

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu Negara maritim yang mempunyai potensi cukup besar sebagai penghasil ikan, baik ikan tawar maupun ikan laut antara lain seperti udang, kerang, kepiting dan lain sebagainya. Udang ialah hewan yang tidak memiliki tulang belakang (*invertebrate*) yang tempat hidupnya adalah diperairan air tawar, air payau dan air asin. Pengolahan udang menghasilkan limbah padat berupa kepala, kulit, kaki dan ekor yang dapat mencemari lingkungan sehingga perlu dimanfaatkan (Sarwono,2010).

Budidaya udang telah berkembang pesat sehingga udang dijadikan komoditas ekspor non migas yang dapat diandalkan dan merupakan biota laut yang bernilai ekonomis tinggi. Indonesia merupakan Negara penghasil udang ketiga didunia. Komoditas ekspor udang di Indonesia mencapai 69%. Tahun 2014 produksi udang mengalami peningkatan sebesar 255 ribu ton (Kumar, 2017).

Udang merupakan komoditas andalan sektor perikanan yang menghasilkan limbah yang cukup banyak. Limbah udang ini dapat mencemari lingkungan sehingga perlu pengolahan untuk menjadikan limbah udang sebagai produk yang memiliki nilai ekonomis lebih tinggi. Limbah padat udang yang belum dimanfaatkan secara optimal salah satunya ialah cangkang udang.

Peningkatan produksi udang yang tinggi menyebabkan semakin banyaknya limbah cangkang udang yang dihasilkan. Industri budidaya udang menghasilkan limbah cangkang udang dalam jumlah besar, yaitu mencapai 45 – 55% dari berat kotor udang. Ekspor udang yang semakin meningkat tiap tahunnya mengakibatkan banyaknya limbah kulit udang di Indonesia. Limbah kulit udang mengandung senyawa kitin yang dapat diubah menjadi kitosan yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan hasil olahannya dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan (Dompeipen, 2016).

Cangkang udang merupakan salah satu sumber yang potensial untuk digunakan dalam pembuatan kitosan karena penyusun utama kulit udang adalah kitin. Sifat kitin yang tidak beracun dan mudah terdegradasi mendorong

dilakukannya proses modifikasi kitin dengan tujuan untuk mengoptimalkan kegunaannya maupun memperluas bidang aplikasi kitin. Kulit udang mengandung protein 25-40%, kalsium karbonat 40-50% dan kitin 20-36% (Srijianto, 2005). Limbah kulit udang memiliki potensi yang besar sebagai penghasil kitin (Synowiecki *et.al.*, 2003). Kitin dapat diisolasi dan diubah menjadi kitosan melalui proses deasetilasi. Limbah cangkang udang dapat digunakan untuk memproduksi suatu produk yang memiliki nilai ekonomis lebih tinggi yaitu kitosan (Hussain *et.al.*, 2014).

Menurut Direktorat Jendral Perikanan (2019), Provinsi Lampung merupakan provinsi yang memiliki produksi udang vannamei tertinggi nomor empat pada tahun 2019 dengan jumlah produksi sebesar 42.883 ton. Berdasarkan data Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Lampung (2019), Kabupaten Lampung Selatan merupakan kabupaten yang memiliki jumlah produksi udang vannamei terbesar kedua dengan jumlah produksi sebesar 10.862,48 ton.

Kitin merupakan salah satu polimer alami yang cukup melimpah dan merupakan biopolimer terbanyak kedua dalam setelah selulosa. Kitin merupakan zat padat yang tidak larut dalam air, asam encer tetapi larut dalam asam pekat. Keberadaan kitin dalam berikatan dengan komponen lain seperti mineral, protein dan berbagai macam pigmen lainnya (Ameilia, 2017). Kitin dapat diisolasi menggunakan dua cara yaitu secara kimiawi dan enzimatik yang melalui tiga tahapan yaitu demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi.

Kitosan merupakan polimer karbohidrat alami yang diturunkan dari kitin dan ditemukan dalam jumlah besar pada *Crustasea*, jamur, serangga dan beberapa algae (Hussain *et.al.*, 2014). Kitosan digunakan dalam aplikasi yang sangat luas yaitu industri farmasi, biokimia, bioteknologi, kosmetik, biomedis, industri kertas, serta industri tekstil dan makanan (Muzzarelli, 1985). Salah satu cara alternatif yang dapat digunakan untuk meningkatkan kualitas kitosan adalah dengan impregnasi kitosan dengan material lain. Limbah udang yang banyak mengandung kitin dapat dimanfaatkan untuk pembuatan kitosan. Kitosan digunakan dalam aplikasi yang sangat luas, yaitu industri farmasi, biokimia, penanganan air limbah, bioteknologi, kosmetik, biomedis, industri kertas, serta industri tekstil dan makanan (Muzzarelli, 1985). Salah satu cara alternatif yang

dapat digunakan untuk meningkatkan kualitas dari kitosan adalah dengan memodifikasi proses sintesis kitosan (Farhana, 2011).

Penelitian yang telah dilakukan Azhar (2010), diperoleh rendemen kitosan sebesar 10,86% dengan perlakuan pada tahap demineralisasi suhu 100°C dan waktu pemanasan 60 menit menggunakan larutan HCl 1N. Sedangkan penelitian yang telah dilakukan Rusmayanti (2018), menghasilkan rendemen kitosan sebesar 21,49% dengan perlakuan suhu 30°C dan waktu pemanasan pada tahap demineralisasi 60 menit. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan modifikasi dan optimasi proses sintesis kitosan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan dua variabel yaitu suhu dan waktu. Suhu yang digunakan ialah 80°C, 100°C dan 120°C. Sedangkan waktu pemanasan yang digunakan ialah 60 menit, 90 menit dan 120 menit.

Berdasarkan latar belakang diatas yaitu meningkatnya produksi udang yang tinggi menyebabkan semakin banyaknya limbah udang yang dihasilkan, maka penelitian ini akan memanfaatkan limbah dari pengolahan udang yang dimana, bagian kepala, ekor dan cangkang dibuang sebagai limbah untuk dijadikan sebagai kitosan. Modifikasi dan optimasi proses sintesis kitosan berbahan baku limbah cangkang udang, menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) diharapkan menghasilkan kualitas kitosan yang baik sesuai dengan karakteristik mutu kitosan dalam penggunaannya.

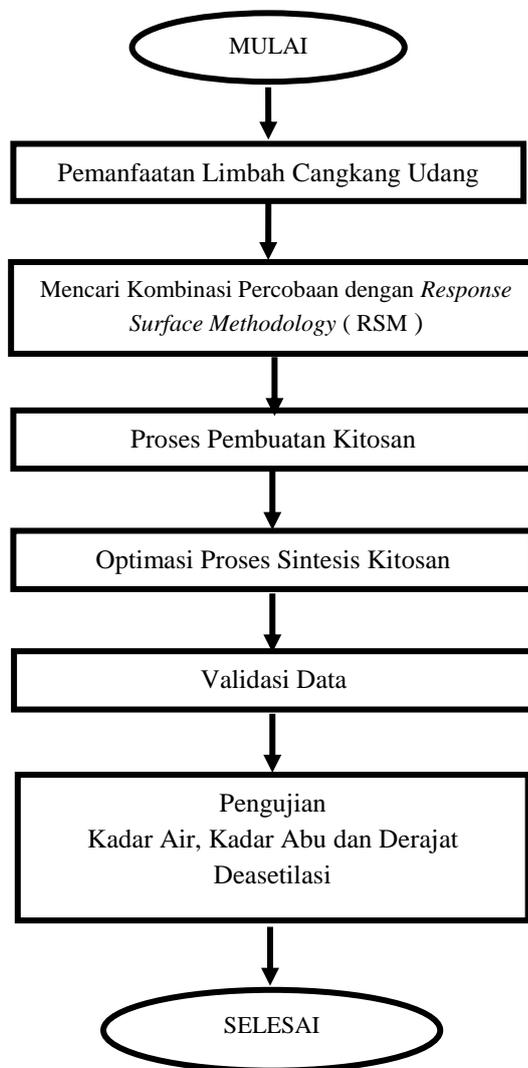
1.2 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Menentukan suhu optimum tahap demineralisasi pada pembentukan kitosan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) terhadap rendemen yang dihasilkan.
2. Menentukan waktu pemanasan optimum tahap demineralisasi pada pembentukan kitosan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) terhadap rendemen yang dihasilkan.
3. Untuk mengetahui spesifikasi karakteristik standar mutu kitosan yang sesuai dengan SNI 7948 : 2013 yaitu rendemen, kadar air, kadar abu dan derajat deasetilasi.

1.3 Kerangka Pemikiran

Industri budidaya udang menghasilkan limbah kulit udang dalam jumlah yang besar, yaitu mencapai 45-55% dari berat kotor udang. Produksi budidaya udang akan menghasilkan limbah yang dapat mencemari lingkungan. Limbah yang dihasilkan berkisar antara 30 - 70% dari berat udang. Meningkatnya jumlah limbah udang merupakan masalah yang dapat mencemari lingkungan dan perlu upaya dalam pemanfaatannya. Kitin merupakan komponen utama dari *eksoskeleto*, *invertebrate crustacean* dan insekta. Pada penelitian ini beberapa proses untuk menghasilkan kitosan mulai dari tahap persiapan bahan baku sampai menjadi produk akhir yaitu kitosan. Adapun skema pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema Pelaksanaan Penelitian

1.4 Hipotesis

Pada penelitian ini dimodifikasi proses sintesis kitosan berbahan baku cangkang udang dengan variasi suhu dan waktu pemanasan pada tahap demineralisasi menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). Dengan metode ini diduga menghasilkan kualitas kitosan yang baik sesuai dengan karakteristik mutu kitosan dalam penggunaannya. Analisis spesifikasi karakteristik standar mutu kitosan yang sesuai dengan SNI 7948 : 2013 adalah kadar air, kadar abu dan derajat deasetilasi.

1.5 Kontribusi

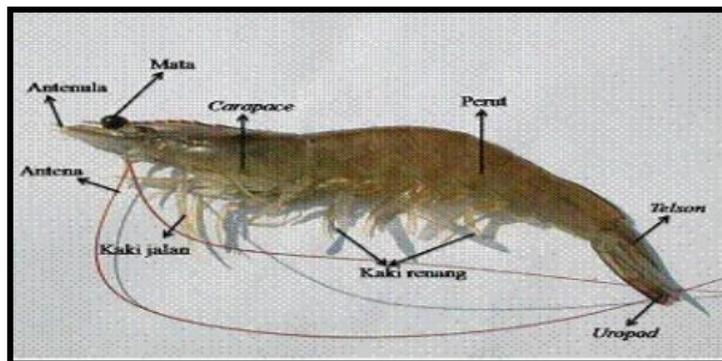
Penelitian ini dapat memberikan kontribusi yaitu dapat memanfaatkan limbah cangkang udang yang belum digunakan secara maksimal untuk dijadikan sebagai khitosan. Kitosan digunakan dalam aplikasi yang sangat luas, yaitu industri farmasi, biokimia, penanganan air limbah, bioteknologi, kosmetik, biomedis, industri kertas, serta industri tekstil dan makanan. Aplikasi kitosan salah satunya dapat digunakan sebagai pengolahan air yaitu kitosan dijadikan sebagai koagulan pengolahan air untuk dijadikan sebagai air baku.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Udang *Litopenaeus vannamei*

Komoditas perikanan budidaya tambak unggulan Provinsi Lampung adalah komoditas udang. Menurut Direktorat Jendral Perikanan (2015), Provinsi Lampung merupakan provinsi yang memiliki produksi udang vannamei tertinggi nomor empat pada tahun 2015 dengan jumlah produksi sebesar 42.883 ton. Berdasarkan data Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Lampung (2016), Kabupaten Lampung Selatan merupakan kabupaten yang memiliki jumlah produksi udang vannamei terbesar kedua dengan jumlah produksi sebesar 10.862,48 ton.

Udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) memiliki beberapa keunggulan, yaitu produktivitasnya tinggi dengan tingkat kelangsungan hidupnya 90%, mudah dibudidayakan, waktu pemeliharaan lebih pendek, tahan penyakit dan lainnya. Menurut Kristina (2014), faktor produksi yang digunakan pada budidaya udang vanamei adalah penggunaan benur (benih udang), pakan udang, bahan bakar mesin dan lamanya periode pemeliharaan udang vannamei. Udang vannamei memiliki tubuh berbuku – buku dan setiap kali tubuhnya akan membesar, udang dapat berganti kulit luar (*eksoskeleton*), setelah itu kulitnya mengeras kembali. Tubuh udang vannamei berwarna putih oleh karena itu, udang ini sering disebut udang putih (Haliman, 2005). Morfologi udang vannamei dapat dilihat pada Gambar 2.

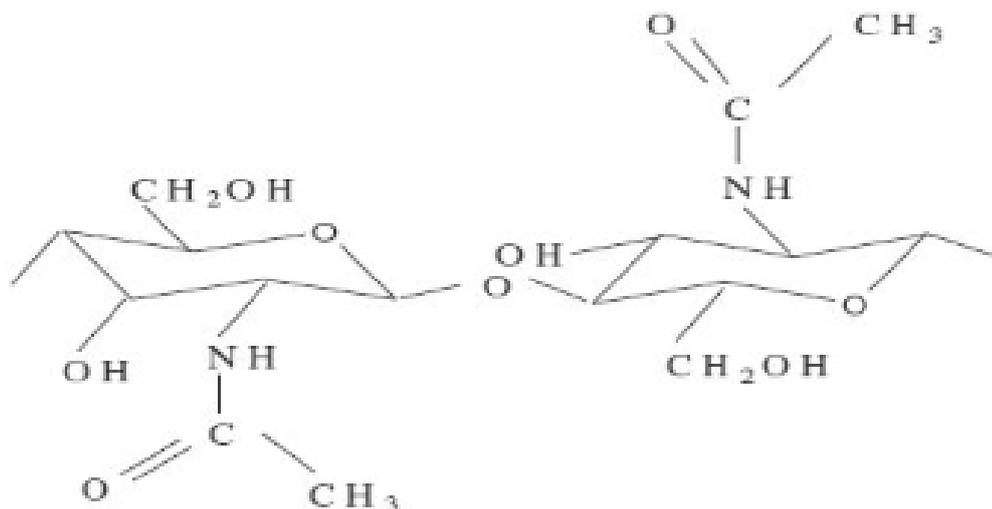


Gambar 2. Morfologi udang Vannamei
Sumber : Haliman, 2005

Indonesia sendiri memproduksi udang vannamei pada tahun 2001 saat menurunnya produksi udang windu. Faktor yang menyebabkan Indonesia memproduksi udang vannamei adalah ketahanan tubuh yang lebih baik terhadap serangan berbagai penyakit dibandingkan dengan udang windu. Kelebihan yang lain adalah dengan kebiasaan hidup di kolom air maka udang vannamei dapat dibudidayakan dalam kepadatan tinggi (Supono, 2017). Selain itu, tingkat pertumbuhan yang tinggi. FCR yang cukup rendah dan adaptif terhadap kondisi perubahan lingkungan merupakan keunggulan udang vannamei (Mansyur, 2014).

2.2 Kitin

Kitin merupakan biopolimer yang tersusun dari unit-unit N-asetil-glukosamin berikatan B(1-4) yang banyak dijumpai di alam setelah selulosa. Kitin merupakan bahan organik utama yang banyak terdapat di eksoskeleton atau kutikula pada kelompok *Crustaceae*, serangga, fungi dan moluska (Kusumaningsih *et al.*, 2004). Jumlah kitin yang dapat dihasilkan pertahunnya dalam biosfer sangat banyak sekali. Kitin adalah senyawa homopolimer polisakarida alami yang melimpah dialam dan memiliki rantai panjang berbasis glukosamin berbentuk linier (Tokuyasu dkk., 1999). Struktur kitin dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Kitin

Sumber : Rifai, 2007

Kitin memiliki berat molekul besar (>150 kDa) dan tidak bercabang serta tersusun atas tiga macam struktur Kristal allmorphs yaitu α -, β -, dan γ - (Beier *et al.*, 2013). Polimer kitin tersusun atas residu N-asetil glukosamin yang dihubungkan oleh ikatan B-(1-4)-glukosidik. Kitin merupakan senyawa berstruktur rumit sehingga memiliki tingkat kelarutan yang rendah pada beberapa pelarut umum (Zhou, 2010). Modifikasi kitin diperlukan untuk meningkatkan aplikasinya sehingga perlu dilakukan perubahan gugus fungsi asetil menjadi gugus amina yang disebut deasetilasi (Khan, 2001). Sumber kitin dan kitosan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sumber Kitin

Sumber Hewani / Nabati	Kadar Kitin (%)
Jamur	5 – 20
Tulang cumi-cumi	3 – 20
Kalajengking	30
Laba-Laba	38
Kecoa	35
Kumbang	37
Ulat Sutra	44
Kepiting	69
Udang	70

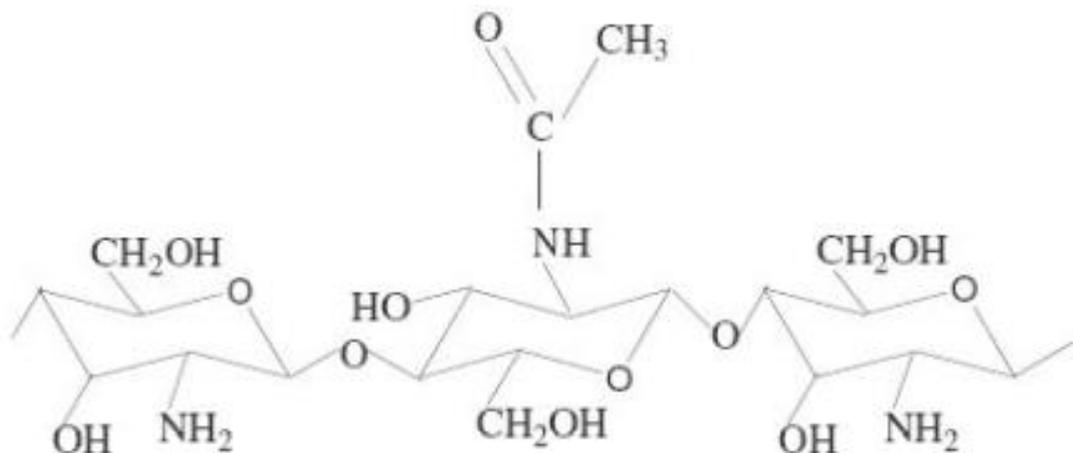
Sumber : Muzzarelli, (1977)

Kitin termasuk golongan polisakarida yang mempunyai berat molekul tinggi dan merupakan molekul polimer berantai lurus dengan nama lain β -(1-4)-2asetamida – 2 – dioksi – D – glukosa (N – asetil – D – Glukosamin). Kitin memiliki strukturnya yang hampir sama dengan selulosa dimana ikatan yang terjadi antara monomernya terangkai dengan ikatan glikosida pada posisi β -(1-4). Perbedaan kitin dengan selulosa adalah gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon yang kedua pada kitin diganti oleh gugus asetamida (NHCOCH₂) sehingga kitin menjadi sebuah polimer berunit N-asetil glukosamin. Unit monomer kitin memiliki rumus molekul C₈H₁₂NO₅ dengan kadar C, H, N dan O masing-masing 7%, 6%, 7%, dan 40%.

2.3 Kitosan

Kitosan adalah salah satu polimer rantai panjang dengan rumus molekul $(C_8H_{11}NO_4)_n$ dihasilkan dari kitin melalui proses deasetiasi sempurna maupun sebagian dengan cara menghilangkan gugus asetil (CH_3-CO) dengan atom hidrogen menjadi gugus amina (NH_2) (Rathke, 1994).

Kitin merupakan polisakarida terbesar kedua setelah selulosa yang mempunyai rumus kimia poli (2-asetamido-2-deoksi-B-(1-4)-D-glukopiranos) dengan ikatan B-glikosidik (1,4) yang menghubungkan antar unit ulangnya. Struktur kimia kitin mirip dengan selulosa yang hanya dibedakan oleh gugus yang terikat pada atom C kedua. Jika pada selulosa gugus yang terikat pada atom C kedua adalah OH, maka pada kitin yang terikat adalah gugus asetamida (Muzzarelli, 1985). Struktur kimia dari kitosan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Kitosan

Sumber : Rifai, 2007

Kitosan merupakan polimer rantai panjang yang disusun oleh monomer-monomer glukosamin (2-amino-2-deoksi-D-glukosa). Biopolimer ini disusun oleh dua jenis ammonia yaitu glukosamin (2-amino-2-deoksi-D-glukosa, 70-80%) dan N-asetilglukosamin (2-asetamino-2-deoksi-D-glukosa, 20-30%). Kitosan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Produk Kitosan

Mutu kitosan yang diperdagangkan secara komersial tergantung pada penggunaannya, misalnya pada penanganan limbah diperlukan kitosan dengan kemurnian yang rendah, sedangkan jika untuk obat-obatan diperlukan kitosan dengan kemurnian yang tinggi. Mutu kitosan tersebut dipengaruhi oleh beberapa parameter yaitu kadar air, kadar abu dan derajat deasetilasi. Karakteristik kitosan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Spesifikasi Standar Mutu Kitosan

Jenis Pengujian	Persyaratan
Warna	Coklat muda sampai putih
Kadar Air	Maks 12%
Kadar Abu	Maks 5%
Derajat Deasetilasi	Min 70%
Nitrogen	Maks 5%
Pb	Maks 5 mg/kg
pH	7-8

Sumber : SNI 7948: 2013

2.3.1 Karakteristik Kitosan

Karakteristik kitosan diantaranya struktur yang tidak teratur, bentuknya kristalin atau semikristal. Selain itu dapat juga berbentuk padatan amorf berwarna putih dengan struktur Kristal tetap dari bentuk awal kitin murni. Kitosan mempunyai rantai yang lebih pendek daripada rantai kitin. Kelarutan kitosan dalam larutan asam serta viskositas larutannya tergantung dari derajat deasetilasi dan derajat degradasi polimer. Kitosan tidak larut dalam air namun larut dalam asam, memiliki viskositas cukup tinggi ketika dilarutkan, sebagian besar reaksi karakteristik kitosan merupakan reaksi karakteristik kitin.

2.3.2 Pemanfaatan Kitosan

Menurut Kristiana (2004), kitosan memiliki banyak macam kegunaan yaitu :

1. Industri Tekstil

Pada industri tekstil kitosan dapat digunakan sebagai pengganti wax. Selain itu, kitosan dapat digunakan untuk member warna pada kain.

2. Industri Makanan

Didalam industri makanan, kitosan dijadikan sebagai media pewarna makanan karena kitosan memiliki sifat yang mampu mengikat air dan lemak. Kitosan juga dapat digunakan sebagai zat anti bakteri dan jamur sehingga makanan dapat bertahan lebih lama tanpa harus menggunakan pengawet kimia.

3. Pengolahan Limbah

Kitosan dapat digunakan sebagai koagulan dalam penanganan limbah karena mampu menyerap logam beracun seperti merkuri, tembaga, timah serta mampu mengikat zat warna dalam air limbah.

4. Bidang Kedokteran

Kitosan dapat dijadikan sebagai bahan dasar pembuatan benang operasi. Benang operasi dari kitosan memiliki keunggulan dapat terurai dan diserap kedalam jaringan tubuh.

2.4 Sintesis Khitosan

Dalam kulit *Crustaceae*, kitin terdapat sebagai mikropolisakarida yang berikatan dengan garam-garam anorganik terutama kalsium karbonat (CaCO_3), protein dan lipida termasuk pigmen-pigmen. Kitin merupakan bahan utama dalam pembuatan kitosan. Oleh karena itu untuk memperoleh kitin dari kulit *Crustaceae* melibatkan proses pemisahan protein (deproteinasi) dan pemisahan mineral (demineralisasi) dan untuk proses sintesa kitosan dapat dilakukan proses penghilangan gugus asetil (deasetilasi). Sintesis kitosan dilakukan dengan cara menghilangkan tiga komponen besar yaitu protein melalui deproteinasi dan kalsium karbonat dengan cara demineralisasi dan gugus asetil dengan deasetilasi.

2.4.1 Deproteinasi

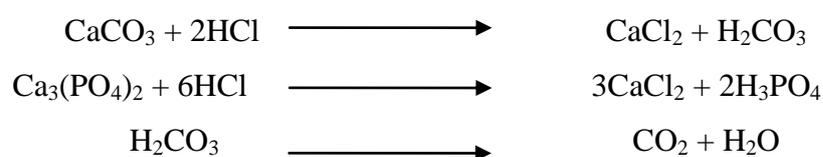
Protein dalam kulit udang mencapai sekitar 21% dari bahan keringnya. Protein tersebut berikatan kovalen dengan kitin. Adapun tujuan dari proses ini untuk memisahkan atau melepas ikatan-ikatan antara protein dan kitin. Proses deproteinasi ini dapat dilakukan dengan menggunakan bahan kimia seperti mereaksikannya dengan basa kuat NaOH dengan komposisi tertentu maupun dengan cara menggunakan bantuan mikroba. Pada tahap deproteinasi, protein yang terkandung didalam kulit udang larut dalam basa sehingga protein yang terikat secara kovalen pada gugus fungsi kitin akan terpisah.

Protein yang terdapat dalam udang akan terekstrak dalam bentuk Na-proteinat. Ion Na^+ akan mengikat ujung rantai protein yang bermuatan (-) dan larut dalam larutan pengestrak sehingga ia akan tertarik dan terikat pada senyawa tersebut dan membentuk ikatan. Kelarutan protein dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi pelarut, pengaruh suhu dan waktu. Proses pengadukan dan pemanasan bertujuan untuk mempercepat pengikatan ujung rantai protein dengan NaOH sehingga proses degradasi dan pengendapan protein berlangsung secara sempurna (Austin, 1981). Adapun reaksi yang terjadi selama proses deproteinasi adalah :



2.4.2 Demineralisasi

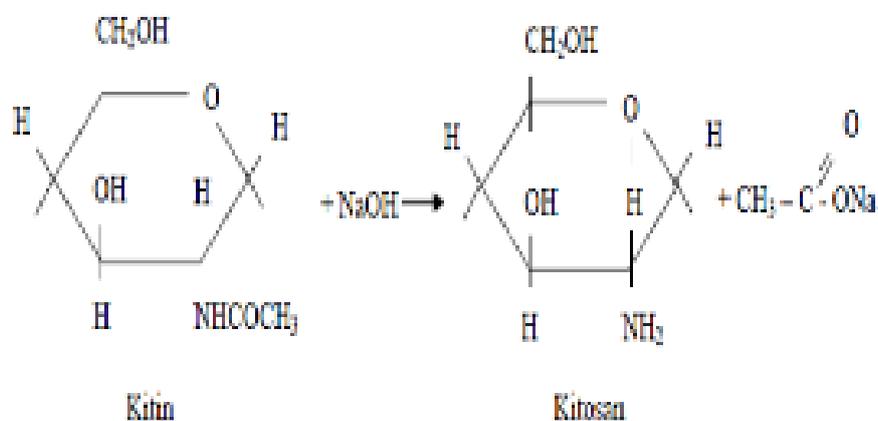
Proses demineralisasi ini bertujuan untuk menghilangkan garam-garam organik atau kandungan mineral yang ada pada kulit udang. Kandungan mineral utamanya adalah CaCO_3 dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Pada tahap ini mineral yang terkandung dalam kulit udang bereaksi dengan HCl sehingga terjadi pemisahan mineral dari kulit udang tersebut. Proses pemisahan mineral ditunjukkan dengan adanya gelembung udara pada saat larutan HCl ditambahkan pada sampel (Hendry, 2008). Reaksi yang terjadi pada tahap demineralisasi yaitu :



2.4.3 Deasetilasi

Deasetilasi merupakan proses pemutusan gugus asetil pada kitin untuk menghasilkan kitosan. Metode yang biasa digunakan untuk proses deasetilasi kitin adalah dengan menggunakan larutan alkali NaOH (Tolaimatea *et al.*, 2003). Proses deasetilasi merupakan proses penghilangan gugus asetil ($-\text{COCH}_3$) dari kitin dengan menggunakan larutan alkali agar berubah menjadi gugus amina (NH_2). Pemutusan gugus asetil dengan gugus nitrogen perlu dilakukan dengan konsentrasi 60% pada suhu $100 - 120^\circ\text{C}$ selama 3 jam. Penggunaan larutan dengan konsentrasi dan suhu tinggi dapat mempengaruhi besarnya derajat deasetilasi yang dihasilkan.

Hal ini membuktikan bahwa semakin besar konsentrasi maka semakin besar kemungkinan terjadinya tumbukan. Reaksi pembentukan kitosan dari kitin merupakan reaksi hidrolisis suatu amida oleh suatu basa. Mula-mula terjadi reaksi adisi, dimana pada proses ini gugus $-\text{OH}$ masuk kedalam gugus NHCOCH_3 kemudian terjadi eliminasi gugus CH_3COO^- sehingga dihasilkan suatu amina yaitu kitosan (Mahatmanti 2001). Proses Pembentukan Kitosan dari kitin dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Proses Pembentukan Kitosan dari Kitin
Sumber : Champagne , 2002

2.5 Pengujian Karakteristik Kitosan

Kitosan yang telah didapat dari tiga tahapan yaitu deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi kemudian dilakukan pengujian karakteristik untuk mengetahui perlakuan mana yang mendapatkan hasil optimal dan bertujuan untuk mengetahui perlakuan yang sesuai dengan syarat mutu kitosan menurut SNI No. 7949 : 2013.

Pengujian yang dilakukan antara lain rendemen, kadar air, kadar abu dan derajat deasetilasi.

2.5.1 Rendemen

Rendemen diperoleh dari perbandingan antara berat kering kitosan yang dihasilkan dengan berta bahan baku (Zahiruddin *et al.*, 2008). Perhitungan rendemen menunjukkan banyaknya kitosan kering yang dihasilkan dari limbah cangkangudang yang diproses. Besarnya rendemen dapat dihitung dengan rumus dibawah :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat kitosan yang dihasilkan}}{\text{berat bahan baku}} \times 100\%$$

2.5.2 Derajat Deasetilasi

Derajat deasetilasi merupakan parameter yang sangat penting untuk menentukan mutu dari kitosan. Derajat deasetilasi menunjukkan presentase gugus asetil yang dapat dihilangkan dari kitin sehingga dihasilkan kitosan. Penggunaan derajat deasetilasi sebagai salah satu parameter mutu kitosan disebabkan karena adanya gugus asetil pada kitosan yang dapat menurunkan efektivitas kitosan. Derajat deasetilasi kitosan ditentukan dengan menggunakan FTIR (Fourier Transformed Infra Red) yang mengacu pada penelitian Liu *et al.*, (2006). Derajat deasetilasi dihitung dari perbandingan antara absorbansi pada 1655 cm⁻¹ dengan absorbansi 3450 cm⁻¹ dengan rumus :

$$\% \text{ DD} = 100 - \left[1 - \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \right) \times \frac{1}{1,33} \right] \times 100\%$$

Keterangan :

- (A1655) amida = absorbansi pada 1655cm⁻¹ pada pita amida sebagai kandungan grup N-asetil
- (A3450) hidroksil = absorbansi pada 3450cm⁻¹ pada pita analisa kadar protein

2.5.3 Kelarutan Kitosan

Analisis kelarutan kitosan menurut Agustina *et al.*, (2015) dilakukan dengan melarutkan kitosan kedalam asam asetat dengan konsentrasi 2% dengan perbandingan 1:100 (g/ml) lalu difiltrasi.

2.5.4 Kadar Abu

Kadar abu merupakan salah satu parameter penting dalam menentukan mutu kitosan. Beberapa residu abu dari kitosan dapat mempengaruhi karakteristik pada produk akhir. Pengukuran kadar abu merupakan indikator efektivitas langkah demineralisasi untuk menghilangkan kalsium karbonat. Kadar abu kitosan dihitung berdasarkan metode BSN (2006) yaitu cawan dibersihkan dan dikeringkan kemudian didinginkan didalam desikator dan ditimbang hingga mendapatkan berat konstan. Pengujian kadar abu dapat dihitung dengan rumus yang mengacu pada metode BSN (2006) :

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{A - B}{C - B} \times 100 \%$$

Keterangan :

a = massa cawan + sampel setelah menjadi abu (g)

b = massa cawan kosong (g)

c = massa cawan+sampel (g)

2.5.5 Kadar Air

Kadar abu merupakan salah satu parameter penting dalam menentukan mutu kitosan. Kadar air yang rendah dapat menekan atau mengurangi kerusakan pada kitosan, misalnya terhindar dari adanya aktivitas mikroorganisme akibat kelembaban. Pengujian kadar air kitosan mengacu pada metode BSN (2006). Metode yang digunakan dalam penentuan kadar air adalah metode gravimetri. Pengujian kadar air dapat dihitung dengan rumus yang mengacu pada metode BSN (2006) :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A - B}{A - C} \times 100 \%$$

Keterangan :

a = massa cawan + sampel (g)

b = massa cawan + sampel setelah dioven (g)

c = massa cawan kosong (g)

2.6 *Response Surface Methodology (RSM)*

Optimasi kondisi proses perlu dilakukan untuk memperoleh proses yang optimum atau efisien. *Response Surface Methodology (RSM)* adalah kumpulan teknik matematika dan statistik, yang digunakan untuk pemodelan dan analisis masalah dalam suatu response yang dipengaruhi oleh beberapa variabel yang tujuannya untuk mengoptimasi respon tersebut atau mengoptimalkan tingkat variable ini untuk mencapai sistem kinerja yang terbaik (Deswati, 2015).

Metode permukaan respon merupakan suatu strategi percobaan yang berguna jika respon dipengaruhi beberapa faktor dan tujuan percobaan adalah untuk mencari respon optimum. Metode ini mencakup masalah pemilihan rancangan percobaan yang cocok untuk optimasi dengan cara mencari tumpukan titik tengah dan metode penelusuran ruang faktor untuk mencapai daerah optimum dengan cepat (Trihaditia, 2015). *Response Surface Methodology (RSM)* digunakan untuk mempelajari hubungan antara response dengan beberapa faktor yang berpengaruh (Hidayat et.al., 2008). Keunggulan metode RSM ialah tidak

memerlukan data percobaan dalam jumlah besar dan tidak membutuhkan waktu yang lama karena data kombinasi percobaan telah ditentukan oleh program RSM.

Pada *Response Surface Methodology (RSM)* variabel bebas didefinisikan sebagai X_1, X_2, \dots, X_k dan diasumsikan sebagai variable kontinyu, sedangkan variable respon didefinisikan sebagai variable tak bebas Y (Montgomery, 2009). Rancangan percobaan yang umum digunakan pada RSM adalah Central Composite Design (CCD) dan Box-Behnken Design (BBD). Analisis menggunakan *Response Surface Methodology (RSM)* diawali dengan melakukan pengolahan data pada salah satu aplikasi dari RSM yaitu minitab yang dimana data yang diolah ialah menggunakan data hasil optimasi pada penelitian sebelumnya.