitosan menjadi oligomernya yang memiliki bobot molekul lebih rendah dan solubilitas lebih tinggi yaitu kitooligosakarida.

Kitooligosakarida adalah senyawa turunan dari kitosan hasil depolimerisasi yang diperoleh dari proses degradasi kimiawi, enzimatik, dan fisik (Liang *et al.* 2018). Kitooligosakarida dilaporkan memiliki aktivitas biologis yang lebih baik dibandingkan dengan kitosan salah satunya sebagai antimikroba karena kompatibilitasnya yang lebih universal (Chimong 2018). Aktivitas antimikroba dari kitooligosakarida bergantung pada bobot molekul, derajat deasetilasi, serta tipe bakteri (Guan *et al.* 2019). Sintesis kitooligosakarida dapat dilakukan dengan metode iradiasi gelombang microwave dan ultrasonikasi. Iradiasi kitosan dengan alat microwave yang ditambahkan garam pada larutan kitosan dilaporkan oleh Xing *et al.* (2005) mampu mereduksi kitosan menjadi oligomer dengan bobot molekul rendah dalam waktu yang singkat. Penerapan *high intensity ultrasonic* yang dapat memotong rantai polimer dari kitosan pada frekuensi 20 kHz-100 kHz dengan potongan *random scission* telah diteliti oleh Wu *et al.* (2008). Berdasarkan informasi tersebut, kitooligosakarida merupakan oligomer kitosan dengan bobot molekul lebih rendah serta kelarutannya yang lebih tinggi. Kitooligosakarida diduga dapat dimanfaatkan sebagai *active film* yang memiliki aktivitas antimikroba dengan penambahan pemlastis. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengkarakterisasi kitooligosakarida yang diproduksi dengan beberapa metode fisik serta menentukan sifat mekanis *active film* terbaik dari COS yang telah diproduksi.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan April sampai bulan November 2021. Preparasi kitooligosakarida dan pembuatan *active film* dilakukan di Laboratorium Karakteristik Bahan Baku Hasil Perairan dan Laboratorium Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Institut Pertanian Bogor.

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu kitosan. Kitosan berwujud bubuk putih yang diperoleh dari Kabupaten Lampung. Bahan tambahan yang digunakan yaitu akuades, gliserol teknis, isopropil alkohol teknis, asam asetat (Merck, Jerman), HCl (Merck, Jerman), NaOH teknis (Merck, Jerman), dan NaCl teknis (Merck, Jerman).

Alat yang digunakan pada tahap depolimerisasi dan pembuatan film adalah perlatan kaca (Pyrex) timbangan analitik (OHAUS A224), blender (Cosmos), mikrogelombang (Sharp R-728), penangas air ultrasonik (DSA 100-SK2), spektroskopi transform inframerah fourier/*fourier transform infrared spectroscopy* (Bruker Tensor 37), oven (B-One OV45), spektrofotometer UV-VIS (RS spectrophotometer UV-2500), dan pengukur kuat tarik/*tensile strength* (INSTRON-3369).

Metode

Penelitian dilakukan menggunakan tiga jenis metode depolimerisasi kitosan yaitu menggunakan mikrogelombang, ultrasonik, serta kombinasi mikrogelombang dan ultrasonik.

Depolimerisasi kitosan

a. Metode iradiasi mikrogelombang (Xing *et al.* 2005)

Kitooligosakarida disintesis dari kitosan yang dipaparkan gelombang dari oven mikrogelombang dengan bantuan garam sebagai bahan pelewatdidihan (*superheating agent*) yang membantu proses depolimerisasi fisik. Larutan garam NaCl 0,15 M dimasukkan ke dalam bejana (*jar*) yang mengandung kitosan dengan konsentrasi 2% (b/v) yang telah dilarutkan dengan HCl 1% (b/v). Bejana kemudian diletakkan di oven mikrogelombang dengan posisi sentral. Sampel kemudian dimikrogelombangkan selama 10 menit pada kekuatan 720 watt. Setelah proses iradiasi selesai, sampel segera didinginkan pada suhu ruang. Larutan tersebut kemudian dipresipitasi dengan IPA dan dinetralkan dengan bantuan NaOH. Hasil presipitat dikeringkan dalam suhu ruang selama 24 jam kemudian

dikecilkan ukurannya menggunakan blender. Serbuk kitooligosakarida yang diperoleh lalu dikeringkan lagi pada suhu 70°C selama 3 jam.

b. Metode ultrasonik (Wu *et al.* 2008)

Penggunaan metode ultrasonik dapat dilakukan untuk memperoleh produk depolimerisasi kitosan. Larutan kitosan 2% sebanyak 200 mL dilarutkan pada larutan HCl 1% dan diletakkan dalam bejana. Bejana kemudian diletakkan dalam alat penangas air ultrasonik pada frekuensi 40 kHz selama 40 menit. Suhu generator dijaga konstan pada 50°C. Sampel kemudian dipresipitasi dengan IPA dan dinetralkan dengan bantuan NaOH. Hasil presipitat dikeringkan dalam suhu ruang selama 24 jam kemudian dikecilkan ukurannya menggunakan blender. Serbuk kitooligosakarida yang diperoleh lalu dikeringkan lagi pada suhu 70°C selama 3 jam.

c. Metode kombinasi mikrogelombang dan ultrasonik

Depolimerisasi kitosan untuk memproduksi kitooligosakarida dilakukan dengan mengombinasikan dua metode degradasi fisik yaitu iradiasi gelombang mikrogelombang dan ultrasonik. Larutan kitosan 2% (b/v) ditambahkan larutan garam NaCl 0,15 M dan dilarutkan dalam larutan HCl 1% (b/v). Larutan kitosan yang berada pada bejana kemudian dimasukkan ke oven mikrogelombang berdaya 720 W selama 10 menit. Setelah proses iradiasi dengan mikrogelombang, bejana larutan kitosan kemudian diletakkan di dalam penangas air ultrasonik dengan frekuensi sebesar 40 kHz selama 40 menit pada suhu 50°C. Larutan kitosan dinetralkan dengan NaOH dan dipresipitasi dengan IPA sebanyak 400 mL. Hasil presipitat dikeringkan dalam suhu ruang selama 24 jam kemudian dikecilkan ukurannya menggunakan blender. Serbuk kitooligosakarida yang diperoleh lalu dikeringkan lagi pada suhu 70°C selama 3 jam menggunakan oven.

Pembuatan *active film* (Anggraeni *et al.* 2016)

Active film dibuat menggunakan mikrogelombang kitooligosakarida (COSM),

kitooligosakarida ultrasuara (COSU), dan kitooligosakarida kombinasi (COSK). Kitooligosakarida dilarutkan dengan asam asetat 0,2% pada konsentrasi 1,5% dan 2% (b/v) dihomogenkan agar merata. Pemanasan dan pengadukan larutan COS dilakukan pada suhu 55-60°C di dalam gelas erlenmyer selama 10 menit menggunakan kompor elektrik. Setelah homogen, larutan ditambahkan pemlastis gliserol sebanyak 80% dari bobot COS (w/w) dan diaduk selama 5 menit. Larutan kemudian dituangkan dalam cetakan berupa nampan teflon berukuran 10x20 cm dan disimpan dalam oven bersuhu 40°C selama 18 jam.

Prosedur analisis

Analisis yang dilakukan yaitu analisis viskositas, berat molekul, ketebalan, *Water Vapor Transmission Rate* (WVTR), kuat tarik, elongasi, transparansi, dan absorbans cahaya UV.

Rendemen (AOAC 1995)

Rendemen kitooligosakarida dilakukan untuk mengetahui pengaruh proses depolimerisasi kitosan terhadap bobot sampel kitooligosakarida yang dihasilkan. Rendemen diperoleh dengan cara membandingkan nilai bobot akhir yaitu kitooligosakarida yang telah diproses dengan bobot kitosan awal (b/b). Rendemen kitooligosakarida dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot kitooligosakarida (akhir)}}{\text{Bobot kitosan (awal)}} \times 100\%$$

Viskositas (Atma *et al.* 2018)

Kitooligosakarida 1% dilarutkan dalam larutan asam asetat dengan konsentrasi 0,2% lalu dipanaskan hingga suhu 50°C (larutan kontrol kitosan 1% dilarutkan pada 1% asam asetat). Larutan tersebut lalu diaduk selama 5 menit hingga homogen. Larutan sampel kemudian dituangkan ke dalam kaca ukur dan diukur menggunakan viskometer brookfield dengan nomor spindel 22 dengan kecepatan rotasi 100 rpm.

Analisis berat molekul kitooligosakarida (Wardhani *et al.* 2013)

Analisis berat molekul dilakukan dengan menghitung nilai viskositas intrinsik

yang didapat dari nilai viskositas dengan viskometer. Konversi nilai viskositas intrinsik dilakukan menggunakan persamaan Huggins. Persamaan yang digunakan untuk memperoleh nilai berat molekul kitooligosakarida adalah sebagai berikut:

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + kH [\eta]^2 C$$

Keterangan:

- η_{sp} = viskositas spesifik (cp);
- C = konsentrasi larutan (g/L);
- kH = konstanta Huggins (0,3);
- $[\eta]$ = viskositas intrinsik (dL/g)

Hubungan antara viskositas dan berat molekul pada kitosan larut air mengikuti persamaan *Mark Houwink*:

$$[\eta] = kMH. Ma$$

$$M = ([\eta] / kMH)^{1/a}$$

Keterangan:

- $[\eta]$ = viskositas intrinsik (dL/g);
- kMH = $3,5 \times 10^{-4}$;
- a = 0,76 M = berat molekul (kDA)

Analisis spektrum gugus FTIR (Roberts 1992)

Analisis gugus fungsi FTIR dilakukan pada sampel kitooligosakarida yang disintesis. Prosedur analisis meliputi beberapa tahapan yaitu pembuatan pelet KBr sampel uji, pengukuran absorbansi, dan interpretasi hasil. Padatan kitooligosakarida hasil depolimerisasi dicampur dengan KBr nisbah 1:100, lalu digerus dan dipadatkan pada tekanan beban 800 kg. Kepingan hasil pengepresan diukur absorbansinya menggunakan instrumen spektrofotometer FTIR dengan kisaran pemindaian yang digunakan antara nilai 400 cm^{-1} hingga 4.000 cm^{-1} .

Analisis derajat polimerisasi (Fiamingo *et al.* 2016)

Derajat polimerisasi (DP) menunjukkan efisiensi depolimerisasi yaitu apabila nilainya semakin rendah, maka proses tersebut menunjukkan hasil yang baik. Perhitungan DP berdasarkan data rata-rata unit deseasetilasi (161 unit) dan unit asetilasi (203 unit) pada polimer kitosan. Perhitungan DP kitooligosakarida hasil depolimerisasi yaitu sebagai berikut:

$$DP = \frac{BM \times 10}{(161 \times DD) + (203 \times DA)}$$

Aktivitas antimikroba (Hanif *et al.* 2007)

Metode yang digunakan adalah uji aktivitas antibakteri dengan metode *disk diffusion* (Kirby-bauer). Parameter uji yang diamati berdasarkan luas zona hambat (mm) yang dihasilkan oleh kitooligosakarida. Pengujian aktivitas antibakteri dimulai dengan menuangkan media TSA (*tryptic soy agar*) sebanyak 10 mL ke dalam cawan petri. Inokulum bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Bacillus cereus* dioleskan ke dalam media hingga merata dengan kapas pentol. Kemudian sebanyak 20 μ L larutan kitooligosakarida mikrogelombang, ultrasuara, dan kombinasi serta larutan kitosan 1% diteteskan ke *paper disk* berukuran 6 mm yang kemudian diletakkan di dalam media yang telah dibuat. Kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol dan kontrol negatif yang digunakan yaitu larutan asam asetat 0,2% sebagai pelarut COS. Cawan petri kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Parameter yang diamati dengan melihat zona bening yang dihasilkan di sekitar cakram dan diukur menggunakan jangka sorong.

Ketebalan (Rusli *et al.* 2017)

Ketebalan film diukur menggunakan mikrometer skrup. Pengukuran dilakukan pada sembilan tempat berbeda dan dilakukan secara acak. Nilai ketebalan film ditentukan dari rata-rata sembilan tempat pengukuran.

WVTR (ASTM E 96-95 1995)

Analisis permeabilitas uap air dapat dihitung dengan mencari laju transmisi uap air (WVTR) terlebih dahulu. WVTR dapat diukur menggunakan metode *wet cup*. Cawan petri ditutup menggunakan *aluminium foil* yang telah diberi lubang dengan ukuran 10% dari luas cawan petri yang digunakan. Cawan petri kemudian diisi dengan akuades sebanyak 30 mL dan sampel plastik ditutupkan pada lubang yang terdapat pada *aluminium foil*. Cawan tersebut kemudian dimasukkan dalam oven bersuhu 37°C. Sampel plastik ditimbang setiap 1 jam sekali selama 5 jam. Nilai WVTR dan permeabilitas uap air dapat dihitung menggunakan persamaan berikut.

$$WVTR = \frac{\text{bobot air yang hilang}}{\text{waktu} \times \text{luas}}$$

Kuat tarik dan persen pemanjangan (ASTM D882-02 2002)

Uji tarik dilakukan menggunakan alat uji mekanis. Pengujian dilakukan dengan menempatkan sampel bioplastik kering dengan ukuran 60 mm \times 20 mm. sampel tersebut diletakkan pada alat uji mekanis lalu ditarik dengan kecepatan konstan dengan beban yang telah ditentukan. Elongasi dihitung dengan membandingkan pertambahan panjang dengan panjang awal film. Data kemudian dicatat. Kekuatan tarik dan elongasi menggunakan persamaan berikut.

$$\tau = \frac{F_{\text{maks}}}{A}$$

Keterangan:

τ = Kekuatan tarik (N/mm²)

F_{maks} = Tegangan maksimum (N)

A = Luas penampang melintang (mm²)

$$\text{Elongasi} = \frac{\text{Pertambahan panjang (cm)}}{\text{Panjang awal (cm)}} \times 100\%$$

Transparansi dan absorbansi cahaya UV (Fang *et al.* 2002)

Sifat penghalang cahaya ultraviolet dari film kitooligosakarida diukur dengan menguji film pada panjang gelombang 200-800 nm menggunakan alat spektrofotometer UV VIS. Sementara itu untuk mengukur transparansi dari film dilakukan dengan mengukur absorbansi film pada panjang gelombang 585 nm. Nilai transparansi dari film dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut.

$$T = A_{585} / X$$

Keterangan:

A_{585} = absorbansi film panjang gelombang 585 nm

X = ketebalan film (mm)

Rancangan percobaan dan analisis data

Rancangan percobaan yang digunakan pada pembuatan kitooligosakarida menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu jenis kitooligosakarida yang terdiri dari tiga taraf (mikrogelombang; ultrasuara; kombinasi). Tahapan pembuatan *active film* kitooligosakarida menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial 2

faktor yaitu jenis kitooligosakarida yang terdiri dari tiga taraf (mikrogelombang; ultrasuara; kombinasi) dan konsentrasi kitooligosakarida yang terdiri dari dua taraf (1,5%; 2%). Perlakuan yang memberikan signifikansi kemudian dilakukan analisis lanjutan menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perlakuan yang berbeda nyata pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik kitooligosakarida

Table 1 menunjukkan nilai dari beberapa parameter uji dari COS yang dihasilkan. Parameter yang diuji yaitu rendemen, viskositas, berat molekul, derajat polimerisasi dan derajat deasetilasi. Rendemen COS yang diperoleh menunjukkan nilai 96,9% pada COSM, 96,8% pada COSU, dan 95,2% pada COSK. Hasil perhitungan statistik menunjukkan tidak ada perbedaan nyata dari rendemen yang dihasilkan ($p>0,05$). Hasil yang diperoleh tidak terlalu berbeda dengan penelitian yang dilakukan Ridho *et al.* (2017) dengan rendemen 93,27% pada pembuatan COS menggunakan ultrasuara dan hidrogen peroksida. Penggunaan metode fisik berupa mikrogelombang dan ultrasuara memiliki keuntungan mudah dilakukan dengan sedikit kontaminasi pada COS yang dihasilkan (Liang *et al.* 2018).

Viskositas COS yang dihasilkan oleh perlakuan COSM, COSU, dan COSK berturut turut sebesar 14, 17, dan 12 cP memiliki perbedaan signifikan ($p<0,05$) jika dibandingkan dengan viskositas kitosan. Penurunan viskositas COS terjadi akibat

penggunaan proses depolimerisasi fisik berupa mikrogelombang dan ultrasuara. Penggunaan metode depolimerisasi tersebut menyebabkan perubahan nilai viskositas akibat molekul kitosan sudah terpotong dan berubah menjadi struktur yang lebih sederhana dengan bobot molekul yang lebih rendah dan sudah terdepolimerisasi sehingga bobot molekulnya berkurang (Phil *et al.* 2018).

Perhitungan bobot molekul COS didasari pada analisis viskositas yang dikonversi menjadi viskositas intrinsik menggunakan persamaan *Huggins* dan kemudian nilai yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan *Mark Houwink*. Nilai berat molekul COSM, COSU, dan COSK berturut turut yaitu 25,2 kDa, 29,3 kDa, dan 22,1 kDa. Setiap perlakuan depolimerisasi kitosan memiliki nilai berat molekul yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kitosan yang memiliki berat molekul sekitar 98,6 kDa. Hasil perhitungan statistik menunjukkan parameter berat molekul memiliki perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) antara perlakuan COSM, COSU, dan COSK. Penelitian yang dilakukan Ridho *et al.* (2017) menghasilkan COS dengan bobot molekul lebih rendah dengan nilai 7,63 kDa dan 2,83 kDa menggunakan metode depolimerisasi kombinasi ultrasuara jenis *probe* dan hidrogen peroksida.

Prinsip depolimerisasi kitosan dengan mikrogelombang adalah gelombang radiasi mikrogelombang menyebabkan panas di tingkat molekular sehingga membantu memotong rantai polimer pada kitosan. Penambahan garam juga berfungsi meningkatkan efisiensi dalam

Table 1 General characteristic of produced COS

Parameter	COSM (Microwave)	COSU (Ultrasound)	COSC (Combination)	CHIT (Chitosan)
Color	Yellowish	Yellowish	Yellowish	White
Yield (%)	96.9±1.6 ^a	96.8±1.6 ^a	95.2±1.6 ^a	-
Viscosity (cP)	14±2.8 ^{ab}	17±2.8 ^b	12±2.8 ^a	51 ^c
Molecular Weight (kDa)	25.2±1.8 ^b	29.3±1.8 ^c	22.1±1.8 ^a	98.6 ± 1.8 ^d
Degree of Polymerization	16±1.6 ^b	17±1.6 ^c	14±1.6 ^a	

Note: Numbers followed by same letter were not significantly different ($p<0.05$)

depolimerisasi kitosan (Xing *et al.* 2005). Prinsip depolimerisasi kitosan dengan ultrasonara yaitu adanya gaya geser antara pelarut dan molekul polimer pada saat pecahnya gelembung kavitas saat proses ultrasonikasi. Degradasi yang terjadi dapat dideskripsikan sebagai model potong acak pada kitosan target. Selain itu faktor yang dapat memengaruhi depolimerisasi kitosan dengan metode ultrasonikasi adalah jenis alat ultrasonikasi, intensitas ultrasonikasi, suhu, konsentrasi polimer, dan sedikit dipengaruhi oleh konsentrasi asam yang digunakan (Wu *et al.* 2008).

Derajat polimerisasi kitooligosakarida menunjukkan nilai yang berbeda untuk setiap perlakuan COS mikrogelombang, ultrasonara, dan kombinasi. Derajat polimerisasi diperoleh menggunakan perhitungan berat molekul kitooligosakarida yang dibandingkan dengan nilai gugus amina dan asetil rata rata pada derajat deasetilasi. Nilainya secara berurutan yaitu 16, 17, dan 14. Berdasarkan hasil perhitungan statistik, setiap perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) untuk parameter derajat polimerisasi. Kitosan dengan derajat depolimerisasi dapat dikatakan sebagai kitooligosakarida. Semakin kecil nilai derajat polimerisasi menunjukkan semakin sedikit berat molekul COS yang diproduksi dan nilainya dapat dipengaruhi oleh derajat deasetilasi kitosan awal dan juga metode depolimerisasi yang digunakan

(Mourya *et al.* 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Xia *et al.* (2013) menghasilkan derajat polimerisasi kitooligosakarida sebesar 7 menggunakan hidrogen peroksida dan asam fosfatungstat.

Spektrum gugus fungsi FTIR

Spektrum gugus fungsi FTIR pada COSM, COSU, dan COSK tidak menunjukkan perbedaan pita serapan yang berbeda nyata. Hasil spektrum gugus FITR dapat dilihat pada *Figure 1*. Spektrum FTIR COS memiliki pita serapan pada 3400 cm^{-1} yang menunjukkan adanya ulur vibrasi gugus O-H dan $-\text{NH}_2$. Gugus FTIR juga menunjukkan adanya serapan khas kitosan yang sudah terdeasetilasi pada sampel COSM, COSU, dan COSK pada pita serapan amida I (N-H) pada 1637 cm^{-1} , 1638 cm^{-1} , dan 1636 cm^{-1} ; amida III (C-N) pada 1087 cm^{-1} , 1096 cm^{-1} , dan 1097 cm^{-1} . Pita serapan sekitar 1429 cm^{-1} (kerutan $-\text{CH}_2$) menandakan gugus hidroksil primer pada polisakarida (Prashanth *et al.* 2002). Ikatan β -1,4-glikosidik ditandai pada pita serapan 603 cm^{-1} , 601 cm^{-1} , dan 602 cm^{-1} .

Spektrum gugus fungsi FTIR pada COSM, COSU, dan COSK tidak menunjukkan hasil pita serapan yang memiliki persamaan dengan pita serapan yang dihasilkan oleh kitosan. Hal tersebut disebabkan proses depolimerisasi kitosan menggunakan mikrogelombang, ultrasonara, dan kombinasi keduanya hanya bersifat memutus rantai

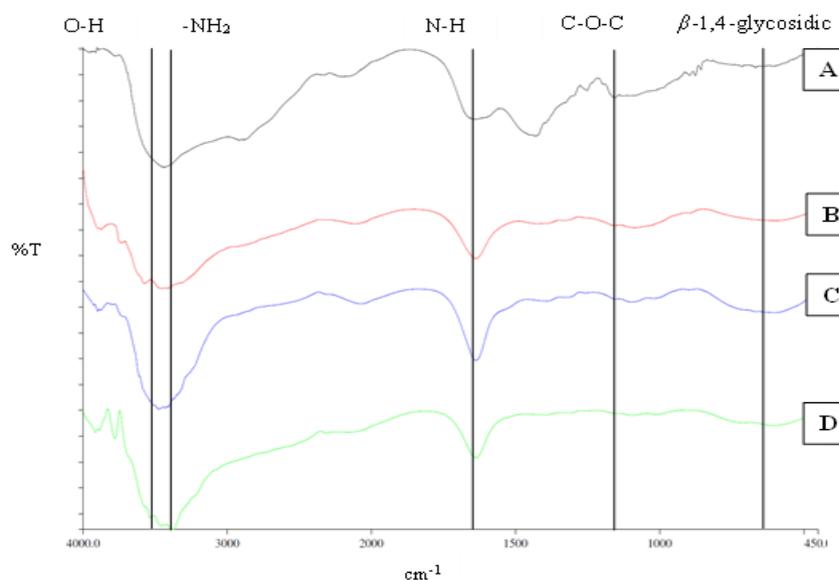


Figure 1 IR Spectra of chitosan and COS (A) CHIT, (B) COSM, (C) COSU, (D) COSC

polimer kitosan menjadi lebih sederhana dengan memotong ikatan β -1,4 glikosidik (Yulina *et al.* 2014). Hasil spektrum yang diperoleh memiliki persamaan dengan penelitian (Ridho *et al.* 2017) menghasilkan nilai pita serapan yang tidak terlalu berbeda signifikan antar kitooligosakarida dengan nilai derajat deasetilasi yang berbeda. Hal ini karena secara prinsip proses depolimerisasi tidak secara signifikan mengubah struktur utama dan gugus fungsi yang ada di kitosan yang telah terdepolimerisasi menjadi kitooligosakarida. Serapan yang lebih banyak pada kitooligosakarida dibandingkan dengan kitosan mengindikasikan bahwa sudah terjadi proses depolimerisasi yang memutus rantai polimer dan menurunkan berat molekul dari kitosan (Faustine *et al.* 2020). Selain itu indikasi serapan yang lebih banyak pada kitooligosakarida juga menunjukkan kehadiran gugus $-NH_2$ yang berkontribusi pada serapan-serapan pada analisis FTIR yang jumlahnya lebih banyak pada kitooligosakarida (Mourya *et al.* 2011).

Aktivitas Antimikroba

Nilai diameter zona hambat dari uji antimikroba dapat dilihat pada *Table 2*. Larutan COSM menghasilkan diameter zona hambat paling besar pada bakteri uji *S. aureus* $5,7\pm 0,19$ mm yang nilainya berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan perlakuan COSU, COSK, dan kitosan yang memiliki nilai diameter hambat masing masing $5\pm 0,19$ mm, $2,18\pm 0,19$ mm, dan $3,57\pm 0,19$ mm. Sama halnya dengan bakteri uji *S. aureus*, zona hambat terbesar pada bakteri uji *B. subtilis* sebesar dan $5,21\pm 0,11$ mm diperoleh COSM yang nilainya berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan perlakuan COSU, COSK, dan kitosan yang memiliki

nilai diameter hambat masing masing $4,18\pm 0,11$ mm, $2,2\pm 0,11$ mm, dan $4,17\pm 0,11$ mm. Sementara itu untuk bakteri uji *E. coli*, perolehan diameter zona hambat terbesar ada pada perlakuan COSK sebesar $7,18\pm 0,24$ mm yang nilainya berbeda nyata. Diameter zona hambat dari COSK memiliki beda yang signifikan ($p < 0,05$) dengan perlakuan lain yaitu COSM, COSU, dan kitosan yang memiliki nilai zona hambat sebesar $5,38\pm 0,24$ mm, $2,14\pm 0,24$ mm, dan $6,06\pm 0,24$ mm.

Kitosan dan oligomernya adalah biopolimer dan turunannya yang bersifat nontoksik dan memiliki aktivitas biologis antimikroba. Beberapa mekanisme sifat antimikroba yang dimiliki kitosan yang pertama adalah adanya interaksi elektrostatis antara kation kitosan dengan molekul anion pada permukaan sel mikroba sehingga mengganggu stabilitas dinding sel dan terjadi kebocoran material. Mekanisme kedua yaitu penetrasi oligomer kitosan pada membran sel dan berinteraksi dengan DNA bakteri sehingga mengganggu proses sintesis protein. Mekanisme ketiga adalah kitosan dan oligomernya melakukan proses pengkelatan (*chelation*) pada nutrisi dan metal esensial yang fundamental untuk stabilitas sel mikroorganisme (Matica *et al.* 2019) Kitosan dan oligomernya memiliki keunikan yaitu mempunyai muatan positif. Muatan positif ini ada pada monomer COS yaitu glukosamin dengan muatan positif pada NH_3^+ yang mampu merusak stabilitas membran sel bakteri. COS mampu menunjukkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram negatif maupun positif (Guan *et al.* 2019). COS dengan berat molekul rendah memiliki rantai yang lebih pendek dengan muatan positif yang lebih merata sehingga lebih efektif untuk

Table 2 Inhibition zone of chito-oligosaccharide

Sample	Zone of Inhibition (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>
COSM (Microwave)	5.70 ± 0.19^d	5.21 ± 0.11^c	5.38 ± 0.24^b
COSU (Ultrasound)	5.00 ± 0.19^c	4.18 ± 0.11^b	2.14 ± 0.24^a
COSC (Combination)	2.18 ± 0.19^a	2.20 ± 0.11^a	7.18 ± 0.24^d
CHIT (Chitosan)	3.57 ± 0.19^b	4.17 ± 0.11^b	6.06 ± 0.24^c

Note: Numbers followed by same letter were not significantly different ($p < 0.05$)

menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (Goy *et al.* 2009). COSK menghasilkan berat molekul paling kecil di antara COS perlakuan lain (22,1 kDa) dan memiliki aktivitas penghambatan bakteri gram negatif (*E. coli*) terbesar. Namun beberapa penelitian juga menyatakan bahwa COS lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Penelitian yang dilakukan Ridho *et al.* (2017) memiliki nilai zona hambat yang lebih besar pada bakteri *S. aureus* dan *B. subtilis* dibandingkan dengan *E. coli* dengan nilai 7,85 mm, 8,17 mm, dan 5,56 mm. Faktor yang dapat memengaruhi aktivitas antimikroba dari COS yaitu derajat deasetilasi, berat molekul, pH, dan juga bahan baku dari COS itu sendiri (Chimtung 2018).

Ketebalan

Ketebalan adalah faktor penting yang diperhatikan dalam proses pembuatan *active film*. Nilai ketebalan film COS dapat dilihat pada Table 3. Ketebalan dari film COS yang diproduksi memiliki variasi pada jenis COS dan konsentrasi COS, namun tidak ada interaksi antara jenis COS dan konsentrasi ($p > 0,05$). Hasil penelitian pada Table 3 menunjukkan ketebalan pada konsentrasi 1,5% berkisar antara 0,12-0,15 mm sedangkan ketebalan pada konsentrasi 2% berkisar dari 0,24-0,25 mm. Hasil statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara penggunaan konsentrasi COS 1,5% dan 2% ($p < 0,05$). Semakin tinggi konsentrasi COS yang digunakan maka nilai ketebalan akan semakin meningkat pula. Ketebalan juga dapat dipengaruhi oleh pmlastis yang digunakan.

Active film yang diperoleh memiliki ketebalan minimal 0,12 mm pada konsentrasi 1,5% dan 0,25 mm pada konsentrasi 2%. Hasil tersebut sudah sesuai dengan *Japanese International Standard* (JIS 1975) untuk standar ketebalan *edible film* maksimum sebesar 0,25 mm. Hasil yang diperoleh memiliki perbedaan dengan penelitian yang dilakukan Fatnasari *et al.* (2018) menghasilkan ketebalan *edible film* berbahan dasar pati ubi jalar yang ditambahkan gliserol dengan konsentrasi 25% (b/b) dengan nilai ketebalan sebesar 0,09 mm. Perbedaan nilai ketebalan ini disebabkan oleh perbedaan konsentrasi gliserol yang ditambahkan. Penelitian yang dilakukan menggunakan konsentrasi gliserol 80% (b/b) sehingga nilai ketebalannya lebih tinggi.

Ketebalan dapat menentukan penggolongan film yang akan digunakan sebagai pengemas ataupun pelapis produk. Perbedaan nilai ketebalan dari masing-masing COS dapat disebabkan karena sifat pmlastis gliserol dan juga COS yang mampu mempertahankan ikatannya dengan air selama proses pengovenan. Viskositas juga memiliki peran besar untuk memengaruhi ketebalan film. Semakin tinggi viskositas larutan film maka semakin meningkat ketebalan film yang diproduksi (Jacoeb *et al.* 2014). Penambahan jenis pmlastis gliserol juga berkontribusi dalam ketebalan film yang diproduksi. Molekul gliserol akan mengisi rongga antar matriks dan berinteraksi dengan bahan film yang digunakan sehingga menambah jarak antar polimer dan meningkatkan ketebalan film (Arham *et al.* 2016). Film kitooligosakarida konsentrasi

Table 3 Thickness of COS film

COS concentration (%)	Thickness of COS (mm)				Concentration mean effect
	M	U	C	CHIT	
1.5	0.14±0.04	0.14±0.04	0.12±0.04	0.15±0.04	0.14±0.02 ^a
2	0.24±0.04	0.24±0.04	0.25±0.04	0.25±0.04	0.24±0.02 ^b
Mean []	0.19±0.03 ^a	0.19±0.03 ^a	0.18±0.03 ^a	0.2±0.03 ^a	(-)

Note: Numbers followed by the same letter were not significantly different ($p < 0.05$)

Mean [] : Type of COS mean effect

(+) : There are significant interaction between type of COS and COS concentration

(-) : There are no significant interaction between type of COS and COS concentration

2% menggunakan jumlah gliserol yang lebih banyak daripada film kitooligosakarida konsentrasi 1,5% sehingga terjadi perbedaan ketebalan di antara keduanya.

Laju transmisi uap air (WVTR)

Pengujian laju transmisi uap air dilakukan untuk mengetahui besaran berat air yang dapat menembus lapisan film COS. Semakin rendah nilai WVTR, maka semakin baik suatu bahan dapat menahan transfer massa air ke lingkungannya. Hasil pengujian WVTR pada film COS dapat dilihat pada *Table 4*. Hasil penelitian pada *Table 4* menunjukkan bahwa jenis COS serta konsentrasi COS dapat memengaruhi nilai WVTR yang diperoleh karena adanya interaksi antara dua faktor yaitu faktor konsentrasi COS dan jenis COS yang digunakan ($p < 0,05$). Nilai terbesar dari WVTR diperoleh film COSM konsentrasi 1,5% dengan nilai $9,43 \pm 0,66$ g/m²/hari. Sementara itu nilai WVTR terendah diperoleh film COSU konsentrasi 2% dengan nilai $5,25 \pm 0,66$ g/m²/hari dan diikuti dengan film kitosan konsentrasi 2% dengan nilai WVTR sebesar $6,71 \pm 0,66$ g/m²/hari.

Nilai WVTR yang diperoleh dari film berbahan dasar kitooligosakarida sudah sesuai dengan *Japanese Industrial Standard* (JIS 1975) dengan nilai maksimum untuk parameter WVTR yaitu sebesar 10 g/m²/hari. Penelitian yang dilakukan oleh Arham *et al.* (2016) memiliki nilai *edible film* pati ubi jalar dengan konsentrasi gliserol 25% dengan nilai WVTR sebesar 2,35 g/m²/hari. Penelitian lain yang dilakukan oleh Darni *et al.* (2017) menghasilkan nilai WVTR dengan nilai 4,1675 g/m²/hari pada *edible film* berbahan dasar pektin buah cokelat yang ditambahkan

pemlastis gliserol. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh penggunaan konsentrasi gliserol yang digunakan. Gliserol memiliki sifat hidrofilik sehingga mudah mengikat air. Penggunaan gliserol dengan konsentrasi lebih tinggi berpotensi meningkatkan nilai WVTR karena film yang diproduksi akan lebih mudah mengikat molekul air (Park *et al.* 2002).

Perpindahan uap air dapat diantisipasi menggunakan film dengan sifat yang baik. *Edible film* yang baik akan mampu menahan transfer massa air sehingga air tidak mudah pindah ke lingkungan. Beberapa faktor yang dapat memengaruhi besar dan kecilnya nilai transmisi uap air yaitu kelembapan, ketebalan film, jenis dan konsentrasi pemlastis serta sifat alami dari bahan utama yang digunakan sebagai film (Supeni dan Irawan 2012). Meningkatnya permeabilitas dari suatu film mengindikasikan adanya sifat afinitas terhadap air yang dapat disebabkan oleh kehadiran molekul dengan sifat hidrofilik pada formula film. Transfer massa air pada film ataupun *coating* dapat dipengaruhi oleh difusivitas (faktor kinetik) dan fenomena sorpsi (faktor termodinamika) (Debeaufort dan Voilley 2009).

Kuat tarik

Kuat tarik merupakan salah satu sifat mekanis yang perlu diperhatikan dalam evaluasi kualitas suatu film. Kuat tarik merupakan gaya maksimum yang dialami oleh film sampai film putus atau robek. Semakin besar nilai kuat tarik maka semakin kuat gaya yang dibutuhkan suatu film untuk putus. Hasil pengujian kuat tarik film COS dapat dilihat pada *Table 5*. Berdasarkan hasil perhitungan statistik tidak ada interaksi antara

Table 4 WVTR of COS film

COS concentration (%)	WVTR of COS (g/m ² /day)				Concentration mean effect
	M	U	C	CHIT	
1.5	9.43 ± 0.66^b	8.69 ± 0.66^b	9.20 ± 0.66^b	8.34 ± 0.66^b	8.84 ± 0.33^b
2	8.01 ± 0.66^b	5.25 ± 0.66^a	8.69 ± 0.66^b	6.71 ± 0.66^{ab}	7.11 ± 0.33^a
Mean []	8.72 ± 0.46^b	6.97 ± 0.46^a	8.69 ± 0.46^b	7.53 ± 0.46^{ab}	(+)

Note: Numbers followed by the same letter were not significantly different ($p < 0.05$)

Mean [] : Type of COS mean effect

(+) : There are significant interaction between type of COS and COS concentration

(-) : There are no significant interaction between type of COS and COS concentration

Table 5 Tensile Strength of COS film

COS concentration (%)	Tensile strength of COS (N/mm ²)				Concentration mean effect
	M	U	C	CHIT	
1.5	1.34±0.72	5.22±0.72	3.19±0.72	4.59±0.72	3.58±0.36 ^a
2	2.04±0.72	5.43±0.72	3.61±0.72	4.78±0.72	3.96±0.36 ^a
Mean []	1.69±0.51 ^a	5.32±0.51 ^c	3.40±0.51 ^b	4.68±0.51 ^c	(-)

Note: Numbers followed by the same letter were not significantly different ($p < 0.05$)

Mean [] : Type of COS mean effect

(+) : There are significant interaction between type of COS and COS concentration

(-) : There are no significant interaction between type of COS and COS concentration

jenis COS dengan konsentrasi COS ($p > 0,05$). Jenis COS memengaruhi nilai kuat tarik yang dihasilkan ($p < 0,05$). Hasil pengujian kuat tarik film COS menunjukkan nilai kuat tarik tertinggi diperoleh COSU konsentrasi 2% dengan nilai 5,43d N/mm² dan nilai terendah pada COSM konsentrasi 1,5% dengan nilai 1,34a N/mm². Perbedaan nilai kuat tarik yang dihasilkan dapat disebabkan oleh perbedaan karakteristik dari COS yang diproduksi.

Nilai kuat tarik yang diperoleh pada setiap jenis COS dengan konsentrasi 1,5% dan 2% sudah sesuai dengan *Japanese Industrial Standard* (JIS 1975) untuk *edible film* dengan nilai kuat tarik minimum sebesar 0,3 MPa atau 0,3 N/mm². Penelitian yang dilakukan oleh Priyadarshi *et al.* (2018) mendapatkan kuat tarik film berbahan dasar kitosan-gliserol yang dilarutkan menggunakan asam sitrat (*agen crosslinker*) dengan nilai kuat tarik sebesar 9,48 MPa. Salah satu hal yang memengaruhi karakteristik kuat tarik dari film adalah penggunaan bahan pengisi atau *filler*. Penambahan bahan pengisi kalsium karbonat dapat meningkatkan kuat tarik dari film berbahan dasar pektin cokelat dari 3 MPa menjadi 6,5 MPa (Darni *et al.* 2017).

COS dengan bobot molekul lebih kecil cenderung memiliki kuat tarik yang lemah. Kitosan akan membentuk ikatan hidrogen antara gugus hidroksil dan amino pada pembuatan film. Semakin tinggi berat molekul kitosan atau COS maka akan semakin banyak ikatan antara gugus hidroksil dan amino yang akan meningkatkan kuat tariknya (Park *et al.* 2002). Jenis pemlastis gliserol juga turut berkontribusi dalam perolehan nilai kuat tarik film. Penambahan jenis pemlastis gliserol mampu meningkatkan elongasi film

namun mengurangi kuat tarik film. Hal ini terjadi karena kehadiran gliserol menurunkan interaksi rantai polimer dari kitosan ataupun COS (Rivero *et al.* 2016). Salah satu kelebihan dari COS adalah menggunakan pelarut dengan pH lebih tinggi untuk larutan film dibandingkan kitosan. Pelarut asam diduga mampu mengubah keseimbangan rantai ikatan hidrogen intra dan interkitosan sehingga menurunkan sifat mekanis film yang diproduksi (Qiao *et al.* 2021).

Elongasi

Elongasi adalah rasio penambahan Panjang film terhadap panjang awalnya. Persen elongasi menunjukkan seberapa elastis suatu film yang diuji. Semakin besar nilai elongasi semakin elastis film yang diproduksi. Hasil pengujian elongasi dari film COS dapat dilihat pada *Table 6*. Berdasarkan hasil perhitungan statistik, terdapat interaksi antara faktor jenis COS dan faktor konsentrasi COS ($p < 0,05$). Nilai elongasi film tertinggi ada pada film COSU 2% dengan pemanjangan sebesar 76,7±5,3% dan nilai paling rendah pada COSM dengan nilai 10,41±5,3%. Tingkat plastisitas film yang tinggi lebih mudah menyesuaikan dengan bentuk produk karena film tidak mudah putus atau retak.

Sebagian besar nilai elongasi dari film kitooligosakarida belum memenuhi *Japanese International Standard* (JIS 1975) untuk *edible film*. Nilai minimum parameter elongasi untuk film yaitu minimal 70%. Hasil penelitian menunjukkan hanya jenis film COSU konsentrasi 2% yang memenuhi kriteria standar tersebut dengan nilai elongasi sebesar 76,7%. Faktor yang dapat memengaruhi besar kecilnya nilai elongasi pada kitosan

Table 6 Elongation of COS film

COS concentration (%)	Elongation of COS (%)				Concentration mean effect
	M	U	C	CHIT	
1.5	10.41±5.3 ^a	30.64±5.3 ^{bc}	18.3±5.3 ^{ab}	28.64±5.3 ^b	22.0±2.65 ^a
2	12.87±5.3 ^a	76.7±5.3 ^d	33.7±5.3 ^{bc}	40.32±5.3 ^c	40.9±2.65 ^b
Mean []	11.64±3.8 ^a	53.67±3.8 ^d	26.01±3.8 ^b	34.48±3.8 ^c	(+)

Note: Numbers followed by the same letter were not significantly different ($p < 0.05$)

Mean [] : Type of COS mean effect

(+) : There are significant interaction between type of COS and COS concentration

(-) : There are no significant interaction between type of COS and COS concentration

dan turunannya adalah penggunaan pelarut untuk membuat film berbahan dasar kitosan misalnya asam asetat, asam sitrat, asam laktat dan asam malat serta viskositas atau bobot molekul dari kitosan (Park *et al.* 2002). Penelitian yang dilakukan oleh Anggraeni *et al.* (2016) mendapatkan nilai elongasi perpanjangan putus sebesar 77% dari film penutup luka dengan bahan dasar kitosan dengan pemlastis kombinasi pemlastis gliserol dan sorbitol 1:3. Penambahan sebanyak 2 mL gliserol dalam formula film berbahan dasar pati ubi jalar Cilembu dapat meningkatkan persen elongasi dari 4,9% menjadi 32,8% (Nuriyah *et al.* 2018).

Elongasi dapat dipengaruhi oleh jenis pemlastis yang digunakan dalam pembuatan film. Pemlastis gliserol akan meningkatkan elongasi dari film karena mengurangi interaksi antar rantai dari bahan sehingga meningkatkan pergerakan makromolekul (Rovshandeh *et al.* 2014). Gliserol mampu mengubah sifat rigiditas dari film sehingga film yang ditambahkan gliserol dalam formulasinya akan semakin fleksibel. Bobot molekul gliserol yang kecil memudahkan gliserol untuk bergabung dalam matriks film

dan meningkatkan fleksibilitas dari film yang dibuat (Jacob *et al.* 2014). Nilai elongasi suatu material film bergantung pada fleksibilitas rantai molekul. Sifat yang dapat memengaruhi elongasi dari material yaitu interaksi rantai, ketebalan film, serta kelembapan lingkungan (Zavareze *et al.* 2012). Pemlastis dapat berfungsi sebagai pelumas yang menyebabkan molekul polimer lebih mudah melewati satu sama lain sehingga menambahkan ekstensibilitas dari suatu polimer (Fang *et al.* 2002).

Transparansi dan absorbansi cahaya UV

Transparansi merupakan salah satu faktor penting yang diperhitungkan dalam pembuatan film. Transparansi menggambarkan tingkat kejernihan film dihitung berdasarkan absorbansi film pada panjang gelombang 585 nm dan ketebalan film. Semakin kecil nilai transparansi menandakan semakin jernih film yang diuji (Bao *et al.* 2009). Hasil pengujian transparansi film COS dapat dilihat pada *Table 7*. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa adanya interaksi antara jenis COS dan konsentrasi

Table 7 Transparency of COS film

COS concentration (%)	Transparency of COS				Concentration mean effect
	M	U	C	CHIT	
1.5	1.63±0.27 ^{bc}	0.76±0.27 ^{ab}	1.21±0.27 ^b	0.42±0.27 ^a	1.01±0.14 ^a
2	2.30±0.27 ^c	1.80±0.27 ^c	2.28±0.27 ^c	0.47±0.27 ^a	1.71±0.14 ^b
Mean []	1.96±0.19 ^d	1.28±0.19 ^b	1.75±0.19 ^c	0.45±0.19 ^a	(+)

Note: Numbers followed by the same letter were not significantly different ($p < 0.05$)

Mean [] : Type of COS mean effect

(+) : There are significant interaction between type of COS and COS concentration

(-) : There are no significant interaction between type of COS and COS concentration

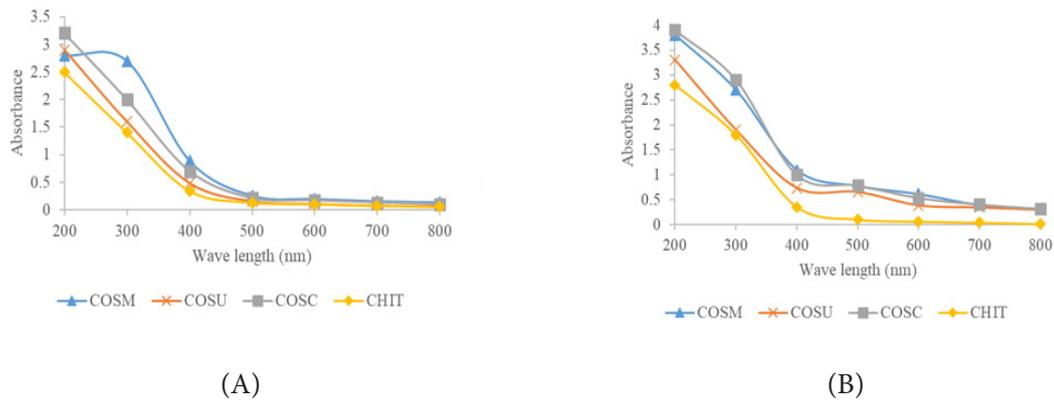


Figure 2 UV light absorbance of 1.5% (A) and 2% (B) film; COSM: chito-oligosaccharide microwave; COSU: chito-oligosaccharide ultrasound; COSC: chito-oligosaccharide combination; CHIT: chitosan)

COS ($p < 0,05$). Nilai transparansi terendah ada pada sampel kitosan konsentrasi 1,5% sebesar 0,42 dan nilai tertinggi pada COSM konsentrasi 2% sebesar 2,3.

Besar kecilnya nilai transparansi dari film dapat dipengaruhi oleh bahan baku dari film. Penggunaan film berbahan dasar dari kombinasi pati-gelatin (rasio 4:1) dengan gliserol sebagai pemlastis menghasilkan nilai transparansi sebesar 2,12 (Al-Hassan dan Norziah 2012). Sebagian besar peneliti mengklaim bahwa penggunaan gliserol sebagai pemlastis menghasilkan film dengan nilai transparansi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan film dengan pemlastis lain misalnya sorbitol. Hal ini disebabkan karena molaritas gliserol yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis pemlastis lain pada konsentrasi pemlastis yang sama (% b/b dari bahan baku film) (Leerahawong *et al.* 2011). Penelitian yang telah dilakukan memiliki persamaan dengan penelitian Priyadarshi *et al.* (2018) yang meneliti tentang kombinasi pelarut asam sitrat dengan kitosan dan gliserol menghasilkan nilai transparansi yang relatif rendah dengan nilai 0,32. Penggunaan konsentrasi COS maupun kitosan yang lebih tinggi berkontribusi pada meningkatnya nilai transparansi pada film yang diproduksi (Ren *et al.* 2017). Hal yang dapat memengaruhi nilai transparansi salah satunya adalah karakteristik atau sifat dari bahan baku yang digunakan untuk pembuatan film (Kaewprachu *et al.* 2018). Film dengan

bahan dasar kitosan cenderung memiliki kenampakan yang lebih jernih dibandingkan dengan film COS. Hasil ini dapat dilihat dari kecenderungan semua jenis COS yang diproduksi memiliki nilai transparansi yang lebih besar daripada kitosan. Apabila dilihat dari bahan dasar pembentuk film, kitosan memiliki warna putih sedangkan COS yang dihasilkan memiliki warna cenderung kekuningan. Warna kekuningan dari COS yang dihasilkan berkontribusi pada lebih tingginya nilai transparansi film COS dibandingkan dengan film kitosan.

Absorbansi cahaya UV diukur untuk mengetahui kemampuan film untuk menahan pancaran gelombang UV. Film dipaparkan pada panjang gelombang 200-800 nm dan dihitung absorbansinya. Film yang mampu menyerap sinar UV ditunjukkan dengan adanya absorbansi pada panjang gelombang selang 200-300 nm (Zarandona *et al.* 2020). Hasil pengukuran absorbansi cahaya UV untuk COS konsentrasi 1,5% dan 2% dapat dilihat pada Figure 2. Berdasarkan gambar tersebut, film kitosan dan COS memiliki potensi untuk menghambat sinar UV ditunjukkan dengan adanya absorbansi yang cukup besar pada panjang gelombang 200-300 nm dan nilainya terus menurun seiring dengan bertambahnya nilai panjang gelombang. Semakin tinggi konsentrasi COS dan kitosan yang digunakan akan menghasilkan absorbansi yang lebih baik pada panjang gelombang tersebut dengan bentuk grafik yang relatif mirip.

Kehadiran gugus karbonil pada kitosan dan COS membantu meningkatkan absorbansi dari film pada rentang panjang gelombang UV (Abdolrahimi *et al.* 2018). Nilai absorbansi berangsur turun nilainya seiring dengan bertambahnya nilai panjang gelombang. Film dengan kapasitas sawar UV yang tinggi berpotensi mencegah reaksi oksidasi dari bahan. Kelemahan dari film dengan sifat tersebut yaitu kurang disukai karena warnanya yang cenderung tidak jernih atau bening (Souza *et al.* 2019). Pemlastis juga memiliki peran untuk menentukan besar kecilnya absorbansi film terhadap sinar UV. Penggunaan pemlastis berbasis gula misalnya glukosa, fruktosa, dan sorbitol diketahui menyebabkan adanya reaksi pencokelatan apabila dikombinasikan dengan bahan dasar pembentuk film berbasis protein. Reaksi pencokelatan yang terjadi dapat berakibat meningkatkan absorbansinya terhadap sinar UV (Leerahawong *et al.* 2011). Film COS memiliki nilai absorbansi yang lebih tinggi dibandingkan dengan film kitosan. Hal ini terjadi karena bahan baku COS mengalami reaksi pencokelatan (Mourya *et al.* 2011). Film yang berwarna lebih kekuningan cenderung memiliki absorbansi UV yang lebih baik dibandingkan dengan film yang jernih.

KESIMPULAN

Depolimerisasi kitosan dengan metode fisik menghasilkan karakteristik COS berwarna kekuningan yang memiliki viskositas dan bobot molekul yang nilainya lebih rendah daripada kitosan. Setiap jenis COS yang diproduksi dengan metode fisik menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona hambat seperti kitosan pada bakteri uji *S. aureus*, *B. subtilis*, dan *E. coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak semua jenis COS yang diproduksi dapat menghasilkan sifat mekanis film yang baik. Film berbahan dasar COS dengan bobot molekul yang terlalu kecil cenderung memiliki sifat mekanis film yang buruk. Sifat mekanis film terbaik yang juga sudah memenuhi kriteria standar Japanese Industrial Standard (JIS 1975) untuk *edible film* diperoleh pada perlakuan film COSU konsentrasi 2%. Film berbahan dasar COS secara keseluruhan

menunjukkan kemampuan absorbansi gelombang ultraviolet yang lebih baik dibandingkan dengan film berbahan kitosan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdolrahimi M, Seifi M, Ramezanzadeh MH. 2018. Study the effect of acetic acid on structural, optical and mechanical properties of PVA/chitosan/MWCNT films. *Chinese Journal of Physics*. 56(1):221–230.
- Al-Hassan AA, Norziah MH. 2012. Starch-gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*. 26(1):108–117.
- Anggraeni Y, Sulistiawati F, Astria DN. 2016. Pengaruh plasticizer gliserol dan sorbitol terhadap karakteristik film penutup luka kitosan-tripolifosfat yang mengandung asiaticosida. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 14(2):128–134.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. *Official Method of Analysis*. Washington, DC: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Arham R, Mulyati MT, Metusalach M, Salengke S. 2016. Physical and mechanical properties of agar based edible film with glycerol plasticizer. *International Food Research Journal*. 23(4):1669–1675.
- [ASTM] American Society for Testing and Materials. 2002. *Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, D882 02*. Philadelphia (US): American Society for Testing and Materials.
- [ASTM] American Society for Testing and Materials. 1995. *Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials, E96-95*. Philadelphia (US): American Society for Testing and Materials.
- Atma Y, Ramdhani H, Mustopa AZ, Pertiwi M, Maisarah R. 2018. Karakteristik fisikokimia gelatin tulang ikan patin (*Pangasius sutchi*) hasil ekstraksi menggunakan limbah buah nanas (*Ananas comosus*). *Agritech*. 38(1):56–63.
- Bao S, Xu S, Wang Z. 2009. Antioxidant activity and properties of gelatin films incorporated with tea polyphenol-loaded chitosan nanoparticles. *Journal of The*

- Science of Food Agriculture*. 89(15):2692–2700.
- Bastarrachea LJ, Wong DE, Roman MJ, Lin Z, Goddard JM. 2015. Active packaging coatings. *Coatings*. 5(4):771–791.
- Chimtung S. 2018. Antibacterial activity of chito-oligosaccharides (COSS) from shrimp shells wastes. *Advance in Plants and Agriculture Research*. 8(6):392–394.
- Darni Y, Utami H, Septiana R, Fitriana RA. 2017. Comparative studies of the edible film based on low pectin methoxyl with glycerol and sorbitol plasticizers. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. 6(2):158–167.
- Debeaufort F, Voilley A. 2009. *Edible Films and Coatings for Food Applications*.
- Fang Y, Tung MA, Britt IJ, Yada S, Dalgleish DG. 2002. Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. *Journal of Food Science*. 67(1):188–193.
- Fatnasari A, Nocianirrti KA, Suparhana IP. 2018. The effect of glycerol concentration on the characteristic edible film sweet potato starch (*Ipomoea batatas* L.). *Media Ilmiah Teknologi Pangan*. 5(1):27–35.
- Faustine D, Setyaningsih I, Hardiningtyas SD. 2020. Depolimerisasi kitosan menggunakan sinar ultraviolet dan katalis asam klorida. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(3):412–422.
- Fiamingo A, Delezuk JADM, Trombotto S, David L, Campana-Filho SP. 2016. Extensively deacetylated high molecular weight chitosan from the multistep ultrasound-assisted deacetylation of beta-chitin. *Ultrasonics Sonochemistry*. 32:79–85.
- Goy RC, De Britto D, Assis OBG. 2009. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polimeros*. 19(3):241–247.
- Guan G, Abul Kalam Azad M, Lin Y, Kim SW, Tian Y, Liu G, Wang H. 2019. Biological effects and applications of chitosan and chito-oligosaccharides. *Frontier of Physiology*. 10(5):1–10.
- Hanif N, Tanaka J, Setiawan A, Trianto A, De Voogd NJ, Murni A, Tanaka C, Higa T. 2007. Polybrominated diphenyl ethers from the Indonesian sponge *Lamellodysidea herbacea*. *Journal of Natural Products*. 70(3):432–435.
- Harish Prashanth K V., Kittur FS, Tharanathan RN. 2002. Solid state structure of chitosan prepared under different N-deacetylating conditions. *Carbohydrate Polymers*. 50(1):27–33.
- Jacob AM, Nugraha R, Utari SPSD. 2014. Edible film from lindur fruit starch with addition of glycerol and carrageenan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(1):14–21.
- Japanese Industrial Standard. 1975. *Japanese Standards Association*. 2: 1707.
- Kaewprachu P, Osako K, Rawdkuen S. 2018. Effects of plasticizers on the properties of fish myofibrillar protein film. *Journal of Food Science and Technology*. 55(8):3046–3055.
- Lagarón JM, López-Rubio A, José Fabra M. 2016. Bio-based packaging. *Journal of Applied Polymer Science*. 133(2):1-15.
- Leerahawong A, Tanaka M, Okazaki E, Osako K. 2011. Effects of plasticizer type and concentration on the physicochemical properties of edible film from squid *Todarodes pacificus* mantle muscle. *Fisheries Science*. 77(6):1061–1068.
- Liang S, Sun Y, Dai X. 2018. A review of the preparation, analysis and biological functions of chitoooligosaccharide. *International Journal of Molecular Science*. 19(8):1-19.
- Lodhi G, Kim YS, Hwang JW, Kim SK, Jeon YJ, Je JY, Ahn CB, Moon SH, Jeon BT, Park PJ. 2014. Chitoooligosaccharide and its derivatives: Preparation and biological applications. *Biomed Research International*. 2014:1-6.
- Mailoa NM, Marthina Tapotubun A, Matrutty TEAA. 2017. Analysis total plate count (TPC) on fresh steak tuna applications edible coating *Caulerpa* sp. during stored at chilling temperature. *IOP Confrence Series Earth and Environmental Science*. 89(1):1-6.
- Matica MA, Aachmann FL, Tøndervik A, Sletta H, Ostafe V. 2019. Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(23):1–34.
- Mourya VK, Inamdar NN, Choudhari YM.

2011. Chitooligosaccharides: Synthesis, characterization and applications. *Polymer Science Series A*. 53(7):583–612.
- Nuriyah L, Saroja G, Ghufron M, Razanata A, Rosid NF. 2018. Karakteristik kuat tarik dan elongasi bioplastik berbahan pati ubi jalar cilembu dengan variasi jenis pemlastis. *Natural B*. 4(4):177–182.
- Park SY, Marsh KS, Rhim JW. 2002. Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. *Journal of Food Science*. 67(1):194–197.
- Priyadarshi R, Sauraj, Kumar B, Negi YS. 2018. Chitosan film incorporated with citric acid and glycerol as an active packaging material for extension of green chilli shelf life. *Carbohydrate Polymers*. 195:329–338.
- Qiao C, Ma X, Wang X, Liu L. 2021. Structure and properties of chitosan films: Effect of the type of solvent acid. *LWT-Food Science and Technology*. 135(April 2020):1-6.
- Ren L, Yan X, Zhou J, Tong J, Su X. 2017. Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films. *International Journal of Biological Macromolecules*. 105:1636–1643.
- Ridho FA, Riyanto B, Uju. 2017. Kitooligosakarida melalui depolimerisasi kitosan dengan hidrogen peroksida untuk aplikasi biopreservatif pindang tradisional. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(3):536–548.
- Rivero S, Damonte L, García MA, Pinotti A. 2016. An insight into the role of glycerol in chitosan films. *Food Biophysics*. 11(2):117–127.
- Roberts GAF. 1992. Analysis of Chitin and Chitosan. Di dalam: *Chitin Chemistry*. London: Macmillan Education UK. 85–115.
- Rovshandeh MJ, Ekhlesi Kazaj K, Hosseini A, Pouresmael Selakjani P. 2014. Effect of glycerol and stearic acid as plasticizer on physical properties of benzylated wheat straw. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*. 33(4):107–116.
- Rusli A, Metusalach, Salengke, Tahir MM. 2017. Karakterisasi edible film karagenan dengan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2):219–229.
- Souza VGL, Pires JRA, Rodrigues C, Rodrigues PF, Lopes A, Silva RJ, Caldeira J, Duarte MP, Fernandes FB, Coelho IM, et al. 2019. Physical and morphological characterization of chitosan/montmorillonite films incorporated with ginger essential oil. *Coatings*. 9(11):1–
- Supeni G, Irawan S. 2012. Pengaruh penggunaan kitosan terhadap sifat barrier edible film tapioka termodifikasi (the effect of chitosan usage on the barrier properties of modified starch edible films). *Jurnal Kimia Kemasan*. 34(1):199–206.
- Wardhani IK, Badres S, Prasetyaningrum A. 2013. Kinetika reaksi depolimerisasi karaginan pada suhu dan pH optimum dengan katalisator katalis sulfat. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. 2(4):177–183.
- Wu T, Zivanovic S, Hayes DG, Weiss J. 2008. Efficient reduction of chitosan molecular weight by high-intensity ultrasound: Underlying mechanism and effect of process parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(13):5112–5119.
- Xia Z, Wu S, Chen J. 2013. Preparation of water soluble chitosan by hydrolysis using hydrogen peroxide. *International Journal of Biological Macromolecules*. 59:242–245.
- Xing R, Liu S, Yu H, Guo Z, Wang P, Li C, Li Z, Li P. 2005. Salt-assisted acid hydrolysis of chitosan to oligomers under microwave irradiation. *Carbohydrate Research*. 340(13):2150–2153.
- Yulina R, Winiati W, Kasipah C, Septiani W, Surya Mulyawan A, Wahyudi T. 2014. Pengaruh berat molekul kitosan terhadap fiksasi. *Arena Tekstil*. 29(2):81–90.
- Zarandona I, Estupiñán M, Pérez C, Alonso-Sáez L, Guerrero P, de la Caba K. 2020. Chitosan films incorporated with exopolysaccharides from deep seawater *Alteromonas* sp. *Marine Drugs*. 18(9):1–10.
- Zavareze EDR, Pinto VZ, Klein B, El Halal SLM, Elias MC, Prentice-Hernández C, Dias ARG. 2012. Development of oxidised and heat-moisture treated potato starch film. *Food Chemistry*. 132(1):344–350.