

Monograf

Pembuatan Kemasan Antimikroba Berbahan Polimer Alami Kombinasi Minyak Atsiri

EVIOMITTA RIZKI AMANDA



**STIKES RUMAH SAKIT ANWAR MEDIKA
SIDGARJO
2019**

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, karena atas rahmatnya penulis dapat menyelesaikan monograf dengan judul "Pembuatan Kemasan Antimikroba Berbahan Polimer Alami Kombinasi Minyak Atsiri". Monograf ini disusun sebagai produk dari hasil Hibah Penelitian Dosen Pemula (PDP) tahun Anggaran 2019. Monograf ini dapat digunakan untuk menambah wawasan yang berkaitan dengan pengembangan biopolimer alami sebagai kemasan untuk mengurangi pencemaran lingkungan akibat penumpukan sampah plastik. Di STIKES Rumah Sakit Anwar Medika, mata kuliah yang relevan dengan buku ini ialah bakteriologi, healthpreneur, toksikologi, analisa kimia makanan dan minuman, serta biosensor. Mahasiswa dapat menggunakan buku ini sebagai acuan untuk pembuatan kemasan antimikroba guna pencegahan penyakit akibat kontaminasi mikroba. Akhir kata, saya mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu memberikan informasi dan referensi untuk pengembangan monograf pembelajaran ini. Semoga monograf pembelajaran ini dapat berguna bagi para pembacanya.

Sidoarjo, Januari 2019

Penyusun

RINGKASAN

Kontaminasi mikroorganisme patogen pada komoditas ekspor seperti ikan tuna merupakan salah satu permasalahan yang sering dihadapi oleh eksportir. Salah satu indikator yang digunakan untuk menentukan kesegaran dari produk ikan tuna yang diekspor ialah kadar histamine dan tingginya kadar histamine mengakibatkan komoditas ekspor di tolak oleh negara tujuan. Tingginya kadar histamine disebabkan karena kontaminasi organisme patogen yang bernama *Morganella morganii* yang dapat menghasilkan enzim *histidine decarboxylase*. Enzim tersebut mampu mengubah asam amino histidine pada ikan tuna menjadi histamine. Tingginya kadar histamine pada ikan tuna dapat menyebabkan keracunan histamine atau alergi saat ikan tuna dikonsumsi. Kemasan aktif berbahan dasar biopolimer ramah lingkungan dan aman dikonsumsi (*edible*) merupakan solusi yang bisa digunakan untuk melindungi ikan tuna dari kontaminasi mikroorganisme patogen yang juga berperan sebagai pengawet makanan. *Edible film* untuk kemasan aktif makanan berbahan biopolimer kitosan dan agarosa akan dikombinasikan dengan minyak serai dapur (*Cymbopogon citratus*). Langkah pertama yang dilakukan ialah membuat larutan *dope* kitosan-agarosa. Larutan kitosan 1% b/v dalam 1% asam asetat ditambahkan dengan 0.5% b/v larutan agarose pada suhu 55 °C. Perbandingan larutan kitosan dan agarosa dalam campuran larutan *dope* ialah 50:50. Larutan *dope* diaduk hingga homogen, kemudian ditambahkan minyak serai dapur. Optimasi volume minyak serai dapur terhadap larutan *dope* ialah 1, 2, 3, 4, dan 5 % v/v. Masing-masing komposisi larutan *dope* kitosan-agarosa-minyak serai dapur sebagai kemasan aktif akan dievaluasi berdasarkan hasil karakterisasi ketebalan membran, *water vapour permeability*, *scanning electron microscopy* (SEM), *contact angle*, *fourier*

transform infra-red spectroscopy, thermogravimetric analysis, uji sifat mekanik yang meliputi *tensile strength* dan *elongation break*, serta uji antibakteri *Morganella morganii*. Komposisi membran yang optimum selanjutnya diaplikasikan sebagai kemasan aktif untuk mengawetkan ikan tuna. Kadar histamine pada ikan tuna diamati pada variasi waktu penyimpanan ikan tuna menggunakan membran kitosan-agarosa-minyak serai dapur yaitu 0, 1, 5, 10, 15, dan 20 hari. Histamin akan diekstraksi dari ikan tuna menggunakan metode ekstraksi cair-cair dan dideterminasi menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian yang ditargetkan dari penelitian ini menghasilkan kemasan aktif berbahan membran kitosan, agarosa, dan minyak serai dapur yang memiliki sifat antibakteri dan dapat diaplikasikan sebagai kemasan untuk ikan tuna. Sedangkan luaran yang ditargetkan ialah publikasi nasional terakreditasi.

Kata Kunci: Ikan tuna, kitosan, agarosa, minyak serai dapur, bakteri *Morganella morganii*

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Plastik merupakan bahan utama yang digunakan sebagai kemasan makanan. Kemasan makanan dibutuhkan untuk melindungi makanan dari kontaminasi mikroba dari lingkungan. Sebagian besar plastik kemasan makanan merupakan plastik dari bahan sintetis. Plastik sintetis banyak dipilih karena keungguaannya seperti fleksibel (mengikuti bentuk bahan yang dikemas), transparan, tidak mudah pecah, serta tidak korosif. Banyaknya keuntungan dari plastik sintetis menyebabkan permintaan plastik sintetis terus meningkat. Namun peningkatan penggunaan plastik sintetis memiliki dampak negative hal ini dikarenakan plastik sintetis sulit terdegradasi secara alami sehingga membutuhkan waktu penguraian yang lama. Hal ini menyebabkan penumpukan sampah plastik yang dapat mencemari lingkungan. Dampak negatif lain yang ditimbulkan dari penggunaan plastik sintetis ialah permasalahan kesehatan yang serius. Plastik sintetis tidak tahan panas dan mudah rusak oleh pemanasan sehingga menyebabkan transmisi monomer yang mengontaminasi bahan makanan yang dikemas.

Untuk mengatasi permasalahan tersebut, dalam beberapa tahun terakhir banyak dikembangkan bahan plastik yang *biodegradable* dan aman dikonsumsi (*enable*). Plastik *biodegradable* merupakan plastik yang mudah terurai secara alami sehingga tidak mencemari lingkungan. Beberapa material polimer alami yang banyak dikembangkan sebagai kemasan plastik *biodegradable* diantaranya selulosa, kitosan, pati, protein, dan lignin. Plastik *biodegradabele* juga tidak membahayakan kesehatan karena mayoritas terbuat dari senyawa karbohidrat dan turunannya sehingga aman aman dikonsumsi. Namun plastik dari polimer alami cenderung

rapuh, kurang elastis, serta mudah lembab sehingga dapat menjadi medi pertumbuhan bakteri.

Untuk meningkatkan kemampuan plastik guna melindungi makanan dari kontaminasi mikroba, beberapa penelitian menambahkan minyak atsiri dalam campuran biopolimer plastik kemasan sehingga mampu memperpanjang waktu simpan makanan. Hal ini karena minyak atsiri memiliki sifat antimikroba dan telah banyak digunakan sebagai bahan pengawet makanan alami.

1.2 Tujuan

Monograf ini bertujuan untuk digunakan sebagai acuan dan referensi untuk dalam pengembangan plastik *biodegradable* yang memiliki sifat antimikroba melalui prosedur pembuatan kemasan makanan dari plastik *biodegradable* kombinasi minyak atsiri.

1.3 Manfaat

Monograf ini menjadi informasi dasar dalam pengembangan plastik *biodegradable* yang memiliki sifat antimikroba melalui prosedur pembuatan kemasan makanan dari plastik *biodegradable* kombinasi minyak atsiri.

BAB 2

POLIMER ALAMI

2.1 Agarosa

Agarosa merupakan salah satu produk hasil laut yang dihasilkan dari alga. Alga merupakan salah satu makhluk hidup yang tumbuh dan berkembang di laut (Evan, 2006). Makroalga jenis ini biasanya dimanfaatkan untuk pembuatan agar, karaginan, dan agarosa. Agarosa atau galaktosa merupakan polimer golongan senyawa polisakarida yang diisolasi dari makroalga. Agarosa adalah suatu campuran molekul-molekul agar dengan muatan yang paling rendah, sehingga memiliki kemampuan membentuk gel yang kuat yang difraksionisasi dari seluruh kompleks molekul agar dan dibedakan dengan adanya muatan ion yang menutupinya (Adrin, 2017).

Agarosa telah banyak diisolasi dari makroalga seperti *Gracilaria fisheri*, *Gracilaria edulis*, *Gracilaria* sp. (Praiboon, 2006), *Gracilaria curtissiae*, *Gracilaria cylindrical* (Hadiyanto, 1999), *Gracilaria changii* (Chan, 2004), dan *Atteromonas agarzyticus* (Potin, 1993). Sifat agarosa yang tidak bermuatan, sehingga membuat agarosa banyak diaplikasikan dalam bidang bioteknologi, baik sebagai media kultur ataupun media elektroforesis. Dalam elektroforesis, agarosa digunakan untuk mendeteksi kompleks-kompleks antigen-antibodi, dan untuk analisis molekul DNA, RNA dan molekul protein.

Isolasi agarosa telah dimulai oleh peneliti sebelumnya (Asra. R, 2015). Dengan menggunakan teknik isolasi yang sama, produk agarosa yang dihasilkan digunakan untuk aplikasi yang berbeda. Di Indonesia penelitian tentang pembuatan agarosa masih terbatas dan belum diperoleh metode yang cocok untuk menghasilkan agarosa yang memenuhi persyaratan standar mutu. Selama ini produk agarosa tersebut masih diimpor dengan harga yang relatif

mahal. Oleh karena itu merupakan tantangan bagi Indonesia untuk dapat menghasilkan teknologi pengembangan produk jadi dari rumput laut yang memberikan nilai tambah lebih baik.

Agarosa dapat digunakan untuk berbagai keperluan, antara lain:

- a. Untuk proses elektroforesis: karena kandungan sulfatnya yang sangat rendah.
- b. Untuk imunologi: karena sifat relatif netral dengan kemurnian yang tinggi dan porositasnya besar untuk menyerap molekul antibodi sehingga agarosa merupakan medium yang baik dalam reaksi-reaksi imunologi.
- c. Untuk medium kultur: karena mempunyai kemurnian yang lebih tinggi dibandingkan dengan agar-agar.
- d. Untuk kromatografi: untuk memisahkan antigen, antibody, enzim, koenzim, atau substrat lain secara fisika dan kimia oleh partikel agarosa.
- e. Untuk mengimobilisasi insulin yang diproduksi oleh kelenjar pancreas untuk kemudian ditransplantasikan (Adrin, 2017).

2.2 KITOSAN

Kitosan merupakan biopolimer hasil derivatisasi dari kitin. Kitin merupakan polimer yang dihasilkan moluska bercangkang (*shellfish*), seperti kulit udang, rajungan, kerang, dan ketam. Limbah padat dari kulit kepiting, rajungan, kerang dan udang (*Crustacea*) yang mengandung senyawa kitin sekitar 10-30% (Anon, 2001). Hal ini yang menyebabkan kitin sebagai bahan polimer yang kelimpahannya terbesar kedua di alam setelah selulosa. Kitin dan kitosan umumnya diekstrak dari kulit udang, dengan cara penghilangan protein dan mineral menggunakan asam atau basa kuat dengan bantuan pemanasan. Kitosan banyak digunakan dalam berbagai keperluan seperti pengawet

makanan, antimikroba, penyerap logam dan penjernihan air (Anon,2008).

Kitosan memiliki sifat antimikroba, karena dapat menghambat bakteri patogen dan mikroorganisme pembusuk, termasuk jamur, bakteri gram-positif, dan bakteri gram negatif (Hafdani, 2011). Kitosan juga dapat digunakan sebagai pelapis (film) pada berbagai bahan pangan, tujuannya adalah menghalangi oksigen masuk dengan baik, sehingga dapat digunakan sebagai kemasan berbagai bahan pangan dan juga dapat dimakan langsung, karena kitosan tidak berbahaya terhadap kesehatan (Henriette, 2010).

Perdana (2006) menyatakan bahwa suspensi kitosan 2% memberikan pengaruh terbaik terhadap masa simpan filet nila merah pada suhu rendah dengan batas penerimaan pada hari ke-13. Penelitian ini perlakuan perendaman kitosan 2% dan 3% mencapai masa simpan yang paling lama yaitu 11 hari. Penelitian Sarjono *et al.* (2008) penambahan konsentrasi kitosan diatas 1% terhadap *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* tidak memberikan pengaruh yang signifikan. Jadi bila konsentrasi ditingkatkan setelah melampaui suatu konsentrasi tertentu maka peningkatan daya disinfeksi akan berkurang, sehingga peningkatan konsentrasi tidak diperlukan. Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian Nurainy (2008) yang menyatakan semua aktivitas anti bakteri kitosan terhadap *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* semakin menurun seiring peningkatan konsentrasi kitosan di atas 0,2%.

Kitosan memberikan efek penghambatan yang lebih tinggi pada *Escherichia coli* (bakteri gram negatif) dibandingkan pada *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* (bakteri gram positif). Hasil ini didukung oleh penelitian Nurainy (2008) dan Chung *et al.* (2004). Perbedaan struktur dinding sel pada bakteri gram negatif dan gram positif menyebabkan perbedaan respon bakteri terhadap kitosan. Penghambatan yang lebih besar pada bakteri gram

negatif disebabkan oleh dinding sel bakteri gram negatif yang lebih tipis yang terdiri dari peptidoglikan 10% dan kandungan lipid tinggi (11-22%). Sedangkan bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal yang terdiri dari peptidoglikan lebih dari 50% dan kandungan lipid rendah (1-4%). Selain itu fungsi utama dinding sel adalah memberikan struktural yang kuat dan kaku untuk mempertahankan keutuhan sel sehingga dinding sel bakteri yang lebih tebal sulit untuk dirusak (Damayanti,dkk., 2016).

BAB 3 MINYAK ATSIRI

3.1 Minyak Serai Dapur

Cymbopogon citrates (DC.) Stapf, umumnya dikenal sebagai serai, ramuan yang banyak dibudidayakan di daerah tropis dan sub-tropis. Penggunaan serai ditemukan dalam obat tradisional untuk batuk, konsumsi, elephantiasis, malaria, ophthalmia, pneumonia dan gangguan vaskular. Para peneliti telah menemukan bahwa serai mengandung antidepresan, antioksidan, antiseptik, astringen, sifat bakterisida, fungisida, saraf dan obat penenang (13). Minyak serai dapur atau *lemongrass oil* dilaporkan efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella enterica*, serotype *typhimurium*, *Serratia marcesens*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*, *Corynebacterium equii* dan *Staphylococcus aureus* (14).



Gambar 1. Serai Dapur dan Minyak Atsiri Lemongrass (dok. pribadi)

Cymbopogon cytratus atau serai dapur (**Gambar 1.**) digunakan sebagai bahan mentah, bahan untuk produksi ionone, vitamin A, dan b-karoten. Minyak serai dapur mengandung senyawa citral, geraniol, geranyl asetat,

limonene, dan myrcene. Minyak atsiri serai dapur dapat diisolasi dengan metode distilasi uap. Minyak serai dapur digunakan secara luas dalam bidang industri kimia dan farmasi, sebagai bahan baku dalam pembuatan kosmetik, parfum, deodoran, aerosol, pewangi sabun, pembersih lantai dan detergen, sumber vitamin A, obat-obatan, *antiseptik* baik *antiseptic* internal maupun secara eksternal, untuk bahan *analgesic*, *haemolitic* atau sebagai *antizymatic* serta sebagai *sedavita* dan *stimulans* untuk obat sakit perut (15).

3.2 Minyak Daun Jeruk Purut

Daun jeruk purut termasuk dalam suku Rutaceae yang berpotensi sebagai penghasil minyak atsiri. Daun daun jeruk purut mengandung sabinena dan limonene yang berguna untuk kosmetik, aromaterapi pencuci rambut, obat sakit kepala, nyeri lambung, dan biopestisida. Daunnya juga sering digunakan sebagai rempah yang berfungsi untuk memberi aroma yang khas pada masakan (Munawaroh dan Prima, 2010). Daun daun jeruk purut mengandung alcohol polifenol, α -tokoferol, minyak atsiri, tannin, steroid triterpenoid, sitronellal, flavonoid sianidin, myricetin, peonidin, quercetin, luteoin, hesperitin, apigenin dan isorhamnetin. Senyawa kimia yang dominan ada pada bagian-bagian tanaman jeruk adalah flavonoid dan minyak atsiri (Rahmi, dkk., 2013)

Berikut ini klasifikasi dari daun jeruk purut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Rosidae
Ordo : Sapindales
Famili : Rutaceae
Genus : Citrus
Spesies : *Citrus hystrix*
(Sumber : Joko, 2010).

Tabel 2.1 Komponen minyak atsiri daun jeruk purut

| Kandungan kadar (%) | |
|---------------------|--------|
| Sitronelal | 81,49% |
| Sitronelol | 8,22 % |
| Linalool | 3,69 % |
| Geraniol | 0,31 % |
| Komponen lain | 6,29 % |

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Yuliani *et al.* (2011) menyatakan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Rahmi *et al.* (2013) yang melakukan perbandingan antara hasil uji fitokimia jeruk bali (*Citrus maxima*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) menyatakan bahwa daun jeruk purut memiliki kandungan flavanoid dan steroid lebih banyak dari pada jeruk bali. Hal ini yang menyebabkan daun jeruk purut memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi sehingga banyak dimanfaatkan dalam kebutuhan sehari-hari, baik dalam bidang medis, industri, maupun rumah tangga. Berdasarkan hasil uji fitokimia diketahui bahwa daun jeruk purut sangat banyak mengandung senyawa metabolik sekunder yang dapat bertindak aktif dalam aktivitas antioksidan dan antibakteri terutama senyawa golongan flavonoid.

BAB 4

KEMASAN ANTIMIKROBA

Kemasan antimikroba disebut juga dengan kemasan aktif. Kemasan aktif adalah sistem teknologi kemasan inovatif yang memungkinkan produk dan lingkungannya berinteraksi untuk memperpanjang umur simpan produk dan/atau untuk memastikan keamanan makanan guna menjaga kualitas makanan yang dikemas (Ahvenainen, 2003). Kemasan aktif adalah jenis kemasan makanan dengan fungsi tambahan selain memberikan perlindungan terhadap pengaruh eksternal. Kemasan aktif mampu menyerap bahan kimia dari makanan atau lingkungan di dalam kemasan yang mengelilingi makanan, serta mampu melepaskan zat ke dalam makanan atau lingkungan sekitar makanan seperti pengawet, antioksidan, dan perasa. Sistem pengemasan aktif yang paling penting diterapkan pada produk daging dengan sifat kemasan sebagai antimikroba, antioksidan, dan karbon dioksida memancarkan / menghasilkan kemasan (EU, 2009). Kemasan aktif yang bersifat *edible film* telah diusulkan sebagai alternatif kemasan makanan untuk meningkatkan kualitas dan keamanan produk makanan. Teknologi ini berfungsi untuk melindungi makanan dari dehidrasi dan bertindak sebagai penghalang gas dengan media di sekitarnya. Selain itu, film yang dapat dimakan dapat berfungsi sebagai pembawa senyawa aktif seperti antimikroba, antioksidan dan penambah tekstur (EU, 2009).

Kemasan antimikroba adalah salah satu konsep yang paling penting dalam kemasan aktif daging. Hal ini karena daging mengandung nutrisi yang sangat baik untuk pertumbuhan mikroorganisme. Perhatian yang cermat terhadap kesegaran daging diperlukan untuk meminimalkan proliferasi bakteri sehingga menjaga produk pangan tetap aman dan sehat saat dikonsumsi konsumen. Mikroorganisme pembusuk termasuk bakteri, ragi dan kapang, sertamikroorganisme patogen, khususnya *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium*

perfringens, *Clostridium botulinum*, dan *Escherichia coli* menjadi perhatian utama sebab dapat menyebabkan kemerosotan kualitas dan masalah keamanan pangan. Tujuan penggunaan kemasan aktif antimikroba pada produk pangan ialah untuk memperpanjang umur simpan dan memastikan keamanan produk pangan (Jayasena dan Jo, 2013). Berikut ini merupakan pengaplikasian kemasan aktif yang pernah ada:

Tabel 2.2 Pengaplikasian kemasan aktif pada makanan

| No. | Bahan | Hasil | Refrensi |
|------------|--|---|-----------------------------------|
| 1. | TH-EO (Nanoemulsi mengandung thyme) | Antimikroba terkuat terhadap <i>Escherichia coli</i> yang diinokulasi, mencapai pengurangan 4,71 log setelah 12 jam. | Acevedo Fani <i>et al.</i> , 2015 |
| 2. | Allyl isothiocyanate | Lembar, label, dan film anti bakteri dan anti jamur | Fang <i>et al.</i> , 2017 |
| 3. | Sensor Phage C4-22 diimmobilisasi ke biosensor magnetoelastik cepat (ME) | Mendeteksi <i>Salmonella</i> secara aktif sebesar 23,27% 33% dari sel <i>Salmonella</i> yang diinokulasi | Chen <i>et al.</i> , 2016 |
| 4. | Asam askorbat | Perpanjangan masa simpan keseluruhan: Mikroba terbelakang tumbuh dari 2 hingga 5 hari, sensoris yang berkepanjangan penerimaan dari 2 hingga 5–6 hari | Yuridim <i>et al.</i> , 2017 |
| 5. | Pewarna foto sensitif | Peningkatan viabilitas bakteri probiotik olehmenghapus sekitar 90% dari inisial O2 terlarut setelah hari pertama | Yuridim <i>et al.</i> , 2017 |

Christania (2008), menyatakan bahwa *Edible packaging* pada bahan pangan terbagi menjadi tiga jenis, yaitu : *edible film*, *edible coating*, dan *encapsulasi*. Perbedaan *edible film* dengan *edible coating* adalah pengaplikasiannya

pada bahan pangan. Pada edible coating pengaplikasiannya langsung dibentuk pada produk, sedangkan *edible film* pengaplikasiannya secara tidak langsung yakni akan dibuat lapisan atau dikemas. Sedangkan *encapsulasi* adalah *Edible packaging* pembawa zat flavour yang berbentuk serbuk

Edible film merupakan lapisan tipis yang dapat dikonsumsi dan digunakan sebagai pelapis dan penghalang antara makanan dengan lingkungan (Skurtys,dkk., 2009). Fungsi dari penambahan penggunaan *edible film* pada makanan adalah penghambat dari pertukaran gas, menghambat perpindahan uap air, mencegah kehilangan aroma pada produk pangan, meningkatkan karakter fisik, dan sebagai pembawa zat aditif (Hui, 2006).

Karakteristik *edible film* dapat dilihat dari sifat fisik yang dimilikinya yang menentukan dari mutu *edible film*, antara lain sifat optik, mekanik, laju transmisi uap air, serta memiliki sifat penghalang terhadap gas, uap air, dan aroma. *Edible film* memiliki sifat optik yang baik apabila memiliki warna yang transparan sehingga produk yang dilapisi dapat terlihat. Karakteristik mekanik dari *edible film* yaitu kuat tarik (tensile strength) 6-150 kgf/cm², kuat tusukan (puncture strength), persen pemanjangan (% elongation) lebih dari 50% serta elastisitas(elastic modulus/young modulus) (Skurtys *et al.*, 2009).

Kelebihan dari pemakaian *edible film* pada pengemasan produk makanan yaitu sebagai pelindung makanan dari kontaminasi dari mikroorganisme, mengurangi transfer gas dan aroma dari produk makanan ke lingkungan sekitar, mencegah hilangnya kualitas makanan. Selain itu *edible film* memiliki kelebihan lain yaitu kemasan produk dapat dimakan dan terbiodegradasi atau terurai di alam dengan mudah sehingga dapat mengurangi pencemaran lingkungan (Nurhayati dan Agusman, 2011).

Kemasan aktif merupakan kemasan yang berperan untuk melindungi dan mengawetkan produk makanan. Kemasan aktif berbahan ramah lingkungan dan aman dikonsumsi menjadi *trend* dalam beberapa tahun terakhir. Komposit film

berbahan kitosan-agarosa telah dikembangkan dan diuji antimikroba (11). Berdasarkan penelitian ini diketahui bahwa komposit film bebrbahan kitosan memiliki aktivitas antibakteri *S. aureus* dan *E. coli* paling besar, namun sifat mekanik dan karakteristik kurang bagus. Kombinasi agrosa 1,5% b/v dengan kitosan 1,5% bv 60:40 mampu meningkatkan sifat mekanik dan karakteristik dari komposit film, namun aktivitas antibakteri sedikit menurun. Penggunaan film komposit berbahan kitosan-agarosa juga dikembangkan oleh (12). hasil karakteristik dan uji mekanik terbaik ditunjukkan oleh perbandingan agarose 0,8% b/v dengan kitosan 1,6%b/v dengan perbandingan 50:50.

BAB 5

PROSEDUR PEMBUATAN KEMASAN ANTIMIKROBA KOMBINASI MINYAK ATSIRI

5.1 Pembuatan Emulsi Minyak Atsiri

Emulsi minyak atsiri dibuat menggunakan surfaktan Tween 80. Emulsi yang dibuat dalam bentuk *oil in water* dengan tujuan agar minyak atsiri tidak mudah menguap. Salah satu contoh pembuatan emulsi minyak serai dapur ialah dilakukan dengan prosedur sebagai berikut. Sebanyak 3,3 mL Tween 80 dilarutkan dalam 600 μL minyak daun jeruk purut, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Selanjutnya 6,6 mL aquades dimasukkan dalam tetes demi tetes dalam minyak serai dapur dan Tween 80 yang telah homogen hingga terbentuk larutan berawan (*cloudy solution*) yang menunjukkan mulai terbentuknya emulsi. Pengadukan dilanjutkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Untuk menyempurnakan pembentukan emulsi, emulsi yang telah diaduk kemudian diultrasonikasi selama 30 menit hingga terbentuk emulsi yang stabil yang bening. Semua proses pembentukan emulsi dilakukan pada suhu ruang. Untuk menjaga stabilitas emulsi, emulsi disimpan dalam lemari pendingin (4 °C).

5.2 Pembuatan Plastik dari Bahan Agarosa-Kitosan-Emulsi Minyak Serai Dapur

Plastik agarosa-kitosan-emulsi minyak serai dapur (Agr-Chi-EO) dibuat dari larutan biopolimer agarosa dengan konsentrasi 0,5 %b/v dan larutan kitosan dengan konsentrasi 1 %b/v. Larutan agarosa dibuat menggunakan pelarut air dengan pengadukan pada suhu 100 °C, sedangkan larutan kitosan dibuat dengan menggunakan pelarut asam asetat dengan pengadukan pada suhu 60 °C. Konsentrasi agarosa dan yang lebih tinggi membuat viskositas larutan biopolimer

menjadi lebih tinggi sehingga pada saat proses pencetakan cepat beragregasi dan permukaan plastik menjadi tidak homogen. Untuk membuat plastik menjadi lebih lentur, maka ditambahkan 1% gliserol sebagai plastisizer. Suhu selama pengadukan larutan biopolimer serta pengeringan plastik memegang peranan penting karena dapat menyebabkan sublimasi dan pemisahan fasa sehingga plastik yang terbentuk akan teraglomerasi dan membuat plastik menjadi berpori [1]. Untuk meminimalisir hal tersebut maka, suhu harus dijaga serta dilakukan penambahan emulsi minyak serai dapur untuk meminimalisir ukuran pori yang terbentuk serta meningkatkan efektivitasnya terhadap mikroorganisme.

Emulsi minyak serai dapur (EO) yang ditambahkan dalam larutan biopolimer dibuat dengan cara mencampurkan ekstrak minyak serai dapur dengan pelarut dimetil sulfoksida (DMSO) dengan konsentrasi minyak 6 %v/v. setelah itu, minyak dicampur dengan surfaktan Tween 80 sebanyak dengan perbandingan 1:1. Campuran minyak dan Tween 80 yang telah homogen kemudian dimasukkan dalam aquades yang memiliki volume dua kali lebih besar dari campuran minyak dan surfaktan. Emulsi yang terbentuk, kemudian dimasukkan dalam larutan biopolimer Agr-Chi dengan volume yang berbeda-beda sehingga emulsi minyak yang terimobilisasi dalam larutan biopolimer memiliki konsentrasi yang berbeda-beda. Konsentrasi-konsentrasi EO dalam larutan biopolimer tersebut diantaranya 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 %v/v. Setelah minyak homogen dengan larutan biopolimer, maka larutan biopolimer dicetak di atas akrilik berukuran 15x20 cm dengan metode casting. Plastik akan terbentuk setelah dipanaskan selama 12 jam di oven. Plastik yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 1. Pada Gambar 1. Terlihat bahwa plastik yang terbentuk transparan, mengkilap dan elastis. Penambahan konsentrasi EO menyebabkan plastik yang terbentuk berwarna lebih kuning dari plastik tanpa penambahan EO.



Gambar 1. Plastik Agr-Chi-EO

5.3 Uji Antibakteri

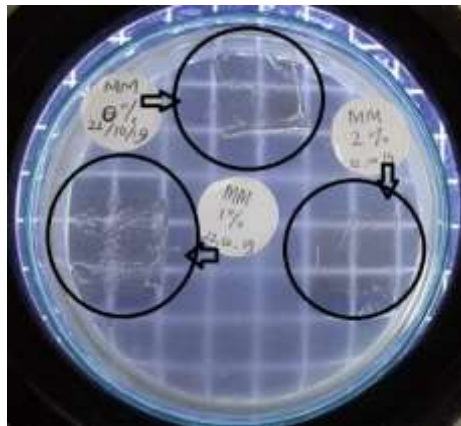
Uji anti bakteri dilakukan sesuai dengan prosedur pada penelitian sebelumnya [12]. *Margonella morganii* digunakan sebagai uji antibakteri pada membran komposit. Membran dipotong dengan ukuran diameter 10 cm dan disterilisasi menggunakan lampu UV selama 30 menit. Suspensi bakteri (0,2 ml, 10^7 cfu/mL) di inokulasi pada media nutrient agar (NA), dan di keringkan pada suhu kamar selama 10 menit. Kemudian film yang telah disterilisasi diletakkan di atas permukaan mediaum dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Banyaknya area yang tidak terkontaminasi dihitung menggunakan persamaan berikut:

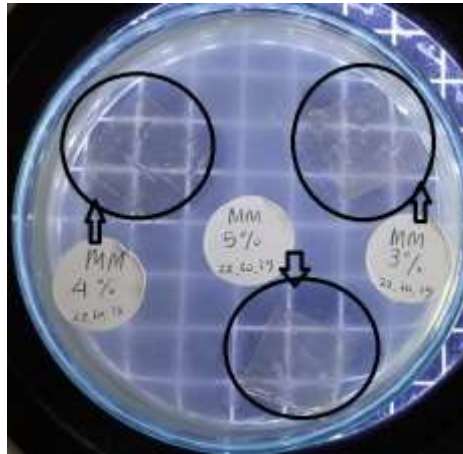
$$A = \frac{\pi x(D^2 - d^2)}{4}$$

Dimana A merupakan luas area yang tidak terkontaminasi dalam mm^2 , D merupakan diameter area yang tidak terkontaminasi dalam mm, dan d adalah diameter membran dalam mm.

5.4 Uji Antibakteri Margonella morganii

Uji antibakteri Margonella morganii dilakukan dengan metode pour plate. Bakteri Margonella morganii dengan konsentrasi 10^6 cell/mL diinokulasi dalam media Muller Hinton Agar (MHA). Plastik Agr-Chi-EO dengan berbagai varians penambahan EO (0, 1, 2, 3, 4, dan 5 %v/v) diuji kemampuannya untuk menghambat bakteri Margonella morganii melalui pembentukan zona bening. Uji ini dilakukan dengan meletakkan plastik Agr-Chi-EO berukuran 20x20 mm diatas biakan bakteri Margonella morganii pada media MHA dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam, pembentukan zona bening diamati dan diukur diameternya. Zona bening yang terbentuk menunjukkan kemampuan plastik Agr-Chi-EO untuk menghambat bakteri Margonella morganii. Hasil uji antibakteri dapat ditunjukkan pada Gambar 2. dan Tabel 1.





Gambar 2. Hasil uji antibakteri *Margonella morganii* dengan konsentrasi EO 0, 1, 2, 3, 4, dan 5 %v/v dalam plastik Agr-Chi-EO

Tabel 1. Luas area daya hambat plastik Agr-Chi-EO terhadap bakteri *Margonella morganii*

| Konsentrasi EO dalam Agr-Chi (%v/v) | Luas area daya hambat (cm ²) |
|--|---|
| Agr:Chi | 9,00 ± 0,05 |
| Agr:Chi:EO 1 | 16,00 ± 0,05 |
| Agr:Chi:EO 2 | 12,25 ± 0,05 |
| Agr:Chi:EO 3 | 12,25 ± 0,05 |
| Agr:Chi:EO 4 | 14,00 ± 0,05 |
| Agr:Chi:EO 5 | 11,84 ± 0,05 |

Berdasarkan data penelitian pada Gambar 2 dan Tabel 1., terlihat bahwa luas area daya hambat yang paling optimum ialah pada saat penambahan EO dalam Chi-Agr sebesar 1 %v/v dengan luas area 16 cm². penambahan EO terbukti mampu meningkatkan kemampuan plastik Agr-Chi dalam menghambat bakteri *Margonella morganii* sebesar 78 %. Berdasarkan penelitian sebelumnya, minyak serai dapur diketahui memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae* masing-masing dengan konsentrasi minyak serai dapur sebesar 1; 0,8; dan 0,6 %v/v [2]. Kemampuan minyak serai dapur untuk menghambat bakteri disebabkan oleh kandungan dari minyak serai dapur yakni diantaranya ialah terpen, α -citral, β -citral, dan senyawa fenolik [3]. Selain itu, campuran biopolimer Agr-Chi juga diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* karena kemampuan kitosan sebagai antibakteri [1]. Senyawa-senyawa tersebut mampu menghambat mikroba dengan merusak struktur peptidoglikan pada dinding sel dan mendenaturasi protein, sehingga terjadi deaktivasi enzim. Hal ini dikarenakan proses penghambatan pertumbuhan mikroorganisme secara umum disebabkan oleh beberapa hal diantaranya ialah adanya senyawa pengganggu pada dinding

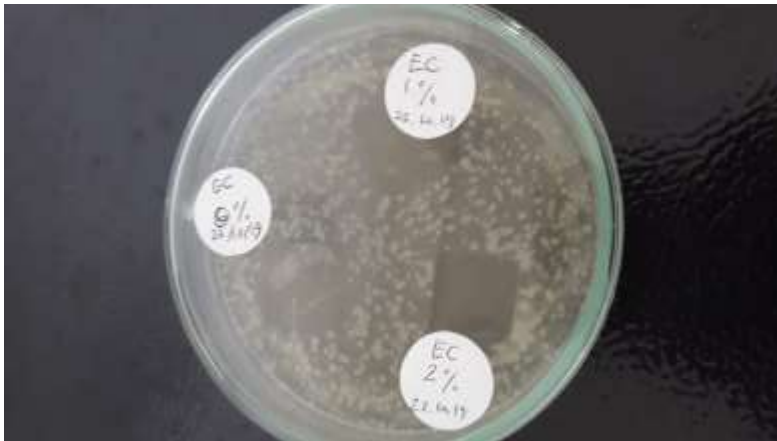
sel, sehingga menyebabkan permeabilitas membran sel meningkat yang mengakibatkan hilangnya komponen sel, tidak aktifnya enzim dalam sel, serta proses destruksi atau kerusakan material genetik [2].

Disisi lain, peningkatan konsentrasi EO dalam plastik Agr-Chi menunjukkan penurunan diameter zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa *Margonella morganii* sangat sensitif karena pada konsentrasi EO kecil sudah terhambat pertumbuhannya. Sesuai dengan penelitian sebelumnya, diketahui bahwa *Margonella morganii* yang merupakan bakteri gram negatif dan dapat memiliki sensitifitas yang lebih besar daripada bakteri gram positif terhadap pengaruh minyak serai dapur [3,4] Selain itu, penurunan daya hambat yang disebabkan karena peningkatan konsentrasi EO dikarenakan terbatasnya kemampuan plastik Agr-Chi dalam mengimobilisasi EO dengan volume yang lebih besar sehingga mengakibatkan EO menguap selama proses pemanasan dan meninggalkan pelarut pada permukaan plastik Agr-Chi sehingga permukaan plastik menjadi lengket dan lepek (mudah melipat). Komposisi plastik Agr-Chi-EO1% kemudian dipilih menjadi komposisi yang paling optimum, dan kemudian diuji sifat mekanik dan karakterisasinya.

5.5 Uji Antibakteri *Eschericia coli*

Uji antibakteri *E. coli* dilakukan dengan metode pour plate. Bakteri *E. coli* dengan konsentrasi 10^6 cell/mL diinokulasi dalam media Muller Hinton Agar (MHA). Plastik Agr-Chi-EO dengan berbagai varians penambahan EO (0, 1, 2, 3, 4, dan 5 %v/v) diuji kemampuannya untuk menghambat bakteri *E. coli* melalui pembentukan zona bening. Uji ini dilakukan dengan meletakkan plastik Agr-Chi-EO berukuran 20x20 mm diatas biakan bakteri *E. coli* pada media MHA dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam, pembentukan zona bening diamati dan diukur diameternya. Zona bening yang terbentuk menunjukkan kemampuan plastik Agr-Chi-EO untuk

menghambat bakteri *E. coli*. Hasil Uji *E. coli* ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil uji antibakteri *E. coli* dengan variasi konsentrasi minyak atsiri dalam plastik Agr-Chi-EO

Berdasarkan data penelitian pada Gambar 3 dan Tabel 1., terlihat bahwa luas area daya hambat yang paling optimum ialah pada saat penambahan EO dalam Chi-Agr sebesar 5 %v/v dengan luas area 18 cm². penambahan EO terbukti mampu meningkatkan kemampuan plastik Agr-Chi dalam menghambat bakteri *Margonella morganii* sebesar 78 %. Berdasarkan penelitian sebelumnya, minyak serai dapur diketahui memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae* masing-masing dengan konsentrasi minyak serai dapur sebesar 1; 0,8; dan 0,6 %v/v [2]. Kemampuan minyak serai dapur untuk menghambat bakteri disebabkan oleh kandungan dari minyak serai dapur yakni diantaranya ialah terpen, α -citral, β -citral, dan senyawa fenolik [3]. Selain itu, campuran biopolimer Agr-Chi juga diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus*

aureus karena kemampuan kitosan sebagai antibakteri [1]. Senyawa-senyawa tersebut mampu menghambat mikroba dengan merusak struktur peptidoglikan pada dinding sel dan mendenaturasi protein, sehingga terjadi deaktivasi enzim. Hal ini dikarenakan proses penghambatan pertumbuhan mikroorganisme secara umum disebabkan oleh beberapa hal diantaranya ialah adanya senyawa pengganggu pada dinding sel, sehingga menyebabkan permeabilitas membran sel meningkat yang mengakibatkan hilangnya komponen sel, tidak aktifnya enzim dalam sel, serta proses destruksi atau kerusakan material genetik [2].

Disisi lain, peningkatan konsentrasi EO dalam plastik Agr-Chi menunjukkan penurunan diameter zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa *Margonella morganii* sangat sensitif karena pada konsentrasi EO kecil sudah terhambat pertumbuhannya. Sesuai dengan penelitian sebelumnya, diketahui bahwa *Margonella morganii* yang merupakan bakteri gram negatif dan dapat memiliki sensitifitas yang lebih besar daripada bakteri gram positif terhadap pengaruh minyak serai dapur [3,4] Selain itu, penurunan daya hambat yang disebabkan karena peningkatan konsentrasi EO dikarenakan terbatasnya kemampuan plastik Agr-Chi dalam mengimobilisasi EO dengan volume yang lebih besar sehingga mengakibatkan EO menguap selama proses pemanasan dan meninggalkan pelarut pada permukaan plastik Agr-Chi sehingga permukaan plastik menjadi lengket dan lepek (mudah melipat). Komposisi plastik Agr-Chi-EO1% kemudian dipilih menjadi komposisi yang paling optimum, dan kemudian diuji sifat mekanik dan karakterisasinya.

BAB 6

UJI MEKANIK DAN KARAKTERISASI KEMASAN ANTIMIKROBA KOMBINASI MINYAK ATSIRI

Untuk mengetahui sifat fisik dan mekanik dari plastik Agr-Chi-EO, maka beberapa karakterisasi dilakukan diantaranya ialah uji ketebalan plastik, uji tensile strength (TS), uji elongation break (EB), uji water vapor permeability (WVP), karakterisasi scanning electron microscopy (SEM), pengukuran sudut kontak, thermogravimetric analysis (TGA), dan Fourier transform infra-red spectroscopy (FTIR).

3.1 Uji Mekanik Plastik

Uji ketebalan plastik diukur menggunakan mikrometer skrup dengan skala minimum 0,01 mm. Karena ketebalan plastik yang sangat kecil, maka untuk memudahkan pengukuran, plastik ditumpuk sebanyak delapan lembar dan dilakukan pengukuran pada lima titik yang berbeda. Hasil pengukuran ketebalan kemudian di bagi delapan dan di rata-rata. Hasil pengukuran ketebalan plastik ditunjukkan pada Tabel 2. Berdasarkan data pada tabel 2 diketahui bahwa ketebalan plastik dari campuran biopolimer Agr-Chi dan EO1% adalah $0,0225 \text{ mm} \pm 0,005 \text{ mm}$. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan dibandingkan dengan ketebalan plastik yang terbuat dari biopolimer secara terpisah. Peningkatan ketebalan ini disebabkan karena adanya penambahan massa biopolimer kitosan sehingga berikatan dengan agarosa yang menyebabkan ketebalan plastik menjadi meningkat. Penambahan EO tidak menunjukkan perubahan ketebalan yang signifikan, hal ini karena EO terimobilisasi dalam pori-pori polimer sehingga untuk mendapatkan EO diperlukan pori-pori polimer yang kosong [5]. Hasil pengukuran nilai ketebalan mempengaruhi nilai TS, EB, dan WVP uji sifat

mekanik plastik yang lain ialah TS, EB, dan WVP. Hasil pengukuran uji TS, EB, dan WVP ditunjukkan pada Tabel 2.

Berdasarkan data yang diperoleh pada Tabel 2. Penambahan komposisi kitosan pada agarosa membuat nilai TS semakin meningkat dari 32,34 MPa menjadi 53,14 Npa. Hal ini disebabkan oleh terbentuknya ikatan hidrogen intermolekuler antara gugus NH_2 - pada kitosan dan gugus OH - pada agarosa sehingga mampu meningkatkan nilai TS [5]. Namun penambahan EO menyebabkan sedikit penurunan nilai TS (51,28) hal ini disebabkan karena penambahan EO berkurangnya interaksi ikatan hidrogen intermolekul antara agarosa dan kitosan. Nilai EB juga meningkat seiring dengan penambahan jumlah komponen penyusun plastik. Hal ini karena penambahan EO menyebabkan plastik menjadi lebih fleksibel. Namun peningkatan fleksibilitas yang terjadi tidak signifikan. Sehingga komposisi Agr-Chi-EO1% memiliki sifat mekanik yang lebih besar dari campuran Agr-Chi.

Tabel 2. Luas area daya hambat plastik Agr-Chi-EO terhadap bakteri *E. coli*

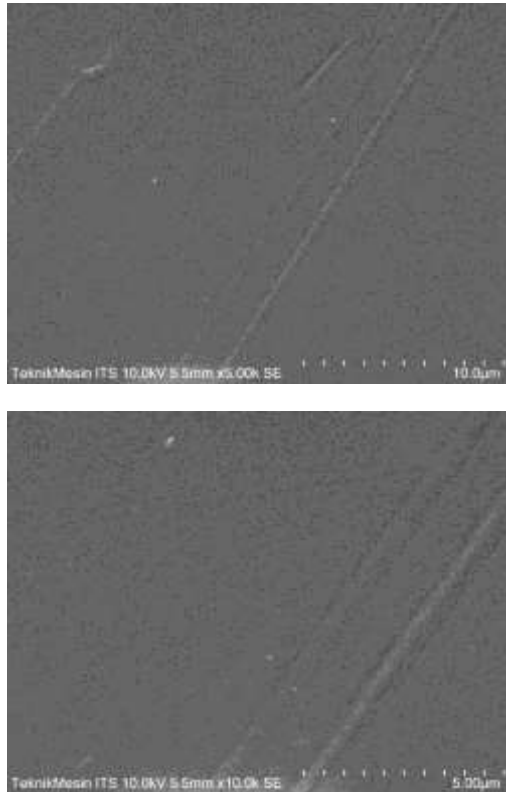
| Komposisi Plastik | Ketebalan (mm) | TS (MPa) | EB (%) | WVP (g/cm ² .hari) |
|-------------------|----------------|------------|------------|-------------------------------|
| Agr | 0,0125 ± 0,005 | 25,46±0,25 | 20,05±1,11 | 0,0179±0,12 |
| Agr:Chi | 0,0225 ± 0,005 | 32,34±0,12 | 23,12±1.34 | 0,0120±0,19 |
| Agr:Chi:EO | 0,0225 ± 0,005 | 53,14±0,10 | 24,56±0,62 | 0,0097±0,22 |
| Chi | 0,0138 ± 0,005 | 26,32+0,22 | 23,96±0,92 | 0,0137±0,18 |

Pengukuran WVP dilakukan menggunakan metode gravimetri menggunakan bahan desikan yang mudah menyerap air yakni amonium sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Pada

penelitian ini bahan desikan dimasukkan dalam kurs porselin, kemudian bagian atas kurs porselin ditutup dengan menggunakan plastik lalu bagian tepi plastik di rekatkan dengan plastik wrap. Pengujian dilakukan selama tiga hari dan setiap hari berat kurs ditimbang untuk mengetahui perubahan massa kurs. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai WVP plastik Agr-Chi-EO paling kecil WVP agarosa, kitosan, dan Agr-Chi. Hal ini disebabkan oleh pori-pori plastik Agr-Chi-EO lebih rapat karena adanya emulsi yang terimobilisasi di dalamnya, sehingga kemampuan desikan dalam menyerap air menjadi lebih rendah. Hal ini juga ditunjukkan pada hasil SEM yang memperlihatkan morfologi permukaan plastik Agr-Chi-EO pori-porinya rapat sehingga tampilannya halus. Selain itu, nilai WVP juga dipengaruhi oleh meningkatnya sifat hidrofobik dari plastik akibat penambahan EO [6]. Adanya gugus NH_2 - pada kitosan dan gugus OH - pada agarosa membuat membran kitosan, agarosa, dan campuran keduanya menjadi lebih hidrofilik, sehingga mudah menyerap air. Nilai WVP yang semakin kecil menunjukkan bahwa plastik tidak mudah dimasuki oleh air sehingga bahan di dalam plastik tetap terjaga kelembapannya.

3.2 Karakterisasi Plastik

Morfologi permukaan plastik Agr-Chi-EO dianalisis menggunakan SEM. Perbesaran yang digunakan dalam analisis ini ialah 5000x dan 10.000x. Hasil analisis SEM ditunjukkan pada Gambar 3.

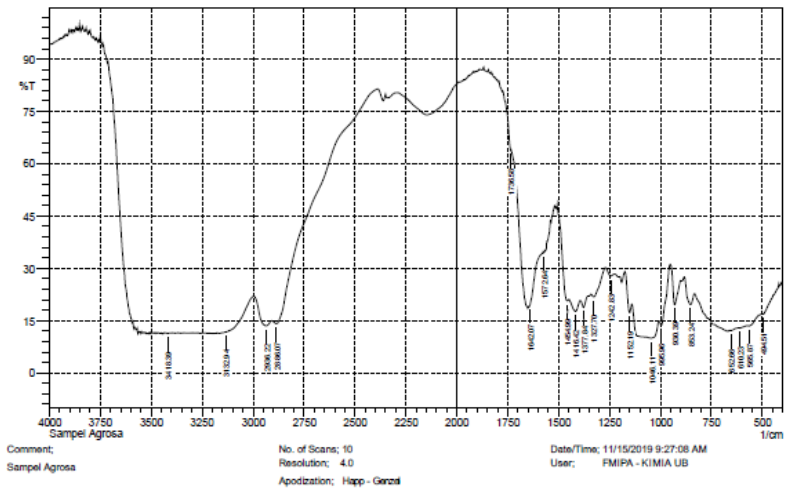


Gambar 3. Morfologi permukaan plastik Agr-Chi-EO1% dengan perbesaran 5000x dan 10.000x

Berdasarkan Gambar 3. Morfologi permukaan plastik menunjukkan tampilan yang homogen, halus dan menunjukkan keseragaman antara dua biopolimer penyusunnya serta EO1%. Adanya gugus polar dan nonpolar pada kedua biopolimer serta pengaruh penambahan surfaktan dan plastisizer memegang peranan untuk membentuk plastik menjadi homogen. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa penambahan kitosan pada larutan agarosa dapat membentuk plastik dengan permukaan yang homogen dan halus karena kedua polimer mampu

membentuk ikatan hidrogen antara kedua polimer penyusunnya [7].

Karakterisasi selanjutnya yang digunakan ialah uji FTIR. Hasil Uji FTIR ditunjukkan pada Gambar 4.



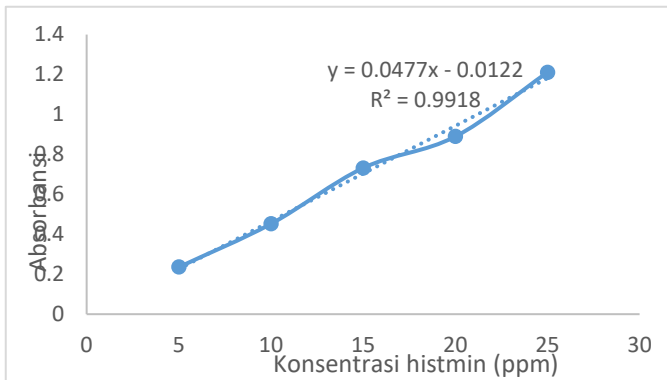
Hasil Uji SEM menunjukkan bahwa terdapat banyak gugus OH dan NH pada bilangan gelombang 3200-3600 yang menunjukkan bahwa campuran agarosa dan kitosan homogen. Selain itu terdapat *peak di daerah* finger print yang menunjukkan bahwa terdapat gugus-gugus aromatis dari minyak atsiri.

BAB 7

UJI KEMASAN PADA SAMPEL MAKANAN

Penentuan histamine dalam sampel ikan tuna dilakukan berdasarkan lamanya waktu penyimpanan yaitu selama 0, 1, 5, 10, 15, dan 20 hari dalam lemari pendingin (*freezer*). Tahapan ekstraksi dilakukan dengan menghaluskan 50 gram sampel ikan tuna, lalu menghomogenkan dengan buffer saline selama 2 menit menggunakan sentrifuge. Endapan dan filtrat dipisahkan. Filtrat kemudian dimasukkan dalam labu ukur 25 ml dan ditambahkan buffer saline hingga tanda batas. Larutan sampel kemudian di ambil 10 ml dan ditambahkan dengan 0,5 gram NaCl dan 2 mL butanol hingga terbentuk supernatan. Setelah itu supernatan yang terbentuk dievaporasi hingga tersisa residu. Residu ditambahkan 5 mL Na_2CO_3 dan 1 mL alizarin *red S* dan 1 mL $\text{CuSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,01 M. Setelah itu dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505,5 nm [17].

pada penelitian ini, plastik AGr-Chi-EO diaplikasikan pada ikan tuna untuk mengamati perubahan kadar histamin pada ikan tuna. Pertama-tama kurva standar histamin dibuat dari pengukuran larutan standar histamin dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Larutan standar histamin dikomplekskan dengan CuSO_4 alizarin *red S*, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 505,5 nm [8]. Hasil pengukuran kurva standar ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva standar histamin

Analisa kadar histamin dalam sampel ikan tuna dilakukan dengan menimbang 100 gram sampel ikan tuna lalu dibungkus dengan plastik Agr-Chi-EO, dan kemudian dimasukkan dalam freezer. Pengamatan kandungan histamin dilakukan pada hari ke 0, 1, 5, 10, 15, dan 20 hari. Histamin diekstraksi dari ikan tuna. Hasil ekstraksi kemudian ditambahkan pengompleks dan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505,5 nm. Hasil analisis kadar histamin pada ikan tuna ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Analisa kadar histamin pada sampel ikan tuna yang dilapisi plastik Ag-Chi-EO1%

| Hari ke: | Absorbansi | konsentrasi histamin (ppm) |
|----------|------------|----------------------------|
| 0 | 0.1308 | 3.09 |
| 1 | 0.1756 | 4.03 |
| 5 | 0.1773 | 4.06 |
| 10 | 0.1769 | 4.06 |
| 15 | 0.1777 | 4.07 |
| 20 | 0.1786 | 4.09 |

Berdasarkan data pada Tabel 3. Kadar histamin mengalami peningkatan pada hari ke 1 dan relatif konstan pada hari-hari

selanjutnya. Hal ini menunjukkan bahwa pada hari pertama plastik proses inhibisi bakteri oleh plastik Agr-Chi-EO1% belum bekerja secara optimal sehingga kadar histamin mengalami peningkatan. Namun, di hari-hari berikutnya, kadar histamin relatif konstan karena kemampuan plastik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Morganella morganii* sehingga tidak terbentuk histamin. Hal ini menunjukkan bahwa plastik dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan baik sehingga efisien untuk menurunkan kadar histamin dan menjaga kesegaran ikan tuna. Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa lamanya penyimpanan makanan akan meningkatkan pertumbuhan bakteri sehingga lebih cepat merusak makan [9]

BAB 8

DAFTAR PUSTAKA

1. Hu Z, Hong P, Liao M, Kong S, Huang N, Ou C. Preparation and Characterization of Chitosan-Agarose Composite Films. *Materials (Basel)*. 2016;9(816):1–9.
2. Antara N S, Paramita D A. K., Duwipayana A A, Gunam I B W. Inhibitory activity of lemongrass essential oil against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *vibrio cholerae*. *Proceeding Seminar Nasional PATPI*. 2013.
3. Balakrishnan B, Paramasivam S, Arulkumar A. Evaluation of the lemongrass plant (*Cymbopogon citratus*) extracted in different solvents for antioxidant and antibacterial activity against human pathogens. *Asian Pacific J Trop Dis*. 2014;4(S1).
4. Singh B, Singh V, Singh R, Ebibeni. Antimicrobial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against microbes of environmental, clinical and food origin. *Inters Journal*. 2011; 1(9):228-236
5. Han Y, Yu M, Wng L. Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose film incorporated with cinamon essential oil. 2018.
6. Ng N.T., Sanagi M.M., W.N.W. Ibrahim, W.A.W. and Ibrahim, Agarose-chitosan-C18film micro-solid phase extraction combined with highperformance liquid chromatography for the determination of phenanthreneand pyrene in chrysanthemum tea samples, *Food Chem*. 2017;222:28–34.
7. Cao Q, Zhang Y, Chen W, Meng X, Liu B. Hydrophobicity and physicochemical properties of agarose film as affected by chitosan addition. *Int J Biol Macromol*. 2018;106:1307–13.
8. Jannatin M, Supriyanto G. A novel spectrophotometric method for determination of histamine based on its complex reaction with Cu (II) and Alizarin Red S. *Journal of Chem. And Met*. 2017;52(6):1045-1050.

9. Jiang S, Peng Y, Ning B, Bai J, Liu Y, Zhang N, et al. Chemical Surface plasmon resonance sensor based on molecularly imprinted polymer film for detection of histamine. *Sensors Actuators B Chem.* 2015;221:15–21.
- Acevedo-Fani, Laura Salvia-Trujillo, María Alejandra Rojas-Graü, Olga Martín Belloso., 2015. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: physicochemical characterization and antimicrobial properties. Department of Food Technology. University of Lleida, Agrotecnio Center
- Adrin, 2017. Isolasi Agarosa Dari Agar dan Aplikasinya Sebagai Adsorben Zat Warna Pada Analisis Tartrazain Dengan Metoda TLC SCANNER. Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang.
- Ahvenainen, R., 2003. Active and intelligent packaging: An introduction. In R. Ahvenainen (Ed.), *Novel food packaging techniques* (pp. 5e21). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd.
- Angka, S.L. dan T.S. Suhartono. 2000. Bioteknologi Hasil Laut. Pusat Kajian Sumber Daya Pesisir dan Lautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor. hlm. 49–56.
- Anon, 2001. *Limbah kepiting dan Udang Bernilai Ekonomi Tinggi*. Republika, 13 September 2001.
- Anon, 2008. PI Biotech Surindo, Produsen terbesar Chitin dan Chitosan. *Madina*
- Asra, Ridho., 2015. *Isolasi Agarosa Dari Agar dan Penggunaannya Sebagai Fase Diam Metode Elektroforesis Gel Untuk Identifikasi DNA HPV (Human Papillomavirus)*. [tesis]. Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang.
- Brooks GF, JS Butel & SA Morse (2001). *Jawetz, Melnick, and Adelberg's: Mikrobiologi Kedokteran*. Alih Bahasa:

- Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UNAIR. Salemba Medika, Jakarta.
- Chan, Cheong-Xin, Chai-Ling Ho, Othman, RY., Siew-Moi Phang., 2004. *Total RNA Extraction for the Red Seaweed Gracilaria changii (Gracilariales, Rhodophyta)*, Malaysia.
- Chung YC, Su YP, Chen CC, Jia G, Wang HI, Wu JCG, Lin JG., 2004. Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristic of cell wall. *Acta Pharmacol Sin* 25(7) :932-936.
- Cristiana, 2008. *Pengaruh Pelapisan Dengan Edible Coating Berbahan Baku Karagenan Terhadap Karakteristik Buah Stroberi (Fragaria nilgerrensis) Selama Penyimpanan Pada Suhu 5^o C ± 2^o C*. Skripsi Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jatinangor.
- Damayanti, Emma Rochima, Zahidah Hasan, 2016. Aplikasi Kitosan Sebagai Antibakteri Pada Filet Patin Selama Penyimpanan Suhu Rendah. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Dobrucka, R. dan Cierpiszewski, R. (2014). Active and intelligent packaging food-research and development-a review. *Polish Journal Food Nutrition Sciences* **64**(1): 7-15.
- EU, 2009. Guidance to the commission regulation (EC) No 450/2009 of 29 May 2009 on active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food. Version 10. European Commission Health and Consumers Directorate-General Directorate E-Safety of the Food chain. E6- Innovation and sustainability.
- Evan, S., 2006. *Alga Laut sebagai Biotarget Industri*. FMIPA Universitas Lampung, Lampung.
- Fang, Yanyun Zhao, Robyn D. Warner, Stuart K. Johnson., 2017. Active and intelligent packaging in meat industry.

- Faculty of Veterinary and Agricultural Sciences, The University of Melbourne, Parkville, VIC, 3010, Australia.
- Hadiyanto, Sasmito, PI, Sumardi, J.A., 1999. Studi Pengembangan Sistem Agribisnis Dan Industri Komoditas Rumput Laut Di Desa Pantai Jawa Timur.
- Hafdani, F.N. and Sadeghinia. N., 2011. *A Review on Application of Chitosan as a Natural Antimicrobial*. World Academy of Science. Engineering and Technology.
- Hui, Y.H., p.Cornillon,I.G Lagaretta , Miang H.Lim, K.D. Murrel, Wai-Kit Nip, 2004. *Handbook of Frozen Foods*. Macell Dekker, New York.
- Jayasena, D. D., & Jo, C., 2013. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 34, 96e108.
- Joko S., 2010. Bertani jeruk purut. Pustaka baru press , hal 1-17, Yogyakarta.
- Kajiwara., 2006. Physical and Chemical Characterization of Agar Polysaccharides Extracted from the Thai and Japanese Species of Gracilaria. *ScienceAsia*. **1**:11-17
- Kanatt, S.R., R. Chander, and A. Sharma. 2008. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food Chem*. 107: 845–852.
- Munawaroh S, Prima AH., 2010. Ekstraksi minyak daun jeruk purut (*Citrus hystrix d.c.*) dengan pelarut etanol dan n-heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik*, 2(1):73-8.
- Nurainy F, Rizal S, dan Yudiantoro., 2008. Pengaruh konsentrasi kitosan terhadap aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar (sumur). *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* 13(2): 117- 125.
- Perdana Z, 2006. Pengaruh Penambahan Kitosan Sebagai *Edible coating* terhadap Masa Simpan Filet Nila Merah pada Penyimpanan Suhu Rendah. [Skripsi]. Universitas

Padjajaran Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Jatinangor Bandung

Praiboon, J., Anong Chirapart, Yoshihiko Akakabe, Orapin Bhumibhamond and Tadahiko

Rahmi U, Yunazar M, Adlis S., 2013. Profil fitokimia metabolik sekunder dan uji aktivitas antioksidan tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix DC*) dan jeruk bali (*Citrus maxima(Burm.f.) Merr*). *Jurnal Unand*. 2(2): 2303-2311.

Skurtys O., Acevedo C., Pedreschi F., Enrione J., Osorio F & Aguilera J.M., 2009. *Food Hydrocolloid Edible Film and Coatings*.Departement of Food Science and Technology, Universidad de Santiago de Chile, Chile pp34.

Tripathi, S., G.K. Mehrotra, and P.K. Dutta. 2009. Physicochemical of cross-linked chitosan-PVA film for food packaging applications. *Intl. J. Biol. Macromol*. 45: 372–376.

Vásconez, M.B., S.K. Flores, C.A. Campos, J. Alvarado, and L.N. Gerschenson. 2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. *Food Res. Intl*. 42: 762–769

Yuliani R, Peni I, Septi S.R., 2011. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. 12(2): 50-4.*Pharmacom*.

Zakki, 2015. Pengetahuan Dan Perilaku Preventif Terhadap Bakteri *E-Coli* Pada Masyarakat Kecamatan Gondomanan Di Kota Yogyakarta. Unes, Semarang.