

Aktivitas Antioksidan Kitosan dengan Kombinasi Gambir dan Glukosa Sebagai Pengawet Alami untuk Produk Olahan Perikanan

*Antioxidant Activity of Chitosan Combine Gambir and Glucose as a Natural Preservative
for Fisheries Products*

Selly Ratna Sari^{1*}, Susiana², Guttifera¹, Raudhatus Sa'daah³

¹Program Studi Ilmu Perikanan, Fakultas Pertanian, Ilir Timur I, Sumatera Selatan 30128,
Sumatera Selatan, Palembang, Indonesia

²Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sjakhyakirti, Gede 32 Ilir
30145, Sumatera Selatan, Palembang, Indonesia

³Program Studi Teknologi Pangan, Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Sriwijaya, Jl
Srijaya Negara Bukit Besar 30139, Sumatera Selatan, Palembang, Indonesia

^{*)}Penulis untuk korespondensi: sellyratnasari@uss.ac.id

ABSTRACT

The purposed study was to re-optimize preservation before it becomes a preservative solution, so this study was carried out to find the right formulation between glucose and gambir concentrations. The experimental design used was a complete Randomized Rancangan conducted with three groups. The treatment was gambir concentration (A): A1 = 2% A2 = 4% and A3 = 6%, using the same concentration of chitosan and glucose 1%. The research carried out during the proposal included sample preparation and modification between glucose chitosan and gambir into a preservative solution. Antioxidant testing is testing using the DPPH method The best antioxidant in the A1 treatment with the lowest IC50 value of 75.91% and the highest brown color in the A3 treatment, namely the treatment with a gambir concentration of 6%.

Keywords: antioxidant, glucose, gambir, chitosan, preservatives

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan kembali pengawetan sebelum menjadi larutan pengawet, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mencari formulasi yang tepat antara konsentrasi glukosa dan gambir. Rancangan Percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak lengkap yang dilakukan dengan tiga kelompok. Perlakuan adalah konsentrasi gambir (A): A1 = 2% A2 = 4% dan A3 = 6%, menggunakan konsentrasi kitosan dan glukosa yang sama 1%. Penelitian yang dilakukan saat pengusulan meliputi preparasi sampel dan modifikasi antara kitosan glukosa dan gambir menjadi suatu larutan pengawet. Pengujian antioksidan yaitu pengujian menggunakan metode DPPH Antioksidan terbaik pada perlakuan A1 dengan nilai IC50 terendah sebesar 75,91% dan warna coklat tertinggi pada perlakuan A3 yaitu perlakuan dengan konsentrasi gambir 6%.

Kata Kunci: antioksidan, glukosa, gambir, kitosan, pengawet

PENDAHULUAN

Produk perikanan saat ini masih mencari formulasi yang tepat dan bahan yang dapat menggantikan pengawet kimia ke pengawet alami. Hasil perikanan di Indonesia sangat berlimpah. Hasil perikanan yang berlimpah menjadi permasalahan ketika

belum menemukan solusi dalam pengawetan. Oleh karena itu diperlukan formulasi yang tepat serta kombinasi antara beberapa pengawet. Urgensi penelitian adalah melihat jumlah antioksidan tertinggi pada formulasi atau kombinasi pengawetan. Selain itu produksi perikanan yang berlimpah ditargetkan tahun 2022 mencapai 7,13 miliar

dolar menjadi salah satu strategi pemulihan ekonomi (Widiati 2021).

Penelitian sebelumnya meneliti pengawet alami untuk menghambat bakteri gram positif dan negatif tetapi masih belum optimal. Hal tersebut mendorong untuk mencari kombinasi yang tepat. Kombinasi dengan memanfaatkan limbah cangkang udang yang dijadikan kitosan sehingga limbah tersebut dapat lebih berguna dan memiliki nilai lebih. Bahan baku yang berlimpah dan mudah didapatkan seperti gambir. Gambir merupakan tanaman khas di Desa Toman, Kecamatan Babat Toman Banyuasin, Sumatera Selatan. Gambir terbukti dapat menghambat bakteri *P. aeruginosa* karena mengandung senyawa katekin (Suparno et al. 2020). Kombinasi yang telah dilakukan adalah penelitian kitosan monosakarida kompleks dapat menghambat bakteri *P. aeruginosa* dan *B. subtilis*, hasil terbaik dengan monosakarida yaitu glukosa dan galaktosa (Sari et al. 2019) sedangkan fruktosa terbaik menghambat bakteri *V. cholerae* (Sari et al. 2020). Penelitian tersebut menghasilkan antioksidan yang menghasilkan pengawet alami. Akan tetapi ketiga hal tersebut belum pernah dilakukan kombinasi. Kombinasi tersebut diharapkan dapat lebih optimal serta fungsional dalam pengawetan.

Aplikasi gambir terhadap ikan asap terbukti dapat menghasilkan jumlah bakteriyang lebih sedikit yaitu 2,36 Log Cfu/g (Sari et al. 2019). Kitosan dengan monosakarida dapat menghambat bakteri patogen pada surimi ikan gabus (Lestari et al. 2019). Penggunaan pengawet alami tersebut dilakukan secara terpisah sehingga hasil yang dilakukan belum optimal dan spesifik terhadap beberapa bakteri. Pengawetan ikan saat ini masih banyak menggunakan bahan kimia. Sejalan dengan Fokus optimalisasi produk hilirisasi dan rancangan strategi PT tentang pengolahan perikanan.

Oleh karena itu diperlukan pengawetan kombinasi yang tepat serta maksimal dalam menghambat bakteri serta memiliki fungsi antioksidan. Kombinasi antara kitosan, glukosa dan gambir menjadi larutan yang dapat mengawetkan makanan atau produk

olahan perikanan. Hal ini yang melatarbelakangi penelitian untuk meningkatkan antioksidan dari larutan kombinasi kitosan, glukosa dan gambir. Penelitian ini bertujuan khusus untuk mengoptimalkan kembali pengawetan sebelum menjadi larutan pengawet, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mencari formulasi yang tepat pada konsentrasi gambir modifikasi kitosan dan glukosa. Studi kelayakan penelitian ini adalah larutan berpotensi sebagai pengawet alami karena lebih optimal antioksidan. Pengawetan ini harus segera dilakukan agar dapat menyelesaikan masalah pengurangan limbah, pascapanen dan alternatif pengawet alami yang fungsional.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Bahan utama penelitian ini adalah kitosan dari PT. Monodon, Tambahan bahan antara lain glukosa, gambir, dan aquades. Bahan kimia yang digunakan untuk analisa yaitu 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) merek Company Manufacturer Sigma Aldrich, metanol, alkohol 70%, spiritus, asam asetat (CH_3COOH), trikloroasetat merek Merck.

Alat yang digunakan meliputi *aluminium foil* merek best fresh, autoklaf merek Hirayama, botol semprot, bunsen, cawan petri, erlenmeyer, gelas piala (*beaker glass*), gelas ukur, incubator merek memmert, jarum ose, kapas, kertas saring (kertas cakram) merek macheney Nagel, kuvet, labu ukur, *Laminar air flow* merek BIOBASE, *magnetic stirrer*, mikropipet, neraca analitik, pemanas lisrik (*hot plate*), penggaris, pinset, pipet tetes, spatula, spektrofotometer, tabung reaksi, timbangan analitik merek Sartorius, tip dan *Vortex*.

Metodologi Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Tahapan dalam penelitian yaitu pembuatan larutan kompleks kitosan glukosa gambir dengan perbedaan konsentrasi gambir yang digunakan. Adapun Rancangan Percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak

Lengkap yang dilakukan dengan tiga kelompok. Perlakuan adalah konsentrasi gambir (A): $A_1 = 2\%$ $A_2 = 4\%$ dan $A_3 = 6\%$ sedangkan perlakuan kitosan dan glukosa dengan konsentrasi yang sama yaitu 1% .

Prosedur Penelitian

Proses pembuatan kompleks kitosan glukosa gambir adalah meliputi preparasi larutan asam asetat, pembuatan larutan kitosan dengan variasi glukosa dan gambir dan Pembuatan kompleks kitosan glukosa gambir. Larutan yang sudah dicampur kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi bertujuan untuk membentuk reaksi mailard (Sari *et al.* 2020).

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi analisis warna reaksi Maillard, analisis antioksidan (DPPH) (Sari *et al.* 2020).

Analisis Data

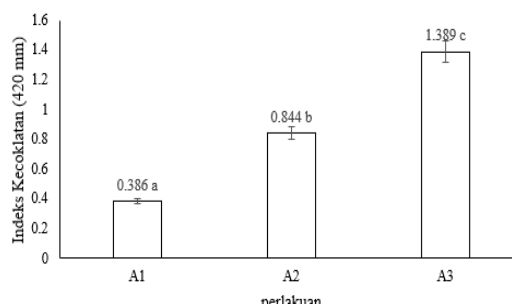
Data yang diperoleh disajikan menggunakan aplikasi SAS dalam bentuk rerata dan diuji dengan analisis ragam (uji F). Jika hasil uji F signifikan akan dilanjutkan dengan uji lanjut BNJ (Beda Nyata Jujur).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Indeks Kecoklatan Kitosan Glukosa Gambir Kompleks (Reaksi Maillard)

Reaksi *Maillard* adalah reaksi antara protein (asam amino bebas) dan senyawa karbonil khususnya yang berasal dari gula pereduksi. Reaksi ini menghasilkan senyawa yang berwarna coklat. Penelitian ini senyawa asam amino bebas terdapat pada kitosan (Sari *et al.* 2013) menyatakan bahwa molekul kitosan memiliki asam amino yang merupakan komponen pembentukan protein. Sedangkan senyawa karbonil atau gula pereduksi terdapat pada glukosa. Analisis warna terhadap reaksi Maillard telah menjadi subjek pengamatan sejak lama. Oleh karena itu, analisis warna coklat dengan *spektrofotometer* merupakan salah satu cara sederhana untuk mengetahui tingkat atau intensitas warna coklat dari setiap sampel. Nilai absorbansi setiap perlakuan memiliki

tingkatan berbeda. Nilai absorbansi setiap perlakuan terdapat pada Gambar 1.



Keterangan

A1 : Kitosan 1%, Glukosa 1%, Asam Asetat 1%, Gambir 2%
 A2 : Kitosan 1%, Glukosa 1%, Asam Asetat 1%, Gambir 4%
 A3 : Kitosan 1%, Glukosa 1%, Asam Asetat 1%, Gambir 6%

Gambar 1. Nilai Absorbansi warna coklat kompleks kitosan glukosa gambir

Berdasarkan Gambar 1 bahwa nilai absorbansi tertinggi terdapat pada perlakuan A3 yaitu 1,389 dan absorbansi terendah pada perlakuan A1 adalah 0,386. Perlakuan A1 (larutan kitosan dengan penambahan gambir 2%) sehingga membentuk warna tidak begitu coklat. Warna kompleks kitosan glukosa gambir 6% (A3) paling coklat dibandingkan kompleks kitosan glukosa gambir 4% (A2) dan kompleks kitosan glukosa gambir 2% (A1). Perlakuan A1 berbeda nyata terhadap perlakuan A2 dan A3. Faktor tersebut dikarenakan reaksi *Maillard* yang terbentuk adanya pembentukan glikosamina yang tersubstitusi pada gugus N yang terdapat pada kitosan dan karena warna coklat dari serbuk gambir (Saad *et al.* 2020).

Perubahan warna ini menjadi tolak ukur Produk Reaksi Maillard (PRM) dan kekuatan antioksidan. Selain berkontribusi untuk warna dan mengubah rasa dari suatu makanan, beberapa penelitian membuktikan bahwa reaksi Maillard modifikasi fruktosa dapat juga berkontribusi sebagai antioksidan dan antibakteri (Jian *et al.* 2018). Penelitian (Sari *et al.* 2013) kompleks kitosan glukosa (A2) dan kompleks kitosan glukosa (A1) menunjukkan reaksi yang lebih coklat dibandingkan kompleks kitosan fruktosa (A3) dalam menghasilkan reaksi Maillard. Struktur yang berbeda pada fruktosa yaitu

memiliki gugus keton dan membuat campuran kitosan lebih mudah mengalami dehidrasi dari pada gula aldosa, salah satu pembentukan coklat yang kurang karena pada gula ketosa (fruktosa) tingkatan kelarutan lebih lama dan memerlukan suhu yang cukup lama dalam melarutkannya.

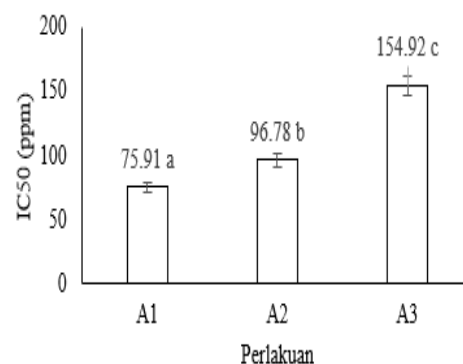
Aktivitas Antioksidan Kompleks Kitosan Glukosa Gambir

Analisis aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Metode DPPH bertujuan untuk mengetahui berapa konsentrasi yang dipakai untuk menghambat radikal bebas sedangkan metode daya reduksi untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa antioksidan pada suatu sampel. Selain itu metode ini sangat populer, cepat mudah dan pendekatan yang cukup untuk menilai potensi penghambat radikal bebas (Baliyan et al. 2022). Suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa yang akan diuji mampu untuk menangkap radikal bebas pada DPPH. Penggunaan metode DPPH ini memiliki keuntungan seperti mempunyai tingkat sensitivitas yang tinggi dan dapat menganalisis sampel dalam jangka waktu yang singkat.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada semua perlakuan. Metode DPPH adalah suatu metode pengujian antioksidan dengan mengukur radikal sintetik yang telah dilarutkan dalam metanol atau etanol. Banyak penelitian yang menggunakan metode DPPH ini, dikarenakan metode ini mudah, cepat dan sangat baik sehingga dapat digunakan untuk sampel yang memiliki polaritas tertentu. Parameter yang digunakan untuk uji penangkapan radikal DPPH adalah dengan melihat nilai IC_{50} . Nilai tersebut merupakan suatu konsentrasi yang dibutuhkan untuk menangkap radikal DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dari suatu perhitungan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel dan persen penghambatan. Semakin kecil atau rendah nilai IC_{50} , semakin aktif suatu sampel yang diuji untuk menjadi senyawa antioksidan (Klomsakul et al. 2022)

Penambahan larutan DPPH terhadap berbagai konsentrasi (200, 150, 100 dan 50 ppm) menunjukkan nilai absorbansi yang bertingkat. Perlakuan A1, A2, A3 menunjukkan semakin rendah konsentrasi semakin tinggi juga persen penghambatan yang dihasilkan. Diduga dengan adanya persen penghambatan menandakan adanya reaksi antioksidan pada kompleks kitosan glukosa gambir. Hal tersebut diperkuat dengan pernyataan (Sari et al. 2020) bahwa produk reaksi *Maillard* yang dihasilkan dari pemanasan di dalam autoklaf selama 15 menit kompleks kitosan monosakarida, terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri lebih tinggi dibandingkan kitosan dan glukosa saja.

Hasil penelitian ini dihasilkan antioksidan yang sama tingkatannya pada penelitian sebelumnya. Hasil yang diperoleh dihitung secara sistematis dengan menggunakan persamaan linier, persen penghambatan sebagai sumbu Y dan konsentrasi sampel sebagai sumbu X. Menghitung IC_{50} dengan cara melihat berapa kemampuan senyawa antioksidan dalam menghambat radikal bebas pada persen penghambatan sebesar 50%. Nilai rerata aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.



Keterangan

- A1 : Kitosan 1%, Glukosa 1%, Asam Asetat 1%, Gambir 2%
- A2 : Kitosan 1%, Glukosa 1%, Asam Asetat 1%, Gambir 4%
- A3 : Kitosan 1%, Glukosa 1%, Asam Asetat 1%, Gambir 6%

Gambar 2. Nilai IC_{50} kompleks kitosan glukosa gambir

Hasil Antioksidan terendah adalah Perlakuan A1 yaitu 75,91 dan tertinggi adalah perlakuan A3 yaitu 154,92. Artinya semakin rendah nilai semakin tinggi nilai antioksidan. Terbukti antioksidan lebih tinggi 92 ppm (Sari *et al.* 2013) sehingga hasil pengawet lebih optimal. Hasil antioksidan tertinggi pada perlakuan reaksi maillard dapat mencegah oksidasi lipid. Reaksi Maillard dapat membentuk produk antioksidan karena pada reaksi ini membentuk efek penangkapan ovalbumin yang semakin meningkat dengan adanya konjugasi dengan dekstran atau galaktomanan melalui reaksi Maillard (Tarigan *et al.* 2012). Redukton dari PRM dapat menghambat oksidasi lemak (Li *et al.*, 2020). Selain itu adanya senyawa 3-deoksiglukoson yaitu reaksi pembentuk warna coklat. Senyawa ini merupakan senyawa redukton yang berpotensi sebagai antioksidan. *Reaksi Maillard* terbentuk antara protein dan gula pereduksi yang menghasilkan warna dan cita rasa pada produk (Hustianty 2016).

Gula pereduksi adalah glukosa, galaktosa dan fruktosa. Perbedaan monosakarida ini menyebabkan intensitas warna coklat yang berbeda juga. Hasil perlakuan berbeda nyata antara perlakuan A1, A2 dan A3. Hal tersebut karena perbedaan susunan atom dan komposisi gamin yang menyebabkan perbedaan tingkat warna, daya larut dan sifat membentuk reaksi Maillard dan adanya penambahan gamin yang berbeda. Warna coklat yang pekat dikarenakan semakin tinggi gamin diberikan semakin berwarna coklat. Warna coklat atau gelap menandakan semua perlakuan bereaksi dengan gula menghasilkan antioksidan (Asiki *et al.*, 2014).

KESIMPULAN

Pengujian antioksidan yaitu pengujian menggunakan metode DPPH Antioksidan terbaik pada perlakuan A1 perlakuan dengan konsentrasi 2% dengan nilai IC50 terendah sebesar 75,91% dan warna coklat tertinggi pada perlakuan A3 yaitu perlakuan dengan konsentrasi gamin 6%. Hasil yang diperoleh

menghasilkan antioksidan lebih baik dari pengawet sebelumnya

DAFTAR PUSTAKA

- Asikin Y, Kamiya A, Mizu M. dan Takara K. 2014. Change in the physicochemical characteristics, including flavour components and maillard reaction products, of non centrifugal cane brown sugar during storage. *Food Chemistry*. 149 : 170-177.
- Baliyan S, Mukherjee R, Priyadarshini A, Vibhuti A, Gupta A, Pandey R. dan Chang C. 2022. Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*. 27.1326 : 1-19.
- Hustianty R. 2016. Reaksi Maillard Pembentuk Citarasa dan Warna pada Produk Pangan. Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin.
- Jiang W, Liu Y, Yang X, Hu S. 2018. Antioxidant and antibacterial activities of Modified Crab Shell Bioactive Peptides by Maillard Reaction. *International J of Food Property*. 21(1): 2730-2743.
- Klomsakul P, Aiumsubtub A, dan Chalopagorn P. 2022. Evaluation of antioxidant activities and tyrosinase inhibitory effect of ginkgo biloba tea extract. vol. 2022, Article ID 4806889, 7 pages, 2022.
- Lestari SD, Baehaki A. dan Meliza R. 2019. Aktivitas antibakteri kompleks kitosan-monosakarida terhadap patogen dalam surimi ikan gabus sebagai model matriks pangan. *J Pengolahan Hasil Perikanan*, 22 (1) : 80-88
- Li Y, Yuan Z, Liu Z, Yu M, Guo Y, Liu Y, Zhang M, Liu, Zhou D. 2020. Effect of oxidation and Maillard Reaction on Color Deterioration of Ready to eat Shrimps During Storage. 131. LWT.
- Saad M, Goh H, Rajikan R, Yusof T, Baharum S, dan Bunawan H. 2020 *Uncaria gambir* (W. Hunter) Roxb :

- From phytochemical composition to pharmacological importance. *Tropical J of Pharmaceutical Research*. 19 (8) ; 1767-1773.
- Sari SR, Baehaki A, Lestari SD, Arafah E. 2020. Aktivitas antibakteri kitosan monosakarida kompleks sebagai penghambat bakteri patogen pada olahan produk perikanan. *J Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23 (3): 542-547.
- Sari SR, Baehaki A dan Lestari SD. 2019. Pemanfaatan kitosan dengan variasi gula sebagai potensi pengawet alami makanan (Pengujian Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*). Prosiding seminar Nasional II Hasil Litbangyasa Industri.
- Sari SR, Agustini S, Wijaya A, Pambayun R. 2017. Profil mutu ikan lele (*Clarias gariepinus*) asap yang diberi perlakuan gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *J Dinamika Penelitian Industri*, 28 (2) : 101-111.
- Sari R, Baehaki A, Lestari S. 2013. Aktivitas antioksidan kompleks kitosan monosakarida (*Chitosan Monoscharides Complex*), *J. Fishtech*. 2(1) : 69-73.
- Suparno NR, Putri CS, Camalin CMS. 2020. Pasta gigi ekstrak etanol daun sirih, biji pinang, gambir terhadap hambatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *J Ilmu Kedokteran gigi*. 3(2) : 6-13.
- Surianti, Aslamsyah, dan Wahyudi. 2020. Pengaruh Penggunaan Ampas tahu terfermentasi menggunakan mikroorganisme mix terhadap kinerja pertumbuhan juvenil udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *J Kelautan*, 13(3):206-212.
- Tarigan J, Barus T, Kaban J. dan Marpogahtun. 2012. Characteristic and study of antioxidants activity galactomannan from kolang-kaling (*Arenga pinnata*). Proceeding of MAMIP 2012 Asian International Conference on Material, Minerals and Polymer.
- Widiati A. 2021. Strategi Melawan Susut dan Limbah Produk Perikanan. Direktur Jenderal Penguatan Daya Saing Produk Kelautan dan Perikanan Kementerian Kelautan dan Perikanan. Webinar 06 Mei 2021. Jakarta.