

BAB IV HASIL/PEMBAHASAN

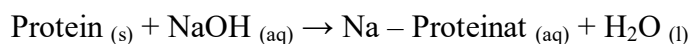
A. Karakteristik kitosan

Isolasi kitosan dari limbah kulit udang windu dan cangkang kerang darah dilakukan melalui beberapa tahapan. Tahap demineralisasi bertujuan menghilangkan mineral, terutama kalsium karbonat (CaCO_3) dan kalsium fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), dari bahan baku. Proses ini dilakukan dengan menambahkan HCl 1N. Penggunaan HCl berfungsi untuk melarutkan ion Ca^{2+} dalam bentuk CaCO_3 , menghasilkan CaCl_2 yang larut dalam air dengan produk samping gas CO_2 dan air (Mardiana, 2021). Pemanasan mempercepat proses perusakan mineral (Peter, 1995). Pengadukan mencegah meluapnya gas CO_2 selama demineralisasi berlangsung. Pencucian berfungsi menetralkan pH residu sekaligus melarutkan CaCl_2 dan H_3PO_4 (Mekawati et al., 2000; Masindi, 2017). Reaksi yang terjadi dalam proses demineralisasi sebagai berikut:



Tahap deproteinasi adalah langkah pertama dalam isolasi kitin dari kulit udang windu. Proses ini melibatkan penambahan NaOH 3,5% yang berfungsi menghilangkan protein dari bahan baku. NaOH bersifat basa kuat yang dapat merusak struktur protein (Astuti, 2023). Protein pada bahan baku memiliki ikatan hidrogen dan ikatan disulfida yang mempertahankan struktur tersier atau kuartenernya. Basa ini akan memecah ikatan-ikatan tersebut, menyebabkan denaturasi. Gugus asam amino ($-\text{NH}_2$) atau gugus karboksil ($-\text{COOH}$) dari protein bereaksi dengan ion hidroksida (OH^-) dari NaOH. Reaksi ini menghasilkan senyawa natrium proteinate (Na-Proteinat). Selama reaksi berlangsung, terjadi pelepasan ion hidrogen (H^+) dari gugus asam amino atau karboksil. Ion ini bergabung dengan ion OH^- dari NaOH, membentuk air (H_2O). Menurut Sugita et al. (2009) natrium proteinate yang terbentuk larut dalam larutan alkali (fase cair), sehingga memungkinkan

pemisahan protein dari bahan mentah. Reaksi yang terjadi pada tahap deproteinasi sebagai berikut :



Transformasi kitin menjadi kitosan dilakukan dengan proses penghilangan gugus asetil dari kitin menjadi amina pada kitosan yang dikenal dengan proses deasetilasi. Proses deasetilasi dilakukan dengan penambahan NaOH 50% pada kulit udang windu dan NaOH 60% pada cangkang kerang darah kemudian dipanaskan pada suhu 100°C. Berdasarkan penelitian (Citrowati et al., 2017) penggunaan suhu 100°C akan lebih efisien untuk digunakan dalam pembuatan kitosan karena lebih menghemat waktu dan energi namun tetap menghasilkan kitosan yang memiliki nilai derajat deasetilasi dan rendemen yang tinggi. Tujuan dari proses ini adalah untuk memecah gugus asetil (-CH₃CO) pada kitin menjadi gugus amina (NH₂) (Mardiana, 2021). Penambahan NaOH menyediakan gugus hidroksil untuk proses hidrolisis, yang memicu eliminasi gugus karbonil akibat adisi oleh hidroksil (Nurhamzah et al., 2024; Mardiana, 2021). Gugus karbonil (-C=O) pada gugus asetil rentan terhadap serangan nukleofilik oleh ion hidroksida (OH⁻). Ion hidroksida menyerang karbon karbonil dan membentuk intermedat tetrahedral. Intermedat ini terurai, melepas gugus asetil dalam bentuk ion asetat (CH₃COO⁻) dan menghasilkan gugus amina bebas (-NH₂) pada rantai polimer. Reaksi yang terjadi pada proses deasetilasi sebagai berikut :



Gugus asetil pada kitin dipecah menjadi gugus amina melalui reaksi hidrolisis basa. Proses ini terjadi ketika ion hidroksida (OH⁻) dari larutan basa menyerang gugus karbonil (-C=O) yang terdapat pada gugus asetil. Serangan nukleofilik ini menyebabkan terbentuknya intermedat tetrahedral yang tidak stabil. Akibat ketidakstabilan ini, intermedat mengalami dekomposisi, melepaskan ion asetat (CH₃COO⁻) sebagai produk sampingan dan menggantikan gugus asetil dengan gugus amina (-NH₂) pada struktur polimer.

Perubahan gugus asetil menjadi gugus amina ini menghasilkan kitosan (Masindi, 2017). Adapun kitosan yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Hasil kitosan a) kulit udang windu (*Penaeus monodon* Fab.); b) cangkang kerang darah (*Anadara granosa* L.); c) kitosan komersial *medium molecular weight Sigma-Aldrich*

1. Hasil Isolasi Kitosan

Hasil penelitian menunjukkan karakteristik kitosan yang berbeda. Kitosan limbah kulit udang windu yang dihasilkan berbentuk serbuk berwarna sedikit kecokelatan dan sedikit berbau, sedangkan kitosan dari limbah cangkang kerang darah berwarna putih keabuan tidak berbau dan kitosan komersial berwarna putih bersih tidak berbau (Gambar 10).

Kitosan yang telah dihasilkan dilakukan analisa untuk mengetahui hasil nilai rendemennya. Menurut (Natalia et al., 2021) bahwa efisiensi ekstraksi bahan baku dalam pembuatan kitosan dapat dilihat pada nilai rendemennya. Rendemen kitosan ditentukan berdasarkan persentase massa kitosan yang dihasilkan terhadap massa bahan baku. Rendemen kitosan yang dihasilkan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 7.

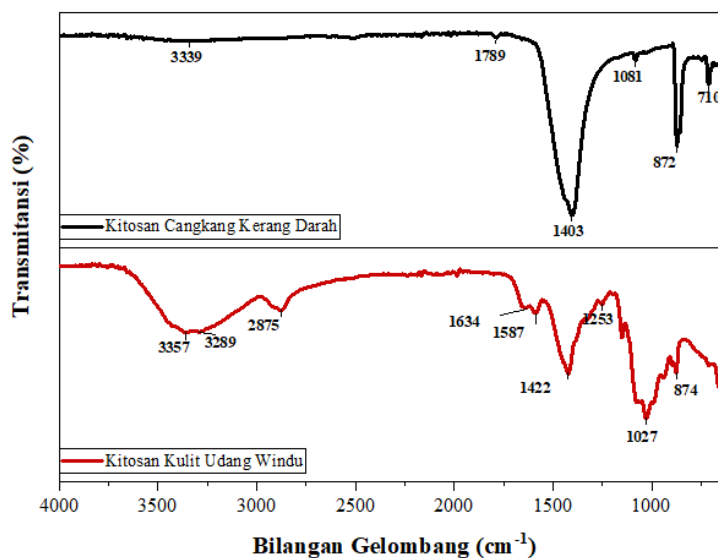
Tabel 7. Hasil rendemen kitosan

Parameter	Jenis Kitosan	
	Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.)	Kerang Darah (<i>Anadara granosa</i> L.)
Berat awal (g)	200	200
Berat hasil (g)	32,31	29,10
Rendemen (%)	16,16	14,55

Berdasarkan Tabel 7. Menunjukkan rendemen kitosan tertinggi pada kitosan kulit udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) sebesar 16,16%, sedangkan rendemen kitosan terendah pada kitosan cangkang kerang darah (*Anadara granosa* L.) sebesar 14,55%. Kitosan diperoleh dari hasil deasetilasi (penghilangan gugus asetil). Hasil rendemen yang mengalami penurunan dipengaruhi oleh konsentrasi NaOH. Hal ini sesuai dengan penelitian Citrowati et al. (2022) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi NaOH yang digunakan, maka semakin rendah rendemen kitosan. Menurut Purbowati, (2016) nilai rendemen yang tinggi bisa juga karena saat proses demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi tidak banyak yang hilang terbawa oleh pelarut selama pencucian (netralisasi).

2. Analisis Gugus Fungsi Kitosan Menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

Kitosan yang dihasilkan dianalisis menggunakan spektrofotometri FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) sebagai analisis gugus fungsi yang ada pada kitosan. Hasil analisis FTIR pada kitosan dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Spektrum FTIR kitosan limbah kulit udang windu dan cangkang kerang darah

Pada Gambar 11 diatas ditunjukkan perbandingan spektra FTIR Kitosan Kulit Udang Windu dan Cangkang Kerang Darah. Serapan yang teridentifikasi sebagai vibrasi *stretching* OH ditunjukkan pada bilangan gelombang 3357 dan 3339 cm^{-1} pada kitosan kulit udang dan cangkang kerang darah. Pada kitosan kulit udang terlihat pembentukan puncak lain pada area tersebut pada bilangan gelombang 3289 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi *stretching* N-H. Serapan yang lebih besar pada kitosan kulit udang menunjukkan jumlah gugus fungsi O-H dan N-H yang lebih banyak dibandingkan pada cangkang kerang darah. Puncak pada bilangan gelombang 2875 cm^{-1} teridentifikasi sebagai vibrasi *stretching* C-H (CH_2 dan CH_3). Puncak pada bilangan gelombang 1785 cm^{-1} menunjukkan vibrasi *stretching* C=O pada kitosan cangkang kerang darah. Pada cangkang kulit udang terlihat vibrasi *stretching* C=O pada bilangan gelombang yang lebih kecil yaitu 1634 cm^{-1} yang menunjukkan gugus fungsi C=O berdekatan dengan gugus N-H dan membentuk gugus fungsi Amida I. Keberadaan gugus fungsi N-H didukung dengan vibrasi *bending* N-H pada bilangan gelombang 1587 cm^{-1} (Amida II) dan vibrasi *stretching* C-N (Amida III) pada bilangan gelombang 1253 cm^{-1} (Chik et al., 2023; Chang et al., 2019). Vibrasi *bending* C-H ditunjukkan pada bilangan gelombang 1419 cm^{-1} . Pada cangkang kerang darah terlihat pembentukan puncak yang lebih tinggi dengan area serapan yang lebih lebar antara 1500-1200 cm^{-1} . Hal ini sesuai dengan penelitian Ma'rif & Hartati (2022), yang mengidentifikasi serapan pada bilangan gelombang 1419 cm^{-1} dengan puncak yang lebar dan tinggi. Menurut Siswoyo et al. (2019) yang melakukan ekstraksi kitosan dari cangkang kerang darah, pelebaran serapan yang terjadi pada area 1600–600 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan karboksil (C=O) yang dikaitkan dengan keberadaan kalsium karbonat (CaCO_3) yang juga didukung dengan puncak pada bilangan gelombang 713-700 cm^{-1} dari kalsium seperti pada puncak 710 cm^{-1} pada penelitian ini. Puncak pada bilangan gelombang 1027 cm^{-1} dan 1081 cm^{-1} terkait dengan vibrasi *stretching* gugus eter (C-O-C) pada kitosan kulit udang dan

cangkang kerang darah. Ikatan glikosidik yang khas pada kitosan ditunjukkan pada bilangan gelombang 874 cm^{-1} dan 872 cm^{-1} . Untuk membuktikan pembacaan pita serapan bilangan gelombang pada gugus fungsi kitosan hasil analisis FTIR dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Pembacaan hasil analisis FTIR untuk semua kitosan

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm^{-1})		
	Kitosan Komersial (Doğan, 2020).	Kitosan Limbah Kulit Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.)	Kitosan Limbah Cangkang Kerang Darah (<i>Anadara granosa</i> L.)
OH stretching	3422	3357	3339
N-H stretching		3289	
C-H stretching	2881	2875	Tidak nampak
C=O stretching	1647	1634	1789
N-H bending	1559	1587	Tidak nampak
C-H bending	1420	1422	1403
C-N stretching	1256	1253	Tidak nampak
C-O-C stretching	1031	1027	1081
Ikatan glikosidik	896	874	872
Ca-O	Tidak nampak	Tidak Nampak	710

3. Analisis Penentuan Nilai Derajat Deasetilasi Kitosan

Derajat deasetilasi adalah persentase gugus asetil yang berhasil dihilangkan selama proses deasetilasi kitin, dimana pemberian kitin dengan konsentrasi NaOH yang besar menyebabkan terhidrolisisnya gugus asetil dari gugus asetamida pada kitin. Derajat deasetilasi diukur menggunakan metode FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*). Metode ini digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada kitosan. Pada penelitian ini, gugus fungsi yang diamati adalah gugus hidroksil dan amida. Letak serapan amida kitosan memiliki nilai gelombang $1655\text{-}1310\text{ cm}^{-1}$, sedangkan nilai gelombang hidroksil $3550\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$. Derajat

deasetilasi untuk kulit udang windu dan kerang darah didapat dari percobaan menggunakan FTIR dan menghasilkan grafik seperti dalam Gambar 11 berikut ini.

Tahap penentuan derajat deasetilasi menggunakan spektrofotometer FTIR. Analisis spektrum FTIR untuk kitin dan kitosan dilakukan pada daerah gugus fungsi dan daerah sidik jari dengan frekuensi 4000 cm^{-1} – 650 cm^{-1} . Derajat deasetilasi kitosan ditentukan dengan metode *base line* berdasarkan spektrum FTIR yaitu diukur dari nilai absorpsi gelombang inframerah pada panjang gelombang 1655 cm^{-1} dan 3450 cm^{-1} . Presentase gugus asetil yang hilang selama proses deasetilasi disebut sebagai nilai derajat deasetilasi (Jannah et al., 2023). Data hasil perhitungan %DD dapat dilihat pada Tabel 9 berikut.

Tabel 9. Hasil penentuan nilai derajat deasetilasi kitosan

Sampel	Derajat Deasetilasi (%)	SNI 7949:2013 (BSN, 2013)
Kitosan Kulit Udang Windu	62,79	
Kitosan Cangkang Kerang Darah	67,52	Minimal 75%
Kitosan Komersial	86,04 (Widyastuti, 2023)	

Berdasarkan hasil perhitungan persen derajat deasetilasi (%DD) (Tabel 9). Kitosan dari kulit udang windu memiliki nilai derajat deasetilasi sebesar 62,79%, sedangkan kitosan dari cangkang kerang darah mencapai nilai yang lebih tinggi, yaitu 67,52%. Berdasarkan definisi oleh Silalahi et al. (2020), kitin dan kitosan dibedakan berdasarkan derajat deasetilasinya, di mana polimer dengan %DD di atas 60% disebut sebagai kitosan. Dengan demikian, semua sampel dalam penelitian ini, termasuk kulit udang windu dan cangkang kerang darah, dapat dikategorikan sebagai kitosan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya. Hasil nilai derajat deasetilasi kitosan dari cangkang kerang darah dalam penelitian ini

(67,52%) mendekati hasil yang diperoleh dalam penelitian Cakasana et al. (2014), yang mencatatkan nilai derajat deasetilasi pada cangkang kerang darah sebesar 69,72%. Hasil derajat deasetilasi kulit udang windu menunjukkan derajat deasetilasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Dompeipen (2017), yang melaporkan derajat deasetilasi kitosan dari kulit udang windu sebesar 53,25%. Menurut Cahyono (2018) derajat deasetilasi yang tinggi diduga dipengaruhi oleh proses deasetilasi kitin menjadi kitosan meliputi jumlah larutan alkali yang digunakan, waktu, dan suhu reaksi. Ikatan gugus asetil dalam kitin sangat sulit untuk dilepaskan, karena itu perlu konsentrasi NaOH dan suhu pemanasan yang lebih besar, hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Hargono & Djaeni, (2003), lebih besar konsentrasi NaOH yang digunakan, derajat deasetilasi kitosan yang didapat lebih besar.

B. Hasil Ekstraksi Pati Singkong (*Manihot esculenta* Crantz)

Penelitian pembuatan *film* bioplastik menggunakan pati singkong sebagai bahan utama. Preparasi pati singkong dilakukan melalui proses ekstraksi. Ekstraksi pati merupakan proses untuk mendapatkan pati dari suatu tanaman dengan cara memisahkan pati dari komponen lainnya yang terdapat pada tanaman tersebut (Rahman, 2018). Proses ekstraksi pati umbi singkong menggunakan metode Jau et al. (2021), dengan modifikasi yang dimulai dengan pengupasan, pencucian, dan penghalusan singkong menjadi bubur. Selanjutnya dilakukan penyaringan, pengendapan, pencucian ulang, pengeringan pada suhu 45°C, dan penghalusan menjadi serbuk pati.



Gambar 12. Pati Singkong Hasil Ekstraksi

Pati singkong yang dihasilkan memiliki karakteristik secara fisik berbentuk serbuk putih dan beraroma khas singkong (Gambar 12). Pati merupakan bentuk karbohidrat yang dapat ditemukan dibanyak tanaman dan tersusun atas dua fraksi utama, yaitu amilosa dan amilopektin (Mujiono & Sholehah, 2020). Hasil ekstraksi serta kadar pati total umbi singkong ditampilkan pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil ekstraksi dan kadar pati umbi singkong.

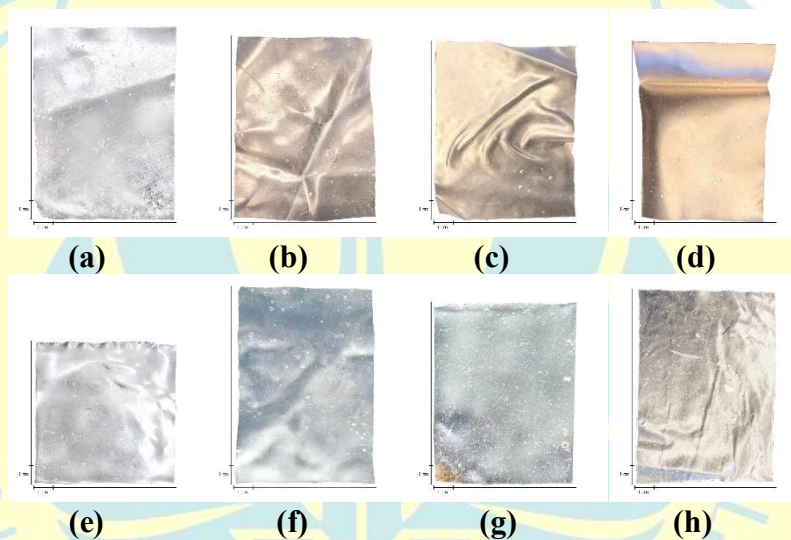
Parameter	Hasil Penelitian	Literatur (Jau et al., 2021)	SNI 01-2997-1996
Serbuk hasil ekstraksi (%)	22,35	21,71 - 22,58	-
Kadar pati (%)	71,32	51,77 - 61,21	Minimal 75%

Serbuk hasil ekstraksi pati singkong yang dihasilkan adalah 22,35% berada dalam rentang dalam penelitian yang dilakukan oleh Jau et al. (2021). Kadar pati yang didapatkan sebesar 71,32%, hasil yang lebih tinggi dari literatur dan mendekati kadar pati minimum yang ditetapkan berdasarkan SNI 01-2997-1996 (BSN, 1996). Faktor yang mempengaruhi kadar pati diantaranya usia umbi, varietas, dan proses pengolahan. Usia umbi memengaruhi kadar pati, dengan umbi singkong yang dipanen pada umur 7-9 bulan memiliki kadar pati optimal (Prihandana et al., 2007). Penundaan masa panen dapat menurunkan kadar pati. Hal ini disebabkan oleh proses lignifikasi atau pengayuan pada umbi, terutama pada bagian pangkal, yang mengakibatkan peningkatan komponen non-pati seperti serat dan lignin (Nurdjanah et al., 2012). Varietas juga berpengaruh signifikan terhadap kadar pati (Suhartini & Samidjo, 2024). Penelitian menunjukkan bahwa varietas tanaman memengaruhi kadar pati karena perbedaan genetik yang memengaruhi proses fisiologis dan biokimia dalam tanaman. Penelitian Irhami et al. (2019) pada ubi jalar menunjukkan bahwa varietas berpengaruh signifikan terhadap rendemen pati, suhu gelatinisasi, dan *swelling power*. Hal

ini menunjukkan bahwa perbedaan varietas dapat memengaruhi sifat fisik dan kimia pati yang dihasilkan. Selain itu, proses pencucian dan penyaringan basah dapat menyebabkan hilangnya partikel pati, baik kecil maupun besar, sehingga mengurangi kadar pati yang terukur.

C. Hasil Pembuatan *Film Bioplastik*

Pembuatan *film* bioplastik menggunakan metode *blending* meliputi pencampuran, pemanasan, dan pencetakan pada suhu 90°C (Muhaimin et al., 2019), dengan modifikasi. Hasil *film* bioplastik dapat dilihat pada Gambar 13 berikut.



Gambar 13. Hasil *Film* Bioplastik (a) kontrol negatif (tanpa penambahan kitosan); (b) konsentrasi kitosan kulit udang windu 2%; (c) udang windu 3%; (d) udang windu 4%; (e) kontrol postif; (f) konsentrasi kitosan cangkang kerang darah 2%; (g) kerang darah 3%; (h) kerang darah 4%.

Film bioplastik yang dihasilkan berupa lembaran tipis dan elastis dengan variasi penampakan fisik berdasarkan jenis kitosan yang digunakan. Tanpa kitosan, *film* berwarna putih jernih kedap (Gambar 13. (a)). Penambahan kitosan komersial menghasilkan *film* bening dan halus karena kitosan tersebut berwarna putih (Gambar 13. (e)). Penambahan kitosan udang windu menghasilkan *film* kekuningan, dengan warna yang semakin pekat seiring peningkatan konsentrasi kitosan, akibat warna kuning kecoklatan serbuk kitosan (Gambar 13. (b)-(d)). *Film* bioplastik dengan kitosan cangkang

kerang darah berwarna putih keabu-abuan, dengan permukaan yang tidak merata, agak kasar, karena komponen yang tidak homogen dan adanya partikel-partikel kecil yang tidak larut sempurna (Gambar 13. (f)-(h)). Bahan utama pati singkong hasil ekstraksi yang dicampurkan dengan aquades kemudian pembuatan larutan kitosan dalam asam asetat 1% kemudian dicampurkan dengan kitosan dan gliserol. Saat pati dipanaskan dalam air, struktur granula pati rusak, menyebabkan pelepasan amilosa dan amilopektin ke dalam larutan. Proses ini menghasilkan gel pati yang berfungsi sebagai matriks utama dalam *film* bioplastik (Adikrisna, 2011; Tanjung & Munte, 2023). Selanjutnya penambahan kitosan. Fungsi kitosan untuk memperkuat struktur *film* bioplastik berbahan dasar pati (Said, 2018). Kitosan yang bersifat kationik karena gugus amino (-NH₂) terprotonasi pada pH rendah, berinteraksi dengan gugus hidroksil (-OH) dari pati melalui ikatan hidrogen dan interaksi elektrostatik yang memperkuat jaringan molekuler dalam *film* bioplastik (Winiati et al., 2012; Ridlo et al., 2023). Kitosan dilarutkan dengan asam asetat karena kitosan sukar larut dalam air dan dapat larut dengan baik dengan menggunakan pelarut asam asetat (Azzahra et al., 2024). Menurut Pratiwi et al. (2016) penambahan kitosan menyebabkan terbentuknya interaksi dengan rantai polimer selulosa dalam bentuk ikatan hidrogen, yang bertujuan untuk meningkatkan kecepatan respon viskoelastis pada polimer dan meningkatkan mobilitas rantai polimer.

Gliserol berfungsi untuk meningkatkan elastisitas dari *film* bioplastik yang telah dihasilkan (Said, 2018). Gliserol dengan gugus hidroksilnya, membentuk ikatan hidrogen dengan pati dan kitosan, yang mengurangi gaya antar molekul di dalam matriks sehingga *film* bioplastik menjadi lebih lentur dan tidak mudah rapuh (Safitri, 2017; Septiati & Karmini, 2023). Pemanasan bertujuan untuk proses gelatinisasi pada pati yang ditandai dengan mengentalnya larutan dan perubahan warna larutan dari keruh menjadi jernih (Syafutri et al., 2023). Pemanasan dan penguapan air menyebabkan komponen pati, kitosan, dan gliserol saling berikatan untuk membentuk *film* bioplastik.

D. Hasil Uji Ketebalan

Pengujian ketebalan *film* bioplastik dilakukan dengan menggunakan alat mikrometer digital yang memiliki ketelitian 0,01 mm dimana nilai ketebalan *film* bioplastik diperoleh dari hasil rata-rata pengukuran yang dilakukan pada lima titik berbeda. Uji ketebalan dilakukan karena diketahui memiliki hubungan terhadap sifat ketahanan air pada *film* bioplastik, dimana semakin tebal ukuran *film* bioplastik maka ketahanan air pada *film* bioplastik juga semakin meningkat (Setiani et al., 2013). Hasil analisis ketebalan *film* bioplastik dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Nilai rata-rata ketebalan *film* bioplastik

Perlakuan	Komposisi	Ketebalan (mm)	JIS 2-1707
A ₁	Pati + kitosan udang windu 2%	0,19 ± 0,02	Maks. 0,25 mm
A ₂	Pati + kitosan udang windu 3%	0,21 ± 0,00	
A ₃	Pati + kitosan udang windu 4%	0,25 ± 0,02	
B ₁	Pati + kitosan kerang darah 2%	0,21 ± 0,01	
B ₂	Pati + kitosan kerang darah 3%	0,23 ± 0,01	
B ₃	Pati + kitosan kerang darah 4%	0,25 ± 0,03	
K ⁺	Kitosan komersial	0,20 ± 0,02	
K ⁻	Pati tanpa penambahan kitosan	0,22 ± 0,01	

Keterangan:

- Nilai angka merupakan *mean ± standard error* yang diuji dengan *two way anova* pada signifikansi $\alpha = 0.05$.

Berdasarkan hasil pada Tabel 11. Ketebalan *film* bioplastik menunjukkan rentang nilai antara 0,19 mm hingga 0,25 mm. Ketebalan tertinggi pada masing-masing kelompok perlakuan yaitu ditemukan pada perlakuan dengan konsentrasi kitosan tertinggi, yaitu 4%. Pada kelompok perlakuan A (Pati + kitosan udang windu), ketebalan tertinggi terdapat pada perlakuan A₃ dengan nilai 0,25 ± 0,02 mm. Sementara itu, pada kelompok perlakuan B (Pati + kitosan kerang darah), ketebalan tertinggi terdapat pada perlakuan B₃ dengan nilai 0,25 ± 0,03 mm. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan kitosan mempengaruhi ketebalan *film* bioplastik, meskipun perbedaan ketebalan antar sampel tidak terlalu signifikan.

Ketebalan kontrol positif (K+) adalah $0,20 \pm 0,02$ mm, lebih rendah dibandingkan sebagian besar perlakuan, terutama pada konsentrasi kitosan 3% dan 4%. Sementara kontrol negatif (K-) memiliki ketebalan $0,22 \pm 0,01$ mm, yang mendekati perlakuan dengan konsentrasi kitosan rendah, namun lebih rendah dari perlakuan dengan konsentrasi kitosan lebih tinggi. Berdasarkan data di Tabel 11, terlihat bahwa penambahan kitosan cenderung meningkatkan ketebalan *film* bioplastik. Penambahan kitosan dalam pembuatan *film* bioplastik dapat meningkatkan jumlah ikatan hidrogen, baik secara antarmolekuler maupun intramolekuler, pada struktur bioplastik (Widiyawati, 2024). Semakin banyak ikatan hidrogen yang terbentuk, maka struktur *film* bioplastik akan semakin rapat dan kompak, sehingga ketebalan bioplastik juga akan meningkat (Agustina et al., 2024; Rohman, 2016).

Penelitian oleh Marlina & Achmad (2021) mendukung hasil ini, menyatakan bahwa variasi distribusi kitosan dan pati dalam matriks bioplastik dapat menyebabkan ketebalan yang tidak konsisten. Selain itu, peningkatan massa yang terlarut dalam bioplastik juga dapat menambah ketebalan *film*, seperti yang dijelaskan oleh Wahyuningtyas et al. (2019). Ketebalan *film* bergantung pada jumlah total padatan dalam larutan dan ketebalan cetakan. *Film* yang terbentuk akan lebih tebal jika volume larutan yang dituangkan lebih banyak, dan jumlah padatan yang lebih tinggi akan menghasilkan *film* yang lebih tebal.

Berdasarkan *Japanese Industrial Standart* (JIS) dalam penetapan ketebalan bioplastik yaitu sebesar $\leq 0,25$ mm. Dari penelitian ini rentang nilai ketebalan adalah sebesar 0,19-0,25 mm sehingga nilai ketebalan *film* bioplastik yang dihasilkan memenuhi *Japanese Industrial Standart* (JIS).

E. Hasil Uji Ketahanan Air

Uji daya serap dan ketahanan air dilakukan untuk mengukur kemampuan bioplastik dalam menyerap serta menahan air. Semakin tinggi daya serap air, semakin rendah ketahanan bioplastik terhadap air. Pengujian dilakukan dengan mencelupkan sampel ke dalam air hingga bobotnya konstan. Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi kitosan dan interaksinya

dengan jenis kitosan berpengaruh signifikan terhadap daya serap dan ketahanan air ($p < 0,05$). Hal ini disebabkan oleh sifat kimia dan fisik kitosan yang tidak cukup berpengaruh tanpa variasi konsentrasi (Myllytie et al., 2009). Hasil analisis daya serap dan ketahanan air *film* bioplastik dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Nilai rata-rata daya serap dan ketahanan air *film* bioplastik

Perlakuan	Daya Serap Air (%)	Ketahanan Air (%)
A ₁	48,09 ± 4,71 ^{bcd}	51,91±4,71 ^{abc}
A ₂	28,26 ± 7,96 ^{abc}	71,74±7,96 ^{cbd}
A ₃	19,48 ± 6,20 ^{ab}	80,52± 6,20 ^{cd}
B ₁	81,71 ± 6,32 ^d	18,29±6,32 ^a
B ₂	67,51 ± 8,94 ^d	32,49±8,94 ^a
B ₃	59,81 ± 13,82 ^{cd}	40,19±13,82 ^{ab}
K ⁺	11,39 ± 7,46 ^a	88,61±7,46 ^d
K ⁻	62,22 ± 19,67 ^d	37,78±19,67 ^a

Keterangan:

- Nilai angka merupakan *mean ± standard error* yang diuji dengan *two way anova* pada signifikansi $\alpha = 0.05$.
- Angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada $\alpha = 5\%$.

Daya serap air *film* bioplastik berbanding terbalik dengan ketahanan air, dengan rentang 19,48% hingga 81,71% untuk daya serap air dan 18,29% hingga 80,52% untuk ketahanan air. Nilai tertinggi daya serap air terdapat pada perlakuan B1 (81,71 ± 6,32%), sedangkan nilai terendah pada A3 (19,48 ± 6,20%). Sebaliknya, ketahanan air tertinggi terdapat pada perlakuan A3 (80,52 ± 6,20%), sedangkan nilai terendah pada B1 (18,29 ± 6,32%).

Pada kelompok perlakuan A, daya serap air berkisar antara 19,48% hingga 48,09%, dengan peningkatan perlakuan yang cenderung menurunkan daya serap air seiring dengan peningkatan ketahanan air. Sebaliknya, kelompok perlakuan B memiliki daya serap lebih tinggi, berkisar antara 59,81% hingga 81,71%, yang diikuti dengan ketahanan air yang lebih rendah. Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi kitosan menurunkan daya serap air *film* bioplastik karena kitosan tidak larut dalam air (Yustinah et

al., 2023). Hal ini juga sejalan dengan penelitian Rozzana et al. (2022), yang menyatakan bahwa semakin kecil persen air yang diserap, semakin besar ketahanan air bioplastik.

Penelitian Muhammad et al. (2021) menunjukkan bahwa bioplastik dari pati biji alpukat dengan kitosan memiliki daya serap air lebih tinggi dibandingkan bioplastik tanpa kitosan, karena kitosan meningkatkan interaksi air dengan matriks pati. Penelitian ini sejalan dengan Santoso et al. (2019), yang menemukan bahwa rasio kitosan yang lebih tinggi memengaruhi daya serap air akibat sifat hidrofilik pati dan kitosan, yang mengandung gugus hidroksil yang memperkuat kemampuan menyerap air.

Cangkang kerang darah mengandung mineral CaCO_3 yang tinggi (Bharatham et al., 2014). Kandungan kalsium karbonat yang tinggi meningkatkan daya serap air pada *film* bioplastik, sehingga menurunkan ketahanan terhadap air (Rohmad, 2018). Kontrol positif (K+) memiliki ketahanan air tertinggi sebesar $88,61 \pm 7,46\%$, mendekati nilai A3, sementara kontrol negatif (K-) sebesar $37,78 \pm 19,67\%$, mendekati nilai B3 dan B2. Hasil ini diperkuat oleh penelitian Tan et al. (2022), yang menyatakan bahwa *film* bioplastik dari pati murni lebih cepat larut dalam air, menunjukkan ketahanan terhadap air yang lebih rendah. Sedangkan *film* bioplastik dari pati-kitosan memiliki ketahanan air yang lebih tinggi karena kitosan meningkatkan stabilitas *film* dalam air.

Molekul air masuk ke dalam *film* bioplastik melalui difusi selama pengujian ketahanan air. Pati singkong dan plasticizer gliserol memiliki sifat hidrofilik, yang berarti memiliki kecenderungan mengikat dan larut dalam air (Eristina, 2018). Kitosan yang tidak larut dalam air menyebabkan semakin tinggi konsentrasinya, semakin rendah persentase daya serap air, dan semakin tinggi ketahanan air pada *film* bioplastik. Penambahan gliserol sebagai plasticizer juga berpengaruh, meningkatkan permeabilitas terhadap gas, uap air, dan zat terlarut (Rozzana et al., 2022). Penelitian Lazuardi & Cahyaningrum, (2013) menunjukkan ketahanan air bioplastik kitosan-pati pada rentang 78,6% - 97,2%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa

perlakuan K⁺ dan A3 memiliki ketahanan air yang sebanding dengan penelitian tersebut, sedangkan perlakuan lainnya lebih rendah. Hal ini menegaskan bahwa jenis, sumber, dan konsentrasi kitosan sangat memengaruhi daya serap dan ketahanan air *film* bioplastik.

F. Hasil Uji Biodegradabilitas

Pengujian biodegradabilitas bertujuan untuk mengukur laju degradasi bioplastik untuk memperkirakan waktu terurainya. Sampel bioplastik ditanam dalam tanah dengan menjaga suhu dan kelembaban stabil, lalu diamati secara visual selama 7 hari menggunakan metode *soil burial test* (Permana et al., 2021). Laju biodegradasi diukur berdasarkan persentase perubahan bobot sampel. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi kitosan memiliki pengaruh signifikan terhadap laju degradasi *film* bioplastik ($p < 0,05$). Nilai rata-rata laju biodegradasi *film* bioplastik ditunjukkan pada Tabel 13.

Tabel 13. Nilai rata-rata laju biodegradasi *film* bioplastik

Perlakuan	Laju biodegradasi (%)	JIS 2-1707 (Febrianti et al., 2023)
A ₁	50,8 ± 6,07 ^a	
A ₂	58,7 ± 5,90 ^{abc}	
A ₃	74,9 ± 2,94 ^c	
B ₁	45,1 ± 9,41 ^a	<60% dalam 7 hari
B ₂	49,8 ± 3,97 ^a	
B ₃	61,0 ± 5,15 ^{abc}	
K ⁺	71,8 ± 2,66 ^{bc}	
K ⁻	56,2 ± 2,77 ^{ab}	

Keterangan:

- Nilai angka merupakan *mean ± standard error* yang diuji dengan *two way anova* pada signifikansi $\alpha = 0.05$.
- Angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada $\alpha = 5\%$.

Berdasarkan hasil penelitian (Tabel 13) laju biodegradasi tertinggi terdapat pada perlakuan A3 (konsentrasi kitosan kulit udang windu 4%) dengan nilai

74,9 ± 2,94% dan laju biodegradasi terendah terdapat pada perlakuan B1 (konsentrasi kitosan cangkang kerang darah 2%) sebesar 45,9 ± 2,94%. Gaur et al. (2020) menjelaskan bahwa mikroorganisme menggunakan karbon dari polimer untuk pertumbuhannya, yang diikuti dengan degradasi polimer. Enzim ekstraseluler memecah polimer rantai panjang menjadi monomer berukuran kecil yang mudah digunakan mikroba sebagai sumber energi.

Laju biodegradasi kelompok A meningkat seiring kenaikan konsentrasi kitosan, dari 50,8 ± 6,07% (A1) hingga 74,9 ± 2,94% (A3) sebagai nilai tertinggi. Sebaliknya, kelompok B menunjukkan laju yang lebih rendah, mulai 45,9 ± 2,94% (B1) hingga 61,0 ± 5,15% (B3). Kontrol positif (K⁺) dengan kitosan komersial mencatat 71,8 ± 2,66%, mendekati A3, sementara kontrol negatif (K⁻) sebesar 56,2 ± 2,77%, lebih tinggi dari kelompok perlakuan B namun lebih rendah dari kelompok perlakuan A. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Yustinah et al. (2023), yang menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi kitosan mempercepat laju biodegradasi bioplastik.

Perbandingan antara jenis kitosan menunjukkan bahwa kitosan dari kulit udang windu (perlakuan A) lebih efektif dibandingkan dengan kitosan dari cangkang kerang darah (perlakuan B). Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Winiati & Septiani (2013), yang menyatakan bahwa kitosan dengan derajat deasetilasi yang lebih rendah dapat meningkatkan biodegradasi. Selain itu, karakteristik kitosan seperti struktur kimia dan sifat fisik juga memengaruhi perilaku biodegradasinya (Solekah, 2021)

Penelitian Masahid et al. (2023) menunjukkan bahwa bioplastik yang terbuat dari pati singkong dengan penambahan gliserol memiliki laju biodegradasi yang cukup tinggi, namun tidak setinggi *film* bioplastik dari kitosan kulit udang windu.

G. Hasil Kuat Tarik dan Elongasi

Sifat mekanik pada *film* bioplastik salah satunya dapat diketahui dari uji tarik. Uji tarik adalah pengujian material untuk mengetahui respons material ketika diberikan gaya, sehingga dapat diketahui sifat material

tersebut, yang dianalisis melalui kuat tarik dan elongasi (Salindeho et al., 2013). Nilai kuat tarik dan elongasi *film* bioplastik ditunjukkan pada Tabel 14.

Tabel 14. Nilai sifat mekanik *film* bioplastik

Perlakuan	Kuat Tarik (Mpa)	Elongasi (%)
A ₁	0,98	187
A ₂	1,07	171
A ₃	1,27	157
B ₁	0,68	221
B ₂	0,78	211
B ₃	1,17	204
K ⁺	1,27	153
K ⁻	0,35	93
JIS 2-1707	≥ 0,3923 MPa	Minimal 70%

Kuat tarik

Kuat tarik adalah gaya maksimum yang diberikan pada *film* bioplastik hingga putus, digunakan untuk mengukur ketahanan dan keelastisan bahan. Prosedur pengujian kuat tarik mengacu pada *American Society for Testing and Material* (ASTM- D638). Berdasarkan hasil pada Tabel 15. rentang kuat tarik pada semua perlakuan adalah antara 0,68 MPa hingga 1,27 MPa. Pada kelompok perlakuan A, nilai kuat tarik tertinggi ditemukan pada perlakuan A3 dengan nilai 1,27 MPa, sedangkan kuat tarik terendah terdapat pada perlakuan A1 dengan nilai 0,98 MPa. Pada kelompok perlakuan B, nilai kuat tarik tertinggi ditemukan pada perlakuan B3 dengan nilai 1,17 MPa, sedangkan kuat tarik terendah terdapat pada perlakuan B1 dengan nilai 0,68 MPa. Hasil ini sesuai dengan penelitian Afif et al. (2018), yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi kitosan, semakin banyak ikatan hidrogen yang terbentuk, yang membuat struktur *film* bioplastik lebih rapat dan kaku. Jika dibandingkan dengan kontrol positif (K+) hasil menunjukkan bahwa

perlakuan A3 memberikan hasil yang serupa dengan kontrol positif dalam hal kuat tarik. Sedangkan pada kontrol negatif (K-), nilai kuat tarik sangat rendah, hanya 0,35 MPa, yang jauh lebih rendah dibandingkan semua perlakuan lainnya. Hal ini didukung oleh *film* bioplastik akan memperkuat ikatan hidrogen, sehingga ikatan kimia dalam *film* bioplastik menjadi lebih kuat dan sulit untuk diputus. Kitosan sebagai biopolimer pencampur, memiliki gugus fungsi amina, hidroksil primer, dan sekunder, yang menyebabkan kitosan memiliki kereaktifan kimia tinggi dan dapat membentuk ikatan hidrogen antar rantai amilosa dan amilopektin dalam pati. Ikatan hidrogen tersebut meningkatkan sifat mekanik *film* bioplastik (Dallan et al., 2007; Afif et al., 2018).

Dalam penelitian lain, Widyaningrum et al. (2020) menunjukkan bahwa bioplastik berbahan pati singkong dan *polyvinyl alcohol* (PVA) memiliki nilai kuat tarik sebesar 50,361 N/mm². Selain itu, penelitian Faradilla (2023) tentang bioplastik berbahan kitosan udang windu dan karagenan menunjukkan rentang nilai kuat tarik 3,65 MPa hingga 39,391 MPa, dengan konsentrasi kitosan 4 g tanpa karagenan menghasilkan 3,65 MPa dan dengan penambahan PEG 1000 3% menghasilkan 39,391 MPa. Penelitian Widayastuti (2023) menunjukkan bahwa bioplastik berbahan tepung tapioka, kitosan cangkang kerang darah, dan gliserol memiliki nilai kuat tarik tertinggi 0,75 MPa pada komposisi 65% tepung tapioka, 35% kitosan, dan 5 mL gliserol. Menurut Widyaningrum et al. (2020), *film* bioplastik komersial memiliki nilai kuat tarik sebesar 43,807 MPa.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa *film* bioplastik dalam penelitian ini telah memenuhi nilai minimal standar JIS 2-1707 (Febrianti et al., 2023). *Film* bioplastik berbahan kitosan kulit udang windu dan kitosan cangkang kerang darah menunjukkan hasil yang lebih baik.

Elongasi

Elongasi merupakan perubahan panjang maksimum *film* sebelum terputus, diukur dengan membandingkan panjang bahan sebelum dan setelah uji tarik. Pengujian elongasi bertujuan untuk mengetahui gaya maksimum

yang diperlukan agar *film* dapat meregang atau memanjang (Purwanti, 2010), dengan prosedur yang mengacu pada ASTM D638. Berdasarkan hasil pada Tabel 15, rentang elongasi yang diperoleh dari data perlakuan adalah antara 93% hingga 221%. Pada kelompok perlakuan A, nilai tertinggi pada perlakuan A1 dengan nilai 187%, sedangkan nilai terendah terdapat pada perlakuan A3 dengan nilai 157%. Elongasi tertinggi pada kelompok perlakuan B ditemukan pada B1 (221%), dan nilai elongasi cenderung menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi kitosan, dengan B3 menunjukkan nilai elongasi terendah di kelompok B (204%). Nilai elongasi berbanding terbalik dengan kuat tarik, menurun seiring peningkatan konsentrasi kitosan sebagai penguat. Kontrol negatif memiliki sifat mekanik terendah karena tidak adanya penguat. Peningkatan konsentrasi kitosan meningkatkan kuat tarik tetapi menurunkan elongasi (Nugraha et al., 2020).

Jika dibandingkan dengan kontrol, perlakuan A3 (kitosan udang windu 4%) memiliki elongasi yang mendekati kontrol positif (K+), yaitu 157% berbanding 153%. Namun, perlakuan B1 (kitosan kerang darah 2%) memiliki elongasi yang jauh lebih tinggi (221%) dibandingkan dengan K+ (153%). Menurut Ginting et al. (2016), penambahan kitosan dapat mengurangi jarak antar molekul karena peningkatan ikatan hidrogen antara molekul kitosan dan pati. Hal ini menyebabkan *film* bioplastik menjadi lebih kaku dan kurang elastis. Selain itu, penambahan gliserol pada *film* bioplastik mempengaruhi sifat mekanik, terutama elongasi. Gliserol berfungsi sebagai *plasticizer* yang mengurangi interaksi antar polimer dan meningkatkan jarak antar molekul, sehingga elongasi bioplastik dapat meningkat (Ramlan, 2022). Namun, jika penambahan gliserol berlebihan, struktur *film* menjadi lebih longgar dan kurang kuat, yang dapat menurunkan kekuatan tarik bioplastik.

Dalam penelitian lain, *film* bioplastik berbahan pati singkong dan PVA dengan konsentrasi pati singkong 5,5 gram, gliserol 0,275 gram, dan PVA 5,5 gram memiliki nilai elongasi sebesar 4,363% (Widyaningrum et al., 2020). Bioplastik berbahan biji durian dan *plasticizer* gliserol dengan bahan pengisi CaCO₃ memiliki nilai elongasi berkisar antara 10,11% hingga 16,2% (Haryati

et al., 2017). Bioplastik dengan CaCO_3 dari cangkang kerang darah dan gliserol memiliki nilai elongasi antara 18,62% hingga 55,99% (Diyana & Widyastuti, 2023). Sementara itu, bioplastik berbahan kitosan udang windu dan karagenan dengan pemlastis polietilen glikol (PEG) memiliki nilai elongasi berkisar antara 3,50% hingga 18,50%, dengan nilai tertinggi 18,50% pada perlakuan A3B2 (Faradilla, 2023).

Sehingga dapat disimpulkan bahwa *film* bioplastik yang berbahan kitosan kulit udang windu dan kitosan cangkang kerang darah memiliki nilai elongasi yang berkisar antara 157% hingga 221%, yang memenuhi standar yang ada dan memiliki nilai yang lebih baik dibandingkan *film* bioplastik berbahan pati singkong dan PVA (4,363%), *film* bioplastik biji durian (10,11% - 16,2%), serta *film* bioplastik dengan CaCO_3 dari cangkang kerang darah (18,62% - 55,99%). Nilai elongasi *film* bioplastik tersebut juga lebih tinggi daripada *film* bioplastik komersial yang memenuhi standar minimal 70% sesuai *Japanese Industrial Standard* (JIS 2-1707).

Berdasarkan nilai sifat mekaniknya maka *film* bioplastik yang dihasilkan pada penelitian ini dengan elastisitas tinggi dan kuat tarik rendah dapat diaplikasikan sebagai aplikasi kemasan makanan fleksibel, kantong sampah, pembungkus makanan segar, dan *film* mulsa pertanian untuk menutupi tanah, mengendalikan gulma, serta menjaga kelembapan tanah karena dapat melindungi produk tanpa memerlukan kuat tarik tinggi (Ghasemlou et al., 2014).