

**PENGARUH EKSTRAK KACANG-KACANGAN PADA
FERMENTASI TERENDAM OLEH JAMUR *Aspergillus niger*
TERHADAP KITOSAN YANG DIHASILKAN**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Gelar Sarjana Sains (S.Si.) pada Program Studi Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
Jogjakarta**



Disusun oleh

**FITRIO ROMADHONI
No. Mahasiswa : 13612039**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETHAUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA**

2017

**PENGARUH EKSTRAK KACANG-KACANGAN PADA
FERMENTASI TERENDAM OLEH *Aspergillus niger*
TERHADAP KITOSAN YANG DIHASILKAN**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Gelar Sarjana Sains (S.Si.) pada Program Studi Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
Jogjakarta**



Disusun oleh

**FITRIO ROMADHONI
No. Mahasiswa : 13612039**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETHAUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA**

2017

**PENGARUH EKSTRAK KACANG-KACANGAN PADA
FERMENTASI TERENDAM OLEH JAMUR *Aspergillus niger*
TERHADAP KITOSAN YANG DIHASILKAN**

SKRIPSI

Yang diajukan oleh

FITRIO ROMADHONI
No. Mahasiswa : 13612039

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian Skripsi
Program Studi Ilmu Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 22 September 2017

Dewan Penguji

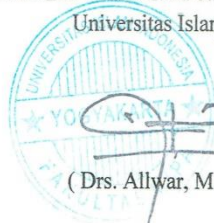
1. Tatang Shabur Julianto, S.Si., M.Si
2. Muslih Anwar, S.Si., M.Sc
3. Ika Yanti, S.Si., M.Sc
4. Dhina Fitriastuti, S.Si., M.Sc

Tanda tangan



Mengetahui

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



(Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D)

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai dari suatu urusan, kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain, dan hanya kepada tuhanmulah hendaknya kamu berharap”

(QS. Al-Insyirah: 6-8)

Allhamdulillahirabbil Alamin.....

Rasa syukur hanya kepada Allah SWT, Terima kasih atas cinta dan kasih sayang-Mu. Dari semua yang telah engkau tetapkan baik itu rencana indah yang engkau siapkan untuk masa depanku. Atas karunia serta kemudahan yang engkau berikan akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan.

Karya ini dipersembahkan untuk:

Keluarga tercinta yaitu Abah (Kholili), Ibu (Futikhah) dan adik (afdah) yang selalu memberikan motivasi dan do'a, serta nasihat sehingga menjadi lebih baik lagi dan bisa menyelesaikan skripsi ini. Dukungan keluarga adalah kekuatan terbesar untuk menyelesaikan karya ini. Terima kasih telah menjadi keluarga yang luar biasa dihidupku.

Teman-teman Kimia 2013 dan almamaterku Universitas Islam Indonesia.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr Wb

Segala puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT yang mana telah memberikan berkat, rahmat dan hidayahnya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh Ekstrak Kacang-Kacangan pada Fermentasi Terendam oleh Jamur *Aspergillus niger* Terhadap Kitosan yang Dhasilkan”**. Solawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Skripsi ini disusun bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana Sains (S.Si) pada Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan, dorongan dan bimbingan atas terselesaikannya skripsi ini. Untuk itu penulis menyampaikan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Bapak Hardi Julendra, S.Pt., M.Sc. selaku Kepala BPTBA LIPI Gunung Kidul Yogyakarta yang telah memberi ijin untuk melaksanakan skripsi di Laboratorium Teknologi Kimia dan Lingkungan UPT BPPTK LIPI Gunung Kidul Yogyakarta.
2. Bapak Drs. Allwar, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
3. Ibu Dr. Is Fatimah, selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

4. Bapak Tatang Shabur Julianto, S.Si., M.Si dan Bapak Muslih Anwar, S.Si., M.Sc., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan, bimbingan dan saran selama penulis melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
5. Ibu Ika Yanti, S.Si., M.Sc dan Ibu Dhina Fitriastuti, S.Si., M.Sc selaku dosen penguji dalam ujian skripsi ini.
6. Keluarga yang selalu memberikan semangat, motivasi dan do'a untuk kelancaran dalam proses penyelesaian skripsi hingga akhir.
7. Keluarga cemara yang selalu memberikan semangat dan dukungan agar bisa menyelesaikan skripsi ini hingga akhir.
8. Novi Putri Nuraeni yang memberikan semangat, motivasi, serta dukungan untuk menyelesaikan skripsi ini hingga selesai.
9. Teman teman Bio-DFD yang selalu member dukungan serta motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini
10. Mas Andri, Mbak Ratih, Bu Dina, Mbak Ajeng, Mbak Melissa, Mbak nuri serta tim Pakan yang membantu dalam penelitian skripsi ini
11. Teman teman kimia yang selalu memberti semangat dan dukungan yang membangun kepada penulis.
12. Pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan dorongan dan dukungan selama menyelesaikan skripsi ini.

Mengingat keterbatasan ilmu yang penulsi miliki, penulsi menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis siap menerima kritik, masukan

serta saran demi menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan barokah bagi semuanya.

Wassalamu'alaikum wr wb

Yogyakarta, 22 September 2017



Fitrio Romadhoni

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
INTISARI.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II DASAR TEORI	5
2.1 Kitosan.....	5
2.2 <i>Aspergillus niger</i>	6
2.3 Karakterisasi Kitosan	7
2.3.1 <i>Fourier Transform Infrared (FTIR)</i>	7
2.3.2 <i>Scanning Electron Microscopy (SEM)</i>	8
2.4 Kacang-Kacangan.....	9
2.4.1 Kacang koro benguk (<i>Mucuna pruriens</i>).....	9
2.4.2 Kacang tunggak (<i>Vigna unguiculata</i>).....	10
2.4.3 Kacang gude (<i>Cajanus cajan</i>)	11
2.4.4 Kacang merah (<i>Vigna angularis</i>).....	12
2.4.5 Kacang koro pedang (<i>Canavalia ensiformis</i>)	12
2.5 Spektrofotometer UV-Vis	13
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	18

3.1 Tinjauan Pustaka	18
3.2 Hipotesis	21
BAB IV METODE PENELITIAN	22
4.1 Alat dan Bahan	22
4.1.1 Alat	22
4.1.2 Bahan	22
4.2 Cara Kerja.....	23
4.2.1 Preparasi sampel kacang-kacangan	23
4.3. Uji Proksimat.....	23
4.3.1. Pengujian kadar air	23
4.3.2. Pengujian kadar abu.....	23
4.3.3. Pengujian protein	24
4.3.4. Pengujian kadar lemak.....	24
4.3.5. Pengujian karbohidrat.....	25
4.4. Preparasi Sampel Gula Reduksi dan Protein Terlarut	25
4.5 Analisis Gula Reduksi dengan Metode Nelson-Somogyi	25
4.6 Analisis Protein Terlarut dengan Metode Lowry	26
4.7 Pembuatan Media PDB	27
4.8 Pembuatan Media dari Kacang.....	27
4.9 Inokulasi Jamur <i>Aspergillus niger</i>	27
4.10 Ekstraksi Kitosan.....	27
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	29
5.1 Preparasi Sampel	29
5.2 Analisis Media.....	30
5.3 Analisis Kitosan	40
BAB VI PENUTUP	42
6.1 Kesimpulan.....	42
6.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur kitosan	5
Gambar 2. Jamur <i>Aspergillus niger</i>	7
Gambar 3. Kacang koro benguk.....	10
Gambar 4. Kacang tunggak.....	11
Gambar 5. Kacang gude	11
Gambar 6. Kacang merah.....	12
Gambar 7. Kacang koro pedang.....	13
Gambar 8. Skema kerja spektrofotometri	15
Gambar 9. Skema reaksi antara gula reduksi dengan kupri oksida.....	30
Gambar 10. Skema reaksi analisis protein terlarut dengan menggunakan metode Lowry	31
Gambar 11. Reaksi hidrolisis polisakarida menjadi monosakarida	33
Gambar 12. Skema proses pemutusan ikatan antara kitin dan glukukan.....	35
Gambar 13. Skema proses deasetilasi kitin menjadi kitosan	35
Gambar 14. Skema protonasi gugus amina pada kitosan oleh asam.....	36
Gambar 15. Skema hilangnya muatan pada NH_3^+ setelah dinetralkan menjadi NH_2	37
Gambar 16. Spektra FTIR hasil ekstraksi miselium dari beberapa jenis media ...	40
Gambar 17. Hasil SEM kitosan.....	41

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil analisis karbohidrat dan protein pada sampel kacang-kacangan... 33	
Tabel 2. Hasil ekstraksi miselium jamur penggunaan media cair sebagai penghasil kitosan..... 37	



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan uji proksimat.....	49
Lampiran 2 Pembuatan reagen Nelson	57
Lampiran 3. Pembuatan reagen Lowry	58
Lampiran 4. Hasil analisis proksimat.....	59
Lampiran 5. Perhitungan konsentrasi larutan standar glukosa.....	60
Lampiran 6. Perhitungan kadar konsentrasi gula reduksi pada sampel	62
Lampiran 7. Perhitungan konsentrasi larutan standar BSA	66
Lampiran 8. Perhitungan kadar konsentrasi protein terlarut pada sampel	69
Lampiran 9. Perhitungan rendemen kitosan.....	73
Lampiran 10. Peralatan dalam analisis proksimat.....	74
Lampiran 11. Alat-alat instrumen	75
Lampiran 12. Perhitungan derajat deasetilasi kitosan.....	76
Lampiran 13. Hasil data analisis FTIR	83

PENGARUH EKSTRAK KACANG-KACANGAN PADA FERMENTASI TERENDAM OLEH JAMUR *Aspergillus niger* TERHADAP KITOSAN YANG DIHASILKAN

**FITRIO ROMADHONI
NIM 13612039**

INTISARI

Kitosan merupakan polimer kedua terbanyak di alam setelah selulosa dan umumnya dapat diperoleh dari cangkang udang dan kepiting. Sumber alternatif lain kitosan selain pada cangkang kepiting dan udang yaitu terdapat pada dinding sel jamur. Pada dinding sel jamur terdapat kitin yang kemudian bisa diubah menjadi kitosan dengan proses deasetilasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari penggunaan ekstrak kacang sebagai medium fermentasi jamur *Aspergillus niger* dan membandingkan metode ekstraksi untuk menghasilkan rendemen dan derajat deasetilasi kitosan yang tinggi. Metode yang digunakan untuk mendapatkan kitosan dalam penelitian ini yaitu pemanasan dan sonikasi. Kitosan dengan rendemen tertinggi diperoleh dari media yang mengandung ekstrak kacang koro bengkok dengan persentase sebesar 2,86% dan pada metode sonikasi sebesar 4,88%. Persentase DD pada kelima kacang dan dua metode yang digunakan menunjukkan %DD >80%.

Kata kunci: *Aspergillus niger*, kitin, kitosan, media fermentasi, ekstrak kacang

THE EFFECT OF NUTS EXTRACTION AS A SUBMERGED FERMENTATION MEDIUM OF *Aspergillus niger* FUNGI ON CHITOSAN PRODUCTION

**FITRIO ROMADHONI
NIM 13612039**

ABSTRACT

Chitosan is the second largest natural polymer after cellulose and generally be obtained from the shells of shrimp and crab. Another alternative source of chitosan was found in the cell walls of fungi. On the cell walls of the fungi contained chitin which can be converted to chitosan with deacetylation process. The aim of this research was to study the used of nuts extract as a fermentation medium of *Aspergillus niger* and determine the extraction methods to produce high yields and degree of deacetylation (DD) of chitosan. The method used to obtain chitosan in this research is heat and sonication The highest rendement of chitosan was obtained by fermentation medium of velvet bean extract with 2,86% of yield and sonication method yielded 4,88%. All of the methods showed %DD higher than 80%.

Keyword: *Aspergillus niger*, chitin, chitosan, fermentation medium, nuts extract

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kitin dan kitosan merupakan kopolimer dari N-asetil-D-glukosamin dan D-glukosamin yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik β -(1-4) (Maghsoodi, *et al.*, 2009). Kitin adalah zat yang dapat ditemukan secara alami yaitu pada eksoskeleton serangga, cangkang krustasea (kepiting dan udang), dan dapat ditemukan pada dinding sel jamur. Proses ekstraksi kitin dari cangkang krustasea dilakukan dengan menghilangkan kalsium karbonat, pigmen, dan protein. Kitosan merupakan biopolimer alam terbanyak kedua setelah selulosa dan memiliki sifat *biodegradable*. Kitosan dihasilkan dari reaksi deasetilasi kitin dengan katalis NaOH (Yaghobi *et al.*, 2004). Aplikasi penggunaan kitosan sangat luas seperti pada bidang bioteknologi (imobilisasi enzim), makanan dan gizi (pengemulsi, pelapis makanan, antioksidan dan suplemen makanan), rekayasa air (agen pengkhelat untuk logam) dan dalam aplikasi medis (kulit buatan, *drug delivery system*, antikoagulan darah dan dalam terapi gen) (Niederhofer *et al.*, 2004).

Produksi kitosan dengan menggunakan jamur telah menarik banyak perhatian karena kebutuhan sebagai sumber alternatif kitin. Hal ini juga diketahui dari penelitian sebelumnya bahwa jamur mengandung kitin sebagai komponen pada dinding sel (Kanimozhi *et al.*, 2014). Beberapa jamur yang dipilih dapat

memberikan alternatif sebagai sumber kitosan antara lain dari kelas *Ascomycetes*, *Zygomycetes*, *Basidiomycetes* dan *Deuteromycetes* (Pochanavanich, 2002). Penggunaan jamur *Aspergillus niger* dari kelas *Ascomycetes* sebagai sumber penghasil kitosan memiliki beberapa keunggulan diantaranya yaitu tidak digunakannya proses demineralisasi pada proses ekstraksinya. Selain itu kitosan yang dihasilkan dari miselium jamur mempunyai keuntungan lain yaitu terbebas dari protein yang menyebabkan alergi sehingga dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan serta memiliki kandungan kitin terbanyak di kelasnya (Arcidiacono *et al.*, 1992; Teng *et al.*, 2001).

Kondisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan jamur yaitu suhu serta kelembapan yang sesuai untuk menghasilkan miselium. Miselia jamur dapat diperoleh dengan cara fermentasi sederhana tanpa memperhatikan lokasi geografis atau musim. Namun dengan seiring berkembangnya jaman terdapat beberapa metode fermentasi yang digunakan untuk menghasilkan miselium adalah dengan cara fermentasi terendam. Fermentasi terendam merupakan metode fermentasi dalam bentuk cair yang nutrisinya tercampur di dalam suatu cairan. Ekstraksi kitosan dari jamur dapat dilakukan melalui perlakuan basa dan asam. Pada perlakuan basa ditambahkan NaOH sedangkan pada perlakuan asam digunakan CH₃COOH (Lu *et al.*, 2004; Teng *et al.*, 2001).

Penggunaan media yang sesuai dalam pertumbuhan jamur sangat berpengaruh pada jumlah kitosan yang dihasilkan. Pemakaian media instan pada pertumbuhan jamur sangat bisa digunakan tetapi harga yang mahal menjadi salah

satu kendala sehingga diperlukan media yang terjangkau agar bisa menumbuhkan jamur.

Pada penelitian kali ini akan dipelajari pengaruh rasio perbandingan karbohidrat dan protein pada kacang tunggak (*Vigna unguiculata*), kacang gude (*Cajanus cajan*), kacang merah (*Phaseolus vulgaris*), kacang koro benguk (*Mucuna pruriens*), dan kacang koro pedang (*Canavalia ensiformis*) sebagai media pertumbuhan jamur serta variasi metode ekstraksi terhadap rendemen total dan derajat deasetilasi (DD) kitosan yang terekstrak.

1.2 Perumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh berbagai jenis ekstrak kacang terhadap berat, rendemen dan derajat deasetilasi kitosan yang dihasilkan dari jamur *Aspergillus niger* ?
2. Bagaimana metode ekstraksi yang optimal untuk menghasilkan rendemen dan DD yang tinggi ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mempelajari pengaruh berbagai jenis ekstrak kacang terhadap berat, rendemen dan derajat deasetilasi kitosan yang dihasilkan dari jamur *Aspergillus niger*.
2. Untuk mengetahui metode ekstraksi yang menghasilkan rendemen dan DD yang tinggi.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan alternatif metode dalam produksi kitosan dari *Aspergillus niger*.
2. Menaikkan nilai guna dari kacang-kacangan lokal sebagai alternatif media pertumbuhan jamur *Aspergillus niger*.
3. Untuk memperkaya dan meningkatkan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.

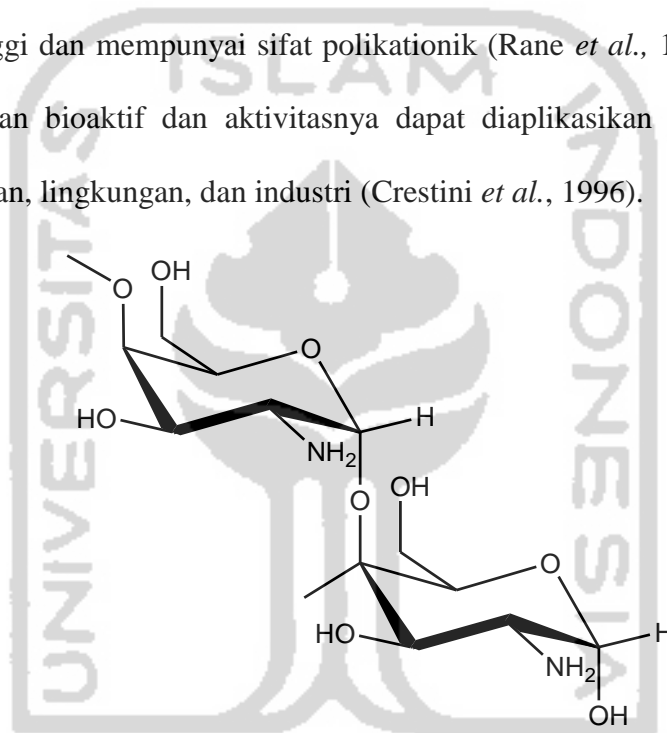


BAB II

DASAR TEORI

2.1 Kitosan

Kitosan ((1-4)-2 amino-deoxy- β -glikan) (Gambar 1) merupakan polimer turunan dari kitin dan memiliki peran penting dalam industri karena kandungan amina yang tinggi dan mempunyai sifat polikationik (Rane *et al.*, 1993). Kitosan merupakan bahan bioaktif dan aktivitasnya dapat diaplikasikan dalam bidang farmasi, pertanian, lingkungan, dan industri (Crestini *et al.*, 1996).



Gambar 1. Struktur kitosan

Sumber utama kitosan di alam dapat diperoleh dari golongan krustasea seperti udang dan kepiting, dinding sel jamur dan juga serangga. Proses ekstraksi kitosan dari krustasea memiliki beberapa tahapan yaitu dimineralisasi, deproteinasi dan terakhir proses deasetilisasi (Tolaimate *et al.*, 2003). Pada jamur, kitin terdapat pada dinding sel jamur. Ada 4 jenis kelas pada jamur yang dinding

selnya mengandung kitin yaitu *Ascomycetes*, *Zygomycetes*, *Basidiomycetes* dan *Deuteromycetes*. Proses ekstraksi kitosan dari jamur dapat dilakukan menggunakan dua tahapan yaitu dengan menggunakan basa dan asam (Tan *et al.*, 1996; Synoweicki *et al.*, 1997; Chatterjee *et al.*, 2005).

2.2 *Aspergillus niger*

Aspergillus niger (Gambar 2) adalah kapang anggota genus *Aspergillus*, family *Trichocomaceae*, ordo *Eurotiales*, filum *Ascomycota*, kelas *Ascomycetes*, dan genus *Aspergillus* (Samson *et al.*, 1996). *Aspergillus niger* (Gambar 2) mempunyai ciri-ciri yaitu memiliki kepala konidia yang besar, bulat dan berwarna hitam, coklat hitam atau ungu coklat. Konidianya kasar dan mengandung pigmen, hifa septat dan memiliki miselium bercabang. Konidiofora membengkak membentuk vesikel pada ujungnya membawa sterigmata dimana tumbuh konidia. Konidia membentuk suatu rantai berwarna hijau, coklat atau hitam. *Aspergillus niger* tumbuh baik pada suhu ruang dan pada pH medium asam (Wuryanti, 2008).

Aspergillus niger dapat tumbuh dengan cepat menggunakan nutrisi yang ada disekitarnya. Molekul-molekul sederhana yang terlarut disekitar hifa dapat diserap langsung oleh hifa, tetapi polimer-polimer seperti amilum atau selulosa harus dipecah terlebih dahulu oleh enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh jamur *Aspergillus niger* menjadi sebuah molekul-molekul yang sederhana sebelum diserap ke dalam sel oleh *Aspergillus niger* (Fardiaz, 1992).



Gambar 2. Jamur *Aspergillus niger*

2.3 Karakterisasi Kitosan

2.3.1 *Fourier Transform Infrared (FTIR)*

FTIR adalah sebuah alat yang digunakan untuk menganalisis gugus fungsi pada suatu senyawa. Prinsip kerja spektrofotometer infra merah sama dengan spektrofotometer lainnya yaitu interaksi energi dengan suatu materi. Spektroskopi inframerah berfokus pada radiasi elektromagnetik pada rentang frekuensi antara 400-4000 cm^{-1} , dimana cm^{-1} yang disebut sebagai bilangan gelombang (*1/wavelength*), yang merupakan ukuran unit untuk frekuensi (Silverstein, 2005).

Kitosan yang telah diperoleh dicampur dengan bubuk KBr. Kemudian dianalisis dengan rentang frekuensi 4000-400 cm^{-1} . Derajat deasetilasi (DD) merupakan ukuran besarnya penghilangan gugus asetil pada gugus asetimida kitin. Tujuan dilakukan perhitungan DD adalah untuk mengetahui besaran nilai persentase yang diperoleh setelah melalui proses deasetilasi. Sampel yang diperoleh disebut kitin jika mempunyai nilai DD lebih dari 75% (Li *et al.*, 1992). Derajat deasetilasi (DD) dapat dihitung dengan melihat nilai pada absorbansi 1655 cm^{-1} untuk gugus amida dan pada 3450 cm^{-1} untuk kelompok gugus OH. Untuk

mengetahui kadar derajat deasetilasi dari kitosan dapat menggunakan persamaan (1) berikut:

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 75,2 \right) \quad (1)$$

(Domszy *et al.*, 1985)

2.3.2 Scanning Electron Microscopy (SEM)

Analisis dengan menggunakan SEM merupakan pemeriksaan daerah permukaan pada sampel. Tampilan yang didapatkan adalah sebuah data dari permukaan sampel yang memiliki ketebalan sekitar 20 m dari permukaan (Siswosuwarno, 1996). Gambar permukaan yang diperoleh merupakan sebuah tampilan topografi dan penangkapan elektron sekunder yang dipancarkan oleh *specimen*. Instrumen SEM memiliki senapan elektron yang mampu memproduksi berkas elektron pada tegangan yang dipercepat sampai sebesar 2-30 kV. Berkas elektron dilewatkan pada beberapa lensa elektromagnetik yang menghasilkan gambar berukuran 10 nm pada sampel yang ditampilkan dalam bentuk film fotografi atau dalam tabung layar (Trewin, 1988).

Prinsip kerja SEM diawali dengan berkas elektron berinteraksi dengan sampel yang kemudian menghasilkan *secondary electron* (SE), di dalam detektor SE tersebut lalu diubah menjadi sinyal listrik yang selanjutnya akan menghasilkan gambar pada layar monitor. Sinyal yang keluar dari detektor berpengaruh terhadap intensitas cahaya dalam tabung monitor, karena jumlah cahaya yang dipancarkan pada monitor sebanding dengan jumlah elektron yang berinteraksi dengan sampel.

Apabila jumlah elektron yang dipancarkan semakin banyak maka gambar yang dihasilkan semakin terang dan demikian sebaliknya.

2.4 Kacang-Kacangan

2.4.1 Kacang koro benguk (*Mucuna pruriens*)

Koro benguk (Gambar 3) merupakan salah satu jenis tanaman yang termasuk ke dalam family *Fabaceae (Leguminiceae)* dan banyak tersebar di daerah tropis. Koro benguk dapat tumbuh pada daerah dengan ketinggian 3-15 m di atas permukaan laut dan merupakan jenis tanaman yang merambat. Biji koro benguk yang direbus biasanya dimakan sebagai kacang-kacangan, polong muda dan daun muda digunakan sebagai sayuran. Tanaman koro benguk bisa menutup lahan dengan cepat, tahan pada berbagai jenis hama dan penyakit serta mampu beradaptasi pada kondisi lingkungan yang beragam (Wulijami *et al.*, 1996).

Koro Benguk digunakan sebagai alternatif untuk perbaikan kesuburan serta perawatan tanah pada kondisi agroekologi yang luas di daerah tropis. Koro benguk banyak ditanam sebagai tanaman penutup tanah dan sebagai pupuk hijau meskipun sebelumnya sudah diperkenalkan kepada petani tropis pada tahun 1990 (Purwanto, 2011)

Koro benguk merupakan jenis koro yang bila dibandingkan dengan kacang kedelai, maka kadar protein dan lemak biji koro benguk lebih rendah sedangkan karbohidratnya lebih tinggi, bahkan dua kali kandungan karbohidrat kedelai. Pembudidayaan yang mudah dapat menjadikan biji koro benguk sebagai alternatif sumber protein (Haryoto, 2007).



Gambar 3. Kacang koro benguk

2.4.2 Kacang tunggak (*Vigna unguiculata*)

Kacang tunggak (Gambar 4) termasuk kedalam keluarga *Leguminaceae*. Tanaman ini diprediksi berasal dari Afrika Barat yang didasarkan pada keberadaan tetuanya, baik yang dibudidayakan maupun jenis liar. Kacang koro tunggak tergolong tanaman bahan pangan, pakan, dan bahan baku industri. Potensi hasil biji kacang tunggak cukup tinggi yaitu mencapai 1,5-2 ton/ha yang bergantung pada jenis varietas, lokasi, musim tanam, dan budidaya yang diterapkan (Sayekti *et al.*, 2012).

Kacang tunggak merupakan tanaman dengan cuaca panas dan juga dapat menyesuaikan dengan daerah agak kering dengan rentang suhu 68 dan 95 °F (20-35 °C). Suhu tanah yang baik untuk perkecambahan minimal yaitu 68 °F (20 °C) pada suhu maksimal yaitu 90 °F (25 °C) dapat mengurangi pertumbuhan akar secara signifikan (Fachruddin, 2007). Kacang tunggak memiliki biji bervariasi, dari bentuk yang menyerupai telur dan *rhomboid* dan hanya mempunyai dua warna biji saja yaitu coklat dan putih (Haliza, 2008).



Gambar 4. Kacang tunggak

2.4.3 Kacang gude (*Cajanus cajan*)

Kacang gude (Gambar 5) termasuk kedalam famili *Leguminuceae*, genus *Cajanus*. Kacang gude lokal merupakan tanaman perdu yang memiliki batang kuat dan berkayu dan memiliki ketinggian mencapai 0,6 – 3,6 m. Bunga berwarna kuning, ungu, atau oranye. Daun berbentuk *trifoliate*, berwarna hijau, hijau tua, atau hijau ungu. Sistem perakaran dalam dan menyebar, sehingga tanaman ini tahan terhadap kekeringan. Kacang gude dapat tumbuh pada berbagai tanah dengan sistem pengairan yang baik. Keasaman pH berkisar antara 4,5 -7,0. Suhu optimal bagi pertumbuhannya berkisar antara 18 - 29 °C. Pada kelembapan dan kesuburan tanah yang cukup, kacang gude dapat tumbuh pada suhu di atas rata-rata 35 °C (Fachruddin, 2007).



Gambar 5. Kacang gude

2.4.4 Kacang merah (*Vigna angularis*)

Kacang jogo atau kacang merah (Gambar 6) bukan tanaman asli Indonesia. Tanaman ini berasal dari Meksiko Selatan, Amerika Selatan dan dataran cina dan kemudian menyebar ke daerah lain seperti Indonesia, Malaysia, Karibia, Afrika Timur dan Afrika Barat. Di Indonesia daerah yang banyak ditanami kacang merah adalah Lembang (Bandung, Pacet (Cipanas), Kota Batu (Bogor), dan Pulau Lombok. Biji kacang merah berwarna merah atau merah berbintik-bintik putih. Kacang merah memiliki kadar karbohidrat yang tinggi, kadar protein yang setara kacang hijau, kadar lemak yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan kacang kedelai dan kacang tanah. Kadar serat pada kacang merah jauh lebih tinggi dibandingkan dengan beras, jagung, sorgum dan gandum (Astawan, 2009).

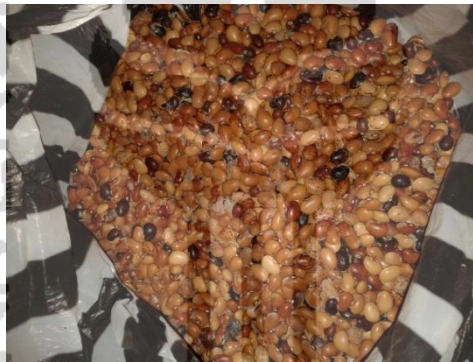


Gambar 6. Kacang merah

2.4.5 Kacang koro pedang (*Canavalia ensiformis*)

Kacang koro pedang (Gambar 7) berasal dari Amerika Selatan dan dapat ditemui di beberapa daerah di India, Srilangka, Myanmar dan di negara Asia Timur lainnya. Pada daerah Indonesia kacang koro pedang banyak ditemukan didaerah

Jawa Tengah dan Jawa Barat. Tanaman koro pedang memiliki bentuk menyerupai perdu dan batangnya bercabang pendek dan lebat dengan jarak percabangan pendek dan perakaran termasuk akar tunggang. Daun berbentuk *trifoliolate* dengan panjang tangkai daun 7-10 cm serta lebar daun sekitar 10 cm. Kacang koro memiliki tinggi sekitar 1 m dan bunga berwarna kuning serta tumbuh pada ketiak/buku cabang. Jenis bunga yaitu majemuk dan berbunga dimulai dari umur 2 hingga 3 bulan. Polong yang dihasilkan dalam satu tangkai berkisar 1-3 polong, tetapi umumnya 1 polong/tangkai. Panjang polong 30 cm dan lebar 3,5 cm, warna polong muda hijau sedangkan polong tua berwarna kuning jerami (Istiani, 2010).



Gambar 7. Kacang koro pedang

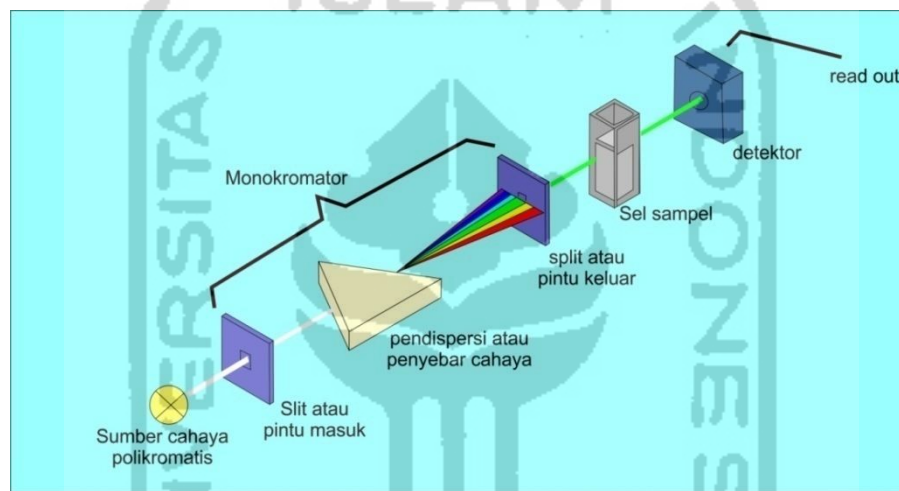
2.5 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri adalah salah satu metode analisis instrumental yang menggunakan dasar interaksi energi dan materi. Spektrofotometri dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu larutan melalui intensitas serapan pada panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang yang dipakai merupakan panjang gelombang dengan absorbansi maksimum (Brink *et al.*, 1984).

Spektrofotometri *visible* dapat disebut juga spektrofotometri sinar tampak karena sinar dapat dilihat oleh mata manusia. Cahaya yang hanya dapat dilihat oleh mata manusia adalah cahaya dengan panjang gelombang 400 - 800 nm dan memiliki energi sebesar 299 – 149 kJ/mol. Panjang gelombang untuk sinar ultraviolet berkisar antara 200 – 400 nm. Elektron pada kondisi normal atau berada pada kulit atom dengan energi terendah atau disebut dengan keadaan dasar (*ground state*). Energi yang dimiliki sinar tampak mampu membuat elektron tereksitasi dari keadaan dasar menuju kulit atom yang memiliki energi lebih tinggi atau menuju ke keadaan tereksitasi (Day dan Underwood, 1986).

Sumber sinar tampak yang pada umumnya dipakai pada spektro *visible* adalah lampu tungsten. Sampel yang dapat dianalisa dengan metode ini hanya sampel yang memiliki warna. Hal ini menjadi kelemahan tersendiri dari metode spektrofotometri *visible*. Pada analisis gula reduksi menggunakan reagen arsenomolibdat yang terdiri dari campuran Amonium Molibdat, H_2SO_4 pekat dan $Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$ yang akan memberntuk warna biru sehingga bisa dibaca pada panjang gelombang 540 nm. Analisis protein terlarut menggunakan reagen Folin yang akan menghasilkan warna biru tua sehingga bisa dibaca pada panjang gelombang 600 nm. Penambahan reagen yang tepat atau spesifik membuat sampel agar bisa dibaca oleh alat spektrofotometer (Sudarmaji, 1997)

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis yaitu dimana sinar atau cahaya dilewatkan melewati sebuah wadah (kuvet) yang berisi larutan sampel yang kemudian akan menghasilkan spektrum warna. Alat Spektrofotometer UV-Vis menggunakan hukum Lambert-Beer sebagai acuan (Ewing, 1975). Pembacaan spektrofotometer dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Skema kerja Spektrofotometri UV-Vis

Menurut Hukum Lambert, serapan berbanding lurus terhadap ketebalan sel (b) yang disinari, dengan bertambahnya sel, maka serapan akan bertambah persamaan dapat dilihat pada persamaan 2:

$$A = k \cdot b \quad (2)$$

Menurut Beer, yang berlaku untuk radiasi monokromatis dalam larutan yang sangat encer, serapan berbanding lurus dengan konsentrasi dapat dilihat pada persamaan 3:

$$A = k.c \quad (3)$$

Jika konsentrasi bertambah, jumlah molekul yang akan dilalui berkas sinar akan bertambah, sehingga serapan juga bertambah. Kedua persamaan ini jika digabungkan maka akan diperoleh bahwa serapan berbanding lurus dengan konsentrasi dan ketebalan sel yang dapat ditulis dengan persamaan 4:

$$A = k.c.b \quad (4)$$

Pada umumnya digunakan dua satuan yaitu c (konsentrasi zat yang menyerap) yang berlainan, yaitu gram/liter atau mol/liter. Nilai ketetapan (k) dalam hukum Lambert-Beer tergantung dengan system konsentrasi mana yang akan digunakan. Bila c dalam gram/liter, tetapan disebut dengan absorptivitas molar (a). Jadi dalam sistem dikombinasikan, hukum Lambert-Beer dapat dinyatakan dengan persamaan 5 atau 6:

$$A = a.b.c \text{ (gram/liter)} \quad (5)$$

Atau

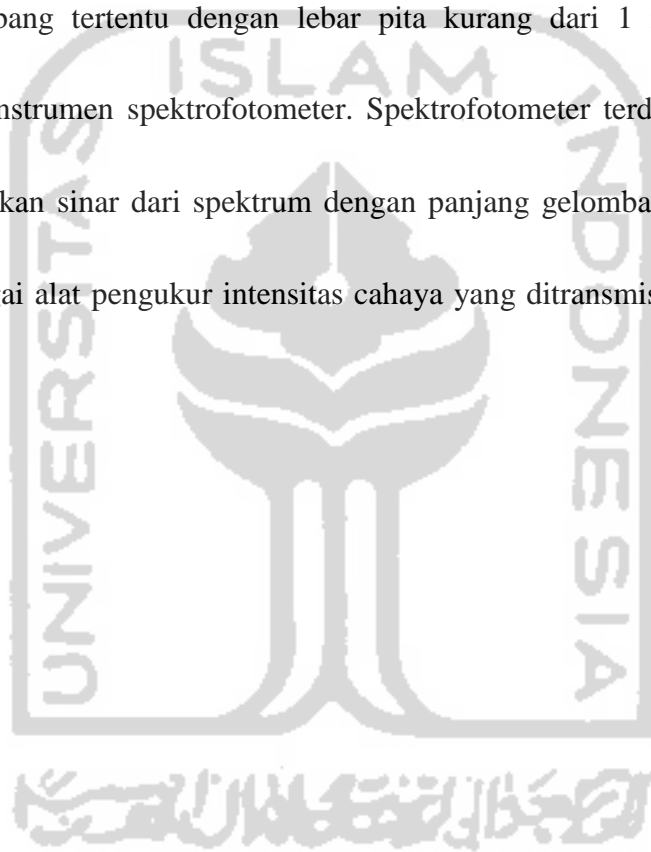
$$A = \epsilon.b.c \text{ (mol/liter)} \quad (6)$$

Dimana: A = serapan, a = absorptivitas, b = ketebalan sel, c = konsentrasi, ϵ = absorptivitas molar

Hukum Lambert-Beer menjadi dasar dalam aspek secara kuantitatif spektrofotometri dimana konsentrasi dapat dihitung berdasarkan persamaan rumus 5 atau 6. Absorptivitas (a) merupakan konstanta yang tidak tergantung pada suatu konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai luaran sampel (Day

and Underwood, 1999). Absorptivitas tergantung pada temperatur, pelarut, struktur molekul dan panjang gelombang radiasi (Rohman, 2007).

Pada analisis dengan menggunakan spektrofotometri digunakan sumber radiasi yang masuk ke dalam daerah spektrum *ultraviolet*. Kemudian dipilih panjang gelombang tertentu dengan lebar pita kurang dari 1 nm. Proses ini menggunakan instrumen spektrofotometer. Spektrofotometer terdiri dari spektro yang menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer sebagai alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi.



BAB III

TINJAUAN PUSTAKA

3.1 Tinjauan Pustaka

Kitin merupakan polisakarida penyusun kerangka utama pada dinding sel jamur. Biosintesis kitin dimulai dari perubahan glukosa menjadi *N*-asetilglukosamin-1-fosfat yang bereaksi dengan UTP (Uridin Tripospat) menjadi UDP (Uridin Difosfat)-*N*-asetilglukosamin dalam reaksi dikatalis oleh glukosamin-6-fosfat. Bagian *N*-asetilglukosamin dari dimer gula dipindahkan ke rantai polimer kitin. Perubahan kitin menjadi kitosan secara umum diproduksi melalui proses deasetilasi kitin dengan menggunakan basa kuat pada suhu yang tinggi. Kitosan biasanya dapat diperoleh dari golongan krustasea, fungi (jamur), dan golongan serangga. Jenis jamur yang biasa digunakan dalam penelitian untuk menghasilkan kitosan terdiri dari 4 kelas yaitu *Ascomycetes*, *Zygomycetes*, *Basidiomycetes* dan *Deuteromycetes*. *Aspergillus niger* merupakan jamur yang termasuk ke dalam kelas *ascomycetes*. *Aspergillus niger* banyak digunakan di dalam industri farmasi seperti pembuatan asam sitrat sehingga menghasilkan limbah yang tidak terpakai. Miselium *Aspergillus niger* banyak mengandung kitin sehingga bisa dimanfaatkan lebih lanjut untuk diubah menjadi kitosan. Pada jamur *Aspergillus niger* dalam pertumbuhannya sangat bergantung pada ketersediaannya senyawa nitrogen baik organik maupun anorganik. *Aspergillus niger* mengandung sekitar 15% kitin. Dinding sel jamur terdiri dari kitin bebas, kitin berikatan

dengan glukosa dan glukosa, yang berbentuk homopolimer. Pada kitin bebas dan kitin yang berikatan glukosa terikat pada posisi β -(1-4), sedangkan pada homopolimer glukosa terikat pada posisi β -(1-4) dan β -(1-6) (Enari 1983, Pochanavanich *et al.*, 2002; suntornsuk *et al.*, 2002; Nwe *et al.*, 2007; Kucera *et al.*, 2004).

Kacang merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia. Berbagai jenis kacang-kacangan mulai dari kacang kedelai, kacang merah, kacang tunggak, kacang gude, kacang koro pedang, kacang koro benguk, dan kacang hijau. Kacang yang biasanya digunakan untuk dijadikan suatu produk adalah kacang kedelai dan kacang hijau. Kacang kedelai dan kacang hijau banyak mengandung protein, karbohidrat, lemak, vitamin, dan mineral, Sehingga jenis kacang lain seperti kacang koro pedang, koro benguk, tunggak, gude, dan kacang merah kurang begitu dimanfaatkan oleh masyarakat. Apabila dibandingkan kandungan gizi baik dari segi protein dan karbohidrat, pada kacang lainnya hampir sama dengan kacang kedelai dan kacang hijau (Astawan, 2009; Veroka, 2010; Poedjiadi *et al.*, 1994). PDB (*Potato Dextrose Broth*) merupakan media yang umum digunakan dalam pertumbuhan jamur di laboratorium. Media PDB memiliki pH yang rendah yaitu sekitar 4,5 sampai 5,6 sehingga menghambat pertumbuhan bakteri dengan kondisi lingkungan yang netral yaitu dengan pH 7,0 (Aini *et al.*, 2015)

Media semisintetik dapat digunakan untuk melakukan metode fermentasi terendam (SmF). Fermentasi terendam adalah suatu metode fermentasi yang menggunakan cairan sebagai media untuk fermentasi dan juga sekaligus digunakan untuk pertumbuhan suatu mikroorganisme. (Cappucino *et al.*, 2014;

Maghsoodi *et al.*, 2009). Ravimanan (2014) menggunakan kacang tunggak, kacang hijau, kacang kedelai hitam, dan kacang kedelai pada jamur *Aspergillus* menunjukkan pertumbuhan yang baik. Pada penelitian Ikechi *et al.*, (2012) menggunakan kacang kedelai dan kacang tanah untuk pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* menunjukkan hasil berat kering miselium yang tinggi yaitu sebesar 3,153 gram bila dibandingkan dengan media buatan dari kentang sebesar 2,241 gram. Maghsoodi (2009) menggunakan media SDB (*Sabouro Dextrose Broth*) menghasilkan berat miselium kering sebesar 8,5703 gram pada hari keenam dan berat kitosan sebesar 0,8455 (g/l) pada hari kedua belas.

Proses pengubahan kitin menjadi kitosan melalui dua tahapan yaitu dengan perlakuan basa dan asam. Pada perlakuan basa menggunakan NaOH. Menurut Nwe *et al.*, 2008, penggunaan basa kuat seperti NaOH untuk ekstraksi berfungsi untuk menghilangkan protein pada dinding sel jamur, memutus ikatan glikosidik dan untuk pengubahan kitin menjadi kitosan. Pada perlakuan asam dapat ditambahkan asam asetat yang berfungsi untuk melarutkan kitosan (Tan *et al.*, 1996). Pada penelitian Rane (1993) membandingkan antara metode ekstraksi menggunakan autoklaf dengan metode refluks (pemanasan), tidak ada perbedaan signifikan terhadap jumlah kitosan yang dihasilkan tetapi pada metode pemanasan menghasilkan DD yang lebih besar dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan autoklaf. Annegowda (2012), melakukan penelitian yaitu menggunakan metode sonikasi untuk mendapatkan ekstrak dari buah belimbing, metode sonikasi menggunakan gelombang ultrasonik pada proses ekstraksi.

3.2 Hipotesis

Dasar pemikiran 1

Karbohidrat merupakan sumber energi yang dibutuhkan untuk pembentukan tubuh pada jamur, sedangkan protein berfungsi sebagai nutrisi yang digunakan untuk membangun sel tubuh (miselium) pada jamur dan juga sebagai pembentuk kitin.

Hipotesis 1

Jika kacang-kacangan memiliki kandungan karbohidrat dan protein yang cukup tinggi, maka ekstraknya dapat digunakan sebagai media dalam penumbuhan jamur *Aspergillus niger* untuk menghasilkan kitosan.

Dasar pemikiran 2

Ekstraksi kitosan pada penelitian ini menggunakan dua metode yaitu metode pemanasan dan sonikasi. Metode pemanasan dan sonikasi menggunakan panas yang tinggi yang dapat menginisiasi pemutusan ikatan antara kitin/kitosan dengan dengan matrik pada miselium jamur. Metode sonikasi menggunakan gelombang ultrasonik yang mampu menghasilkan kavitasi untuk menginisiasi terjadinya reaksi kimia.

Hipotesis 2

Penggunaan ekstraksi dengan metode sonikasi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk metode ekstraksi kitosan akan menghasilkan rendemen dan derajat deasetilasi yang tinggi.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Alat dan Bahan

4.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Iwaki dan Pyrex), batang pengaduk, mikropipet 100 – 1000 μL (Eppendorf), pipet tetes, spatula, rak tabung reaksi, blender (Panasonic), kompor listrik, termometer, sonikator, spektrofotometri, oven (marmer), krus, neraca analitik (AnD), *laminar air flow*, autoklaf (Tomy), sentrifugator, dan tanur (Thermo Scientific).

4.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah H_2SO_4 (Merck), NaOH (Merck), CH_3COOH (Merck), H_3BO_3 (Merck), HCl (Merck), indikator pp, CuSO_4 (Merck), K_2SO_4 (Merck), selenium (Merck), petroleum benzene (Merck), Na_2CO_3 anhidrat (Merck), $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Merck), NaHCO_3 (Merck), Na_2SO_4 (Merck), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck), Folin (Merck), Bovine Serum Albumin (Merck), dekstros (Merck), *Aspergillus niger* FNCC 6018 yang diperoleh dari LPPT UGM, kacang-kacangan yang diperoleh dari pasar Wonosari meliputi kacang merah, kacang gude, kacang tunggak, kacang koro pedang, koro benguk, dan akuades.

4.2 Cara kerja

4.2.1 Preparasi sampel kacang-kacangan

Sampel kacang dibersihkan dan dipisahkan dari kotoran dan pasir. Kemudian dicuci hingga bersih dan lalu direndam dengan air selama 12 jam dan dicuci bersih. Setelah itu dimasukkan kacang yang telah bersih tersebut ke dalam panci pengukus dan dikukus kacang hingga matang. Kacang yang telah melalui proses pemasakan lalu dioven pada suhu 50 °C hingga kering. Proses selanjutnya kacang yang sudah kering dihaluskan dengan blender, lalu diayak dan dioven pada suhu 50 °C selama 8 jam hingga didapatkan bubuk kacang.

4.3 Uji Proksimat (Feliana *et al.*, 2014)

4.3.1 Pengujian kadar air

Krus dimasukkan ke dalam oven kurang lebih selama 3 jam. Kemudian didinginkan dengan menggunakan desikator dan ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik. Sebanyak 0,5 gram sampel bubuk kacang dan diletakkan ke dalam cawan. Kemudian dimasukkan krus berisi sampel ke dalam oven selama 3 jam pada suhu 105 °C, lalu setelah dioven 3 jam didinginkan di dalam desikator kemudian ditimbang hingga berat konstan. Menghitung kadar air dengan menggunakan persamaan 7.

$$\% \text{ air} = \frac{[(\text{berat cawan+sampel awal})-\text{berat sampel setelah oven}]}{(\text{berat sampel awal})} \times 100\%$$

4.3.2 Pengujian kadar abu

(7)

Sebanyak 1 gram sampel bubuk dan dimasukkan ke dalam cawan krus. Proses selanjutnya sampel beserta krus dipanaskan hingga tidak muncul asap. Krus dimasukkan ke dalam tanur selama 5 jam dengan suhu 550 °C dan

dilanjutkan pemanasan dalam oven selama 3 jam pada temperature 105 °C kemudian didinginkan di dalam desikator dan sampel ditimbang hingga konstan. Menghitung kadar abu dengan menggunakan persamaan 8.

$$\% \text{ Abu} = \frac{(\text{berat cawan setelah tanur} - \text{berat cawan kosong})}{(\text{berats ampel})} \times 100\% \quad (8)$$

4.3.3 Pengujian protein

Sebanyak 5 gram sampel bubuk ditimbang dan ditambahkan katalis (CuSO_4 , K_2SO_4 , Selenium) kemudian dibungkus menggunakan kertas. Kemudian dipindahkan ke dalam labu destruksi dan ditambahkan 5 mL H_2SO_4 pekat. Labu dipanaskan hingga bewarna bening atau hijau muda dan selanjutnya dipindahkan ke dalam labu destilasi yang sebelumnya diisi dengan sedikit akuades untuk dilakukan proses destilasi dengan menggunakan alat destilasi hingga didapatkan larutan berwarna biru muda. Setelah itu dititrasi dengan menggunakan HCl 0,1405 N sampai larutan berubah warna menjadi merah jambu. Perhitungan kadar protein dapat dilakukan dengan menggunakan perasamaan 9 dan 10.

$$\% \text{ N} = \frac{(\text{ml NaOH sampel} - \text{ml NaOH blanko})}{(\text{berat sampel} \times 1000)} \times \text{Normalitas HCl} \times 14,008 \times 100\% \quad (9)$$

$$\% \text{ protein} = \% \text{ N} \times 6,25 \text{ (faktor konversi)} \quad (10)$$

4.3.4 Pengujian kadar lemak

Sebanyak 2 gram sampel bubuk dibungkus dengan menggunakan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam oven bersuhu 55 °C. Sampel dimasukkan sampel ke dalam alat Sokhlet dan ditambahkan dengan pelarut petroleum benzene. Kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode Sokhlet selama 5 jam dengan suhu 90 °C. Setelah selesai pelarut diuapkan dan labu dimasukkan ke dalam oven

hingga berat konstan. Menghitung kadar lemak dengan menggunakan persamaan 11.

$$\% \text{ lemak} = \frac{(\text{Berat labu setelah ekstraksi} - \text{Berat labu sebelum ekstraksi})}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

(11)

4.3.5 Pengujian karbohidrat

Perhitungan kadar karbohidrat menggunakan metode proksimat, dimana metode ini merupakan yang paling mudah untuk menghitung kadar karbohidrat karena tanpa menggunakan analisis. Menghitung kadar protein menggunakan persamaan 12.

$$\% \text{ karbohidrat} = 100 - \% (\text{protein} - \text{air} - \text{lemak} - \text{abu})$$

(12)

4.4 Preparasi Sampel Gula Reduksi dan Protein Terlarut

Sebanyak 1 gram sampel bubuk kacang dilarutkan ke dalam 30 mL akuades. Dilakukan proses pemanasan hingga suhu mendidih selama 10 menit. Proses selanjutnya dilakukan sonikasi selama 30 menit dan lalu disaring. Filtrat disentrifugasi selama 1 jam dan dilakukan proses sterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit. Larutan sampel yang akan diuji disimpan di dalam kulkas.

4.5 Analisis Gula Reduksi dengan Metode Nelson-Somogyi (Nelson, 1944; Sudarmaji, 1997)

Larutan standar dibuat dengan menimbang sebanyak 1 gram dekstros dan diencerkan dengan akuades hingga volumenya 1000 mL, dari larutan standar kemudian dibuat larutan stok dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100, dan 125 ppm. Diambil sebanyak 1 mL larutan standar blanko dan ditambahkan 1 mL reagen Nelson. Reagen Nelson terdiri dari Nelson A dan Nelson B. Pada reagen

Nelson A berisi Na_2CO_3 anhidrat, $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dan NaHCO_3 . Pada Nelson B terdiri $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan H_2SO_4 pekat. Pencampuran reagen Nelson yaitu dengan perbandingan Nelson a dan Nelson b yaitu 25:1. Setelah penambahan reagen Nelson, sampel air mendidih atau suhu 100°C selama 20 menit. Tabung reaksi didinginkan dan ditambahkan sebanyak 1 mL reagen arsenomolibdat dan 7 mL akuades. Reagen arsenomolibdat terdiri dari $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, H_2SO_4 pekat dan $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Larutan divortex hingga homogen dan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 540 nm. Penentuan gula reduksi pada sampel menggunakan metode yang sama perbedaannya yaitu larutan standar diganti dengan larutan sampel dengan pengenceran 20 kali.

4.6 Analisis Protein Terlarut dengan Metode Lowry (Lowry *et al.*, 1951; Sudarmaji, 1997)

Larutan standar dibuat dengan menimbang sebanyak 50 mg Bovine Serum Albumin (BSA) dan diencerkan dengan akuades hingga volumenya 100 mL, dan larutan standar dibuat dari larutan dengan konsentrasi 25, 50, 100, 150, 250, 350, dan 500 ppm. Masing-masing 1 mL larutan standar dan blanko ditambahkan sebanyak 8 mL larutan Lowry B dan didiamkan selama 10 menit pada suhu ruang. Larutan Lowry B terdiri dari Na_2CO_3 , NaOH , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ yang kemudian dicampur dengan perbandingan 100:1:1. Selanjutnya ditambahkan 1 mL larutan Lowry A (Folin) kemudian divortex hingga homogen lalu didiamkan selama 20 menit pada suhu ruang. Pencarian nilai absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 600 nm. Pada penentuan protein terlarut pada sampel menggunakan cara yang sama dengan pengenceran 20 kali.

4.7 Pembuatan Media PDB

PDB dibuat dengan cara menyaring agar dari PDA. PDA ditimbang sebanyak 39 gram dilarutkan ke dalam 1000 mL akuades. Setelah itu dilakukan pengadukan hingga homogen. Kemudian disaring menggunakan kertas saring dan ambil filtrat, lalu pindahkan ke dalam Erlenmeyer. Setelah itu dilakukan proses autoklaf pada filtrat pada suhu 121 °C dengan waktu 15 menit dan media disimpan didalam kulkas.

4.8 Pembuatan Media dari Kacang

Ditimbang bubuk kacang sebanyak 20 gram, lalu dilarutkan ke dalam 400 mL akuades. Kemudian panaskan selama 10 menit lalu dilakukan proses sonikasi selama 30 menit. Setelah itu pindahkan kedalam Erlenmeyer dan selanjutnya dilakukan proses autoklaf pada suhu 121 °C dengan waktu 15 menit. Disimpan media ditempat yang dingin.

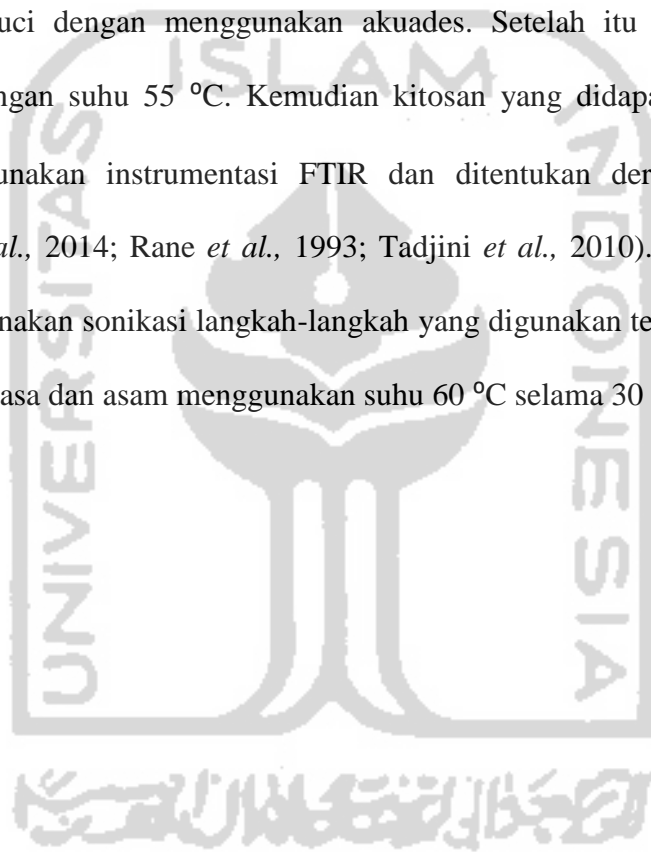
4.9 Inokulasi Jamur *Aspergillus niger*

Sebanyak 100 mL media cair dipindahkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL. Kemudian diambil 5 mL cairan spora jamur *Aspergillus niger*. Setelah itu diinokulasi ke dalam media dan ditunggu selama 7 hari.

4.10 Ekstraksi Kitosan

Miselium kering ditambahkan dengan 1 N NaOH (1:40 w/v) dan dipanaskan hingga suhu 95 °C selama 3 jam. Setelah itu dilakukan proses sentrifugasi pada larutan dengan kecepatan 4500 rpm selama 20 menit sehingga didapatkan *alkali insoluble material (AIM)* dan lalu ditimbang. Padatan AIM lalu dicuci dengan menggunakan akuades. Proses ekstraksi asam dilakukan dengan

penambahan asam asetat 2% (v/v) (1:40 b/v) sebagai pelarut kitosan dan dilakukan proses pemanasan dengan suhu 95 °C selama 8 jam. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi untuk menghilangkan fraksi asam tak larut dengan kecepatan 4500 rpm selama 20 menit dan pisahkan supernatan. Kemudian residu hasil sentrifugasi dibasahkan dengan larutan 2 M NaOH hingga pH 10-12 dan selanjutnya dicuci dengan menggunakan akuades. Setelah itu dikeringkan di dalam oven dengan suhu 55 °C. Kemudian kitosan yang didapatkan dianalisis dengan menggunakan instrumentasi FTIR dan ditentukan derajat deasetilasi (Kanimozhi *et al.*, 2014; Rane *et al.*, 1993; Tadjini *et al.*, 2010). Pada ekstraksi dengan menggunakan sonikasi langkah-langkah yang digunakan tetap sama hanya pada ekstraksi basa dan asam menggunakan suhu 60 °C selama 30 menit.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Preparasi Sampel

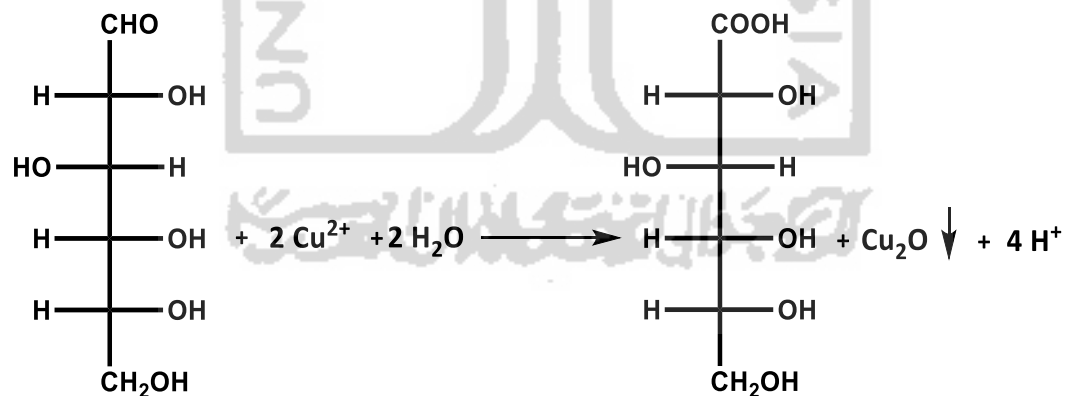
Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu meliputi kacang koro benguk (*Mucuna pruriens*), kacang tunggak (*Vigna unguiculata*), kacang gude (*Cajanus cajan*), kacang merah (*Phaseolus vulgaris*), dan kacang koro pedang (*Canavalia ensiformis*) yang diperoleh dari pasar di daerah Wonosari. Pertama kacang dicuci bersih dan direndam selama 12 jam. Setelah melalui proses perendaman kacang dicuci bersih lalu dilanjutkan dengan proses pengukusan. Proses pemasakan kacang dengan menggunakan metode pengukusan berfungsi agar nutrisi yang ada pada kacang tidak terlalu banyak hilang (Ilo *et al.*, 1998). Setelah matang kemudian kacang dimasukkan ke dalam oven bersuhu 50 °C sampai kering. Kacang yang sudah kering, dihaluskan dan kemudian diayak. Bubuk kacang dioven pada suhu 50 °C selama 8 jam yang berfungsi untuk mengurangi kadar air pada sampel sehingga mikroorganisme seperti jamur tidak tumbuh dan sampel dapat bertahan lebih lama. Selanjutnya, sampel bubuk kacang dilakukan analisis kandungan proksimat dan gula reduksi.

Sampel yang akan digunakan sebagai media dalam penumbuhan jamur *Aspergillus niger* harus dalam bentuk cair, sehingga perlu dilakukan proses ekstraksi. Sampel dalam bentuk bubuk ditimbang sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 30 mL akuades dan dipanaskan hingga mendidih selama 10

menit yang berfungsi untuk ekstraksi kandungan nutrisi yang ada pada sampel dan dilanjutkan dengan proses sonikasi selama 30 menit yang berfungsi untuk memecah dinding sel bahan. Kemudian dilakukan penyaringan agar dapat memisahkan antara filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh kemudian di sentrifugasi selama 1 jam dengan kecepatan 4500 rpm yang berfungsi untuk mengendapkan padatan yang tidak larut. Filtrat yang telah dipisahkan dari endapan selanjutnya dilakukan analisis protein terlarut dengan metode Lowry dan gula reduksi dengan metode Nelson-Somogyi.

5.2 Analisis Media

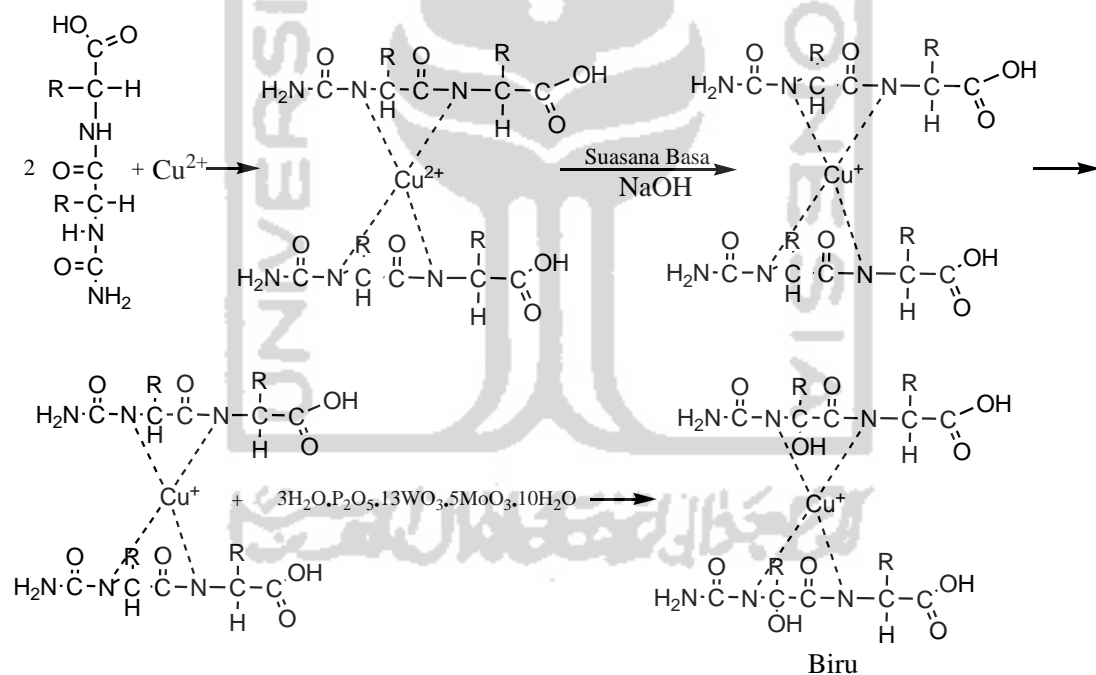
Analisis gula terlarut dilakukan dengan menggunakan prinsip analisis gula reduksi dengan cara Nelson. Gula reduksi akan dioksidasi oleh kupri oksida dan dihasilkan kupro-oksida. Kupro-oksida direaksikan dengan arsenomolibdat akan membentuk senyawa kompleks berwarna violet/ungu.



Gambar 9. Skema reaksi antara gula reduksi dengan kupri oksida

Larutan sampel yang sudah dipreparasi kemudian dilakukan pengujian gula reduksi. Pertama larutan yang sudah ada dilakukan pengenceran 20 kali. Pengenceran ini dimaksudkan karena larutan yang ada masih terlalu pekat yang

diperkirakan absorbansi yang didapatkan tidak mengikuti hukum Lambert-Beer. Sampel yang sudah diencerkan diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan reagen Nelson, fungsi penambahan reagen Nelson adalah untuk mereduksi gula yang ada pada sampel dan kemudian membentuk endapan merah bata (Gambar 9). Proses pemanasan pada air mendidih selama 20 menit dilakukan untuk mempercepat proses hidrolisis. Tabung reaksi yang sudah dingin, ditambahkan reagen arsenomolibdat yang berfungsi untuk mereduksi Cu^{2+} sehingga menghasilkan warna biru yang akan diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm.



Gambar 10. Skema reaksi analisis protein terlarut dengan menggunakan metode Lowry

Metode Lowry merupakan suatu metode analisis yang digunakan untuk mengetahui total protein yang terlarut pada suatu cairan. Prinsip kerja metode Lowry adalah reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^+ oleh protein, Ion Cu^+ bersama dengan

fosfotungstat dan fosfomolibdat membentuk warna biru, sehingga dapat menyerap cahaya.

Filtrat dari sampel kacang yang sudah ada kemudian dilakukan pengujian protein terlarut. Larutan yang sudah diencerkan 20 kali, diambil sebanyak 8 mL kemudian ditambahkan reagen Lowry. Fungsi penambahan reagen Lowry adalah untuk mengubah ion Cu(II)-protein yang dalam suasana alkalis akan tereduksi menjadi Cu(I). Penambahan 1 mL reagen Folin yang berfungsi agar terjadi kompleks dengan ion Cu^+ yang menghasilkan warna biru (Gambar 10). Setelah 20 menit akan terbentuk warna biru tua yang kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm. Hasil pengujian protein terlarut dapat dilihat pada Tabel 1.

Konsentrasi gula reduksi dalam masing-masing sampel (Tabel 1) menunjukkan bahwa dari kelima kacang tersebut pada uji proksimat memiliki karbohidrat yang tinggi tetapi hasil analisis gula reduksi menunjukkan bahwa gula yang terlarut hanya sebagian. Hal ini menunjukkan bahwa karbohidrat yang terkandung dalam sampel kacang merupakan gula kompleks yang susah terhidrolisis pada pemanasan selama 10 menit pada suhu 100 °C dan pH netral.

Pengujian proksimat dilakukan untuk mengetahui kadar, protein total dan karbohidrat total dari suatu sampel. Pada Tabel 1 menunjukkan kandungan karbohidrat dan protein total pada sampel kacang. Jenis kacang yang memiliki kandungan karbohidrat terbanyak yaitu pada kacang koro pedang kemudian dilanjutkan pada kacang tunggak, kacang merah, kacang koro benguk, dan yang terkecil adalah kacang gude. Pada analisis protein yang tertinggi yaitu pada

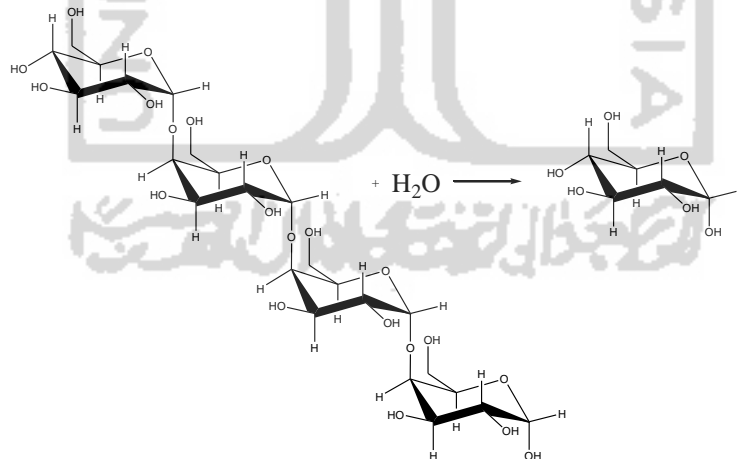
kacang gude kemudian kacang koro benguk, kacang merah, kacang koro pedang dan yang memiliki kadar protein terendah yaitu pada kacang tunggak.

Tabel 1 Hasil analisis karbohidrat dan protein pada sampel kacang kacangan

Jenis Kacang	Proksimat (KH%) : Ptn(%)	Rasio KH (%) : Ptn (%) terlarut
Koro Pedang	71,43 : 20,98	1,35 : 1,28
Koro Benguk	67,70 : 22,88	4,46 : 13,72
Tunggak	69,75 : 20,81	0,06 : 2,28
Merah	67,99 : 22,61	0,12 : 2,56
Gude	62,55 : 26,10	0,32 : 0,20

(KH) Karbohirat, (Ptn) Protein

Analisis gula reduksi hanya bisa membaca karbohidrat sederhana seperti monosakarida dan disakarida (Gambar 11), sehingga sisanya merupakan karbohidrat kompleks. Total konsentrasi gula terlarut tertinggi dari kelima sampel adalah terdapat pada kacang koro benguk, kemudian kacang koro pedang, kacang gude, kacang merah dan yang paling kecil konsentrasinya adalah kacang tunggak.



Gambar 11. Reaksi hidrolisis polisakarida menjadi monosakarida

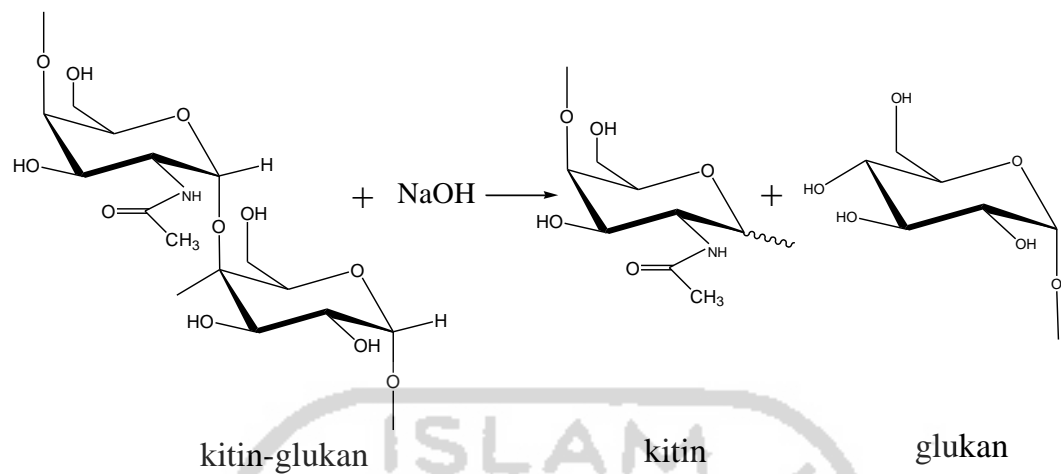
Pada Tabel 1, menunjukkan konsentrasi protein terlarut dari masing-masing sampel kacang yang jika dilihat dari hasil uji proksimat protein yang

teranalisis keseluruhan sedangkan pada protein terlarut hanya sebagian besar protein dari uji proksimat yang terlarut. Pengujian protein secara proksimat akan membuat segala jenis protein baik kompleks dan juga sederhana akan ikut teranalisis sedangkan pada pengujian protein terlarut hanya protein sederhana saja yang dapat teranalisis. Hasil analisis protein terlarut tertinggi diperoleh kacang koro bengkak, kemudian kacang merah, kacang tunggak, kacang gude dan konsentrasi paling kecil adalah kacang koro pedang.

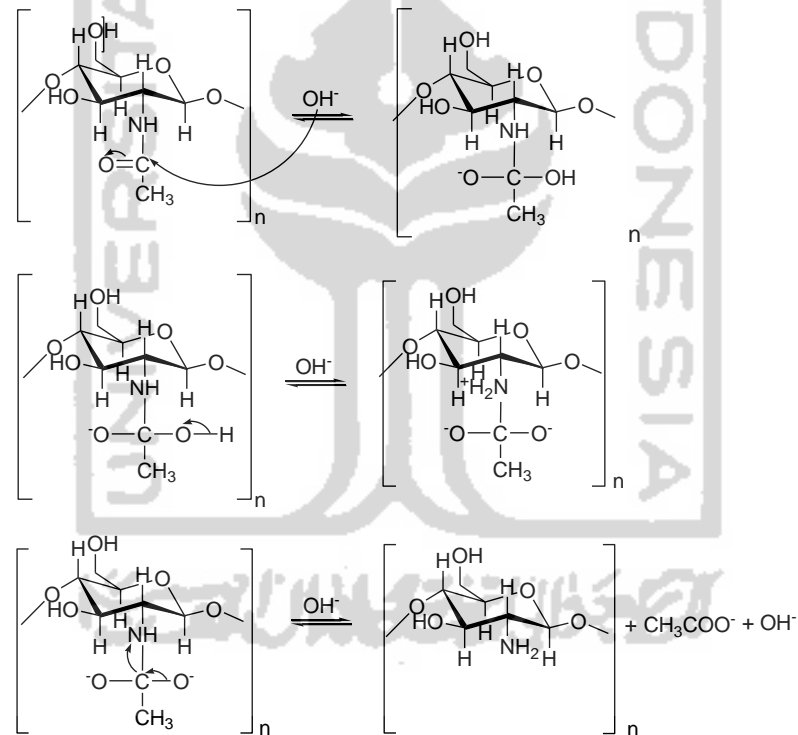
5.3 Ekstraksi Kitosan

Jamur yang digunakan pada penelitian kali ini adalah jamur *Aspergillus niger* dari golongan *Ascomycota*. Pada tahap inokulasi sebelumnya, jamur dilakukan proses *refresh* yang bertujuan agar meremajakan mikroorganisme yang akan digunakan sebagai inokulum. Lama pertumbuhan yang digunakan pada penelitian kali ini adalah sekitar 7 hari dan dilakukan pada suhu ruang. Miselium yang dihasilkan selanjutnya dikeringkan dalam oven.

Sebelum ekstraksi, miselium jamur yang sudah kering, dihaluskan yang berfungsi untuk memperluas bidang permukaan. Ekstraksi kitosan dari jamur dilakukan dengan menggunakan metode pemanasan dalam kondisi basa dan asam. Jamur yang telah dihaluskan, ditambahkan NaOH 1 N (1:40 b/v). Pada dinding sel jamur *Aspergillus niger* terdapat kitin bebas dan kitin yang berikatan dengan glukukan. Proses pemanasan dengan menggunakan basa NaOH berfungsi untuk memutus ikatan antara glukukan dan kitin yang setelah terputus akan dilanjutkan dengan proses deasetilasi. Skema pemutusan dan proses deasetilasi bisa dilihat pada Gambar 12 dan 13.



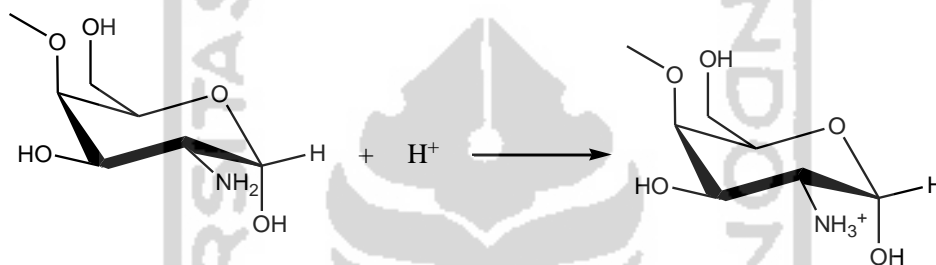
Gambar 12. Skema proses pemutusan ikatan antara kitin dan glukon



Gambar 13. Skema proses deasetilasi kitin menjadi kitosan

Setelah melalui proses pemanasan yang pertama kemudian dilakukan proses sentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 20 menit yang berfungsi untuk mendapatkan *alkali insoluble material (AIM)*. Endapan dipisahkan dari

supernatan, selanjutnya endapan AIM dicuci dengan akuades. AIM diasamkan dengan menggunakan asam asetat 5% (1:40 w/v) dan dipanaskan selama 8 jam dengan suhu 95 °C. Pada kondisi asam komponen kitosan yang berikatan pada glukukan akan terprotonasi dan membuat kitosan masih tetap berada di dalam suspensi. Kitosan akan larut dalam kondisi asam, sedangkan glukukan tidak larut (Rane *et al.*, 1993; Nwe *et al.*, 2008). Skema protonasi gugus amina pada kitosan oleh asam dapat dilihat pada Gambar 14.

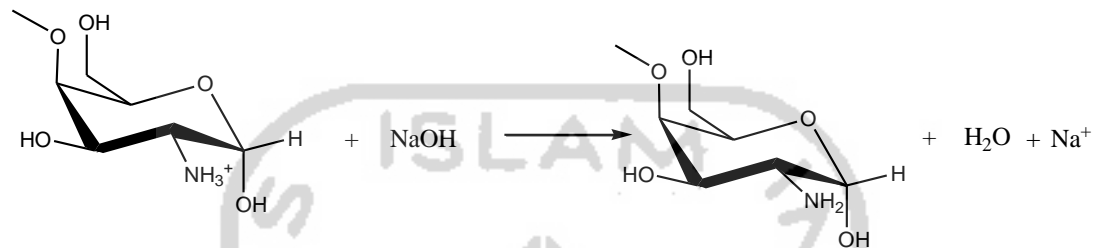


Gambar 14. Skema protonasi gugus amina pada kitosan oleh asam

Sentrifugasi hasil pemanasan dilakukan dengan kecepatan 4500 rpm selama 20 menit untuk memisahkan endapan dan supernatan. Supernatan yang telah diperoleh kemudian dibasakan dengan NaOH 2 N hingga pH 10-12. Penambahan basa berfungsi untuk mengendapkan kitosan. Pada saat basa ditambahkan ke dalam supernatan, kitosan akan kehilangan muatannya dan tidak dapat mempertahankan diri agar tetap berada dalam tersuspensi (Nwe *et al.*, 2008). Skema hilangnya muatan pada NH_3^+ setelah dinetralkan menjadi NH_2 dapat dilihat pada Gambar 15.

Proses sentrifugasi dengan kecepatan 4500 rpm selama 20 menit dimaksudkan untuk mengendapkan partikel-partikel yang melayang pada

supernatan. Endapan yang mengendap kemudian dicuci dengan menggunakan akuades dan selanjutnya dikeringkan pada oven dengan suhu 50 °C selama semalam. Berat masing masing kitosan dari media yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 15. Skema hilangnya muatan pada NH_3^+ setelah dinetralkan menjadi NH_2

Tabel 2. Hasil ekstraksi miselium jamur penggunaan media cair sebagai penghasil kitosan

Jenis Media	Rasio Perbandingan	Berat Kitosan (g)		Rendemen (%)		DD (%)	
	KH (%) : Ptn (%)	Pe	So	Pe	So	Pe	So
PDB	1:7,49	0,0230	0,0830	1,2945	4,8881	84,55	96,24
Koro Bengkak	1:3	0,0195	n.a	2,8681	n.a	83,29	n.a
Koro pedang	0,94:1	0,0143	n.a	2,6358	n.a	87,46	n.a
Tunggak	1:38	0,0193	n.a	2,3807	n.a	89,55	n.a
Gude	1:21	0,0128	n.a	2,8262	n.a	96,93	n.a
Merah	1,6:1	0,0105	n.a	1,6938	n.a	92,75	n.a

(Pe) Pemanasan, (So) Sonikasi, (KH) Karbohidrat, (Ptn) Protein

Berat kitosan pada masing masing sampel (Tabel 2) menunjukkan bahwa dari kelima media yang digunakan sebagai media pertumbuhan, kitosan dengan berat yang paling tinggi diperoleh pada media PDB kemudian diikuti oleh kacang koro bengkak, kacang tunggak, koro pedang, kacang gude dan yang terkecil kacang merah. Pada perbandingan ekstraksi berat kitosan yang diperoleh paling banyak pada ekstraksi dengan metode sonikasi. Jamur *Aspergillus niger* sangat membutuhkan nutrisi seperti karbohidrat, protein dan juga nutrisi lainnya untuk

pertumbuhannya. Pada dasarnya, untuk menumbuhkan jamur *Aspergillus niger* pada suatu media membutuhkan suatu unsur karbohidrat dan protein. Fungsi karbohidrat yaitu sebagai energi untuk pertumbuhan jamur *Aspergillus niger*. Fungsi protein adalah sebagai nutrisi yang digunakan untuk membangun sel tubuh (miselium) pada jamur. Pada perkembangannya, jamur membutuhkan sumber karbohidrat dan protein yang sederhana agar dapat tumbuh dengan baik. Penggunaan protein dan karbohidrat sederhana dimaksudkan agar jamur tidak perlu lagi membutuhkan energi yang lebih besar untuk mengubah karbohidrat dan protein kompleks menjadi lebih sederhana. (Enari, 1983; Yulia, 2010). Pada media sintesis seperti PDB merupakan sebuah media yang telah ditentukan komposisinya agar jamur dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Pada media yang terbuat dari bahan alam komposisi nutrisi yang tersedia sebagian besar berada dalam bentuk kompleks. Berat kitosan pada PDB cenderung lebih besar dibandingkan dengan lainnya karena komposisi media dari PDB yang terdiri dari nutrisi sederhana sedangkan pada kacang berat kitosan yang dihasilkan lebih kecil, dikarenakan masih adanya sebagian karbohidrat dan protein yang belum berubah menjadi sederhana sehingga mikroorganisme membutuhkan energi yang lebih untuk pembentukan kitin pada dinding sel.

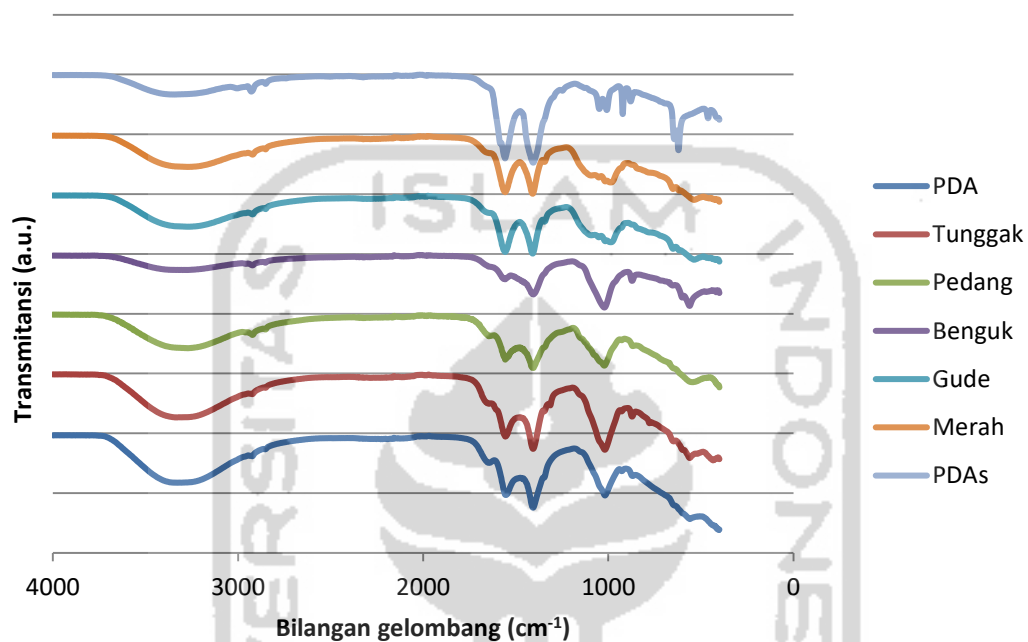
Pada Tabel 2 menunjukkan rendemen hasil ekstraksi kitosan. Pada kelima media yang menggunakan metode pemanasan, hasil rendemen terbanyak diperoleh oleh kacang koro benguk, kacang koro pedang, kacang gude, kacang tunggak, kacang merah dan yang memiliki rendemen terkecil adalah PDA. Perbandingan metode antara sonikasi dan pemanasan yang memiliki berat dan

rendemen terbesar (Tabel 2) adalah terdapat pada metode ekstraksi dengan cara sonikasi karena pada metode sonikasi berlangsung proses kavitasi saat diberikan perlakuan dengan gelombang ultrasonik yang berfungsi untuk memecah dinding sel bahan. Kavitasi merupakan proses pembentukan gelembung-gelembung mikro (*microbubbles*) karena meningkatnya tekanan pada saat terjadinya ekstraksi sebagai dampak dari adanya gelombang ultrasonik. Gelembung-gelembung ini tidak stabil sehingga mudah sekali pecah ketika gelembung-gelembung melibatkan energi yang besar serta menghasilkan efek panas yang membantu kontak antara pelarut dan bahan dalam ekstraksi sehingga hasil ekstraksi akan lebih maksimal. Efek mekanik dari metode sonikasi dapat meningkatkan masuknya pelarut ke dalam sel bahan serta meningkatkan transfer massa sehingga waktu yang diperlukan untuk pemecahan sel hanya beberapa menit (Saksony, 2011). Masih ada kitin yang belum terekstrak dikarenakan ikatan antara kitin dan glukukan yang masih belum terputus sehingga kitosan yang diperoleh sedikit.

Tabel 2 memperlihatkan rasio perbandingan antara karbohidrat dan protein. Pada kitosan yang dihasilkan memperlihatkan kacang koro bengkuk memiliki rendemen tertinggi dengan perbandingan protein lebih banyak dibandingkan dengan karbohidrat diikuti dengan kacang tunggak dan kacang gude. Kacang merah memiliki karbohidrat lebih tinggi dibandingkan dengan protein yang memiliki rendemen lebih kecil dibandingkan dengan koro bengkuk kecuali pada kacang koro pedang. Perbandingan karbohidrat lebih besar dibandingkan dengan protein tetapi menghasilkan rendemen lebih besar. Penyebab rendemen kacang koro pedang besar dikarenakan terdapat zat metabolit

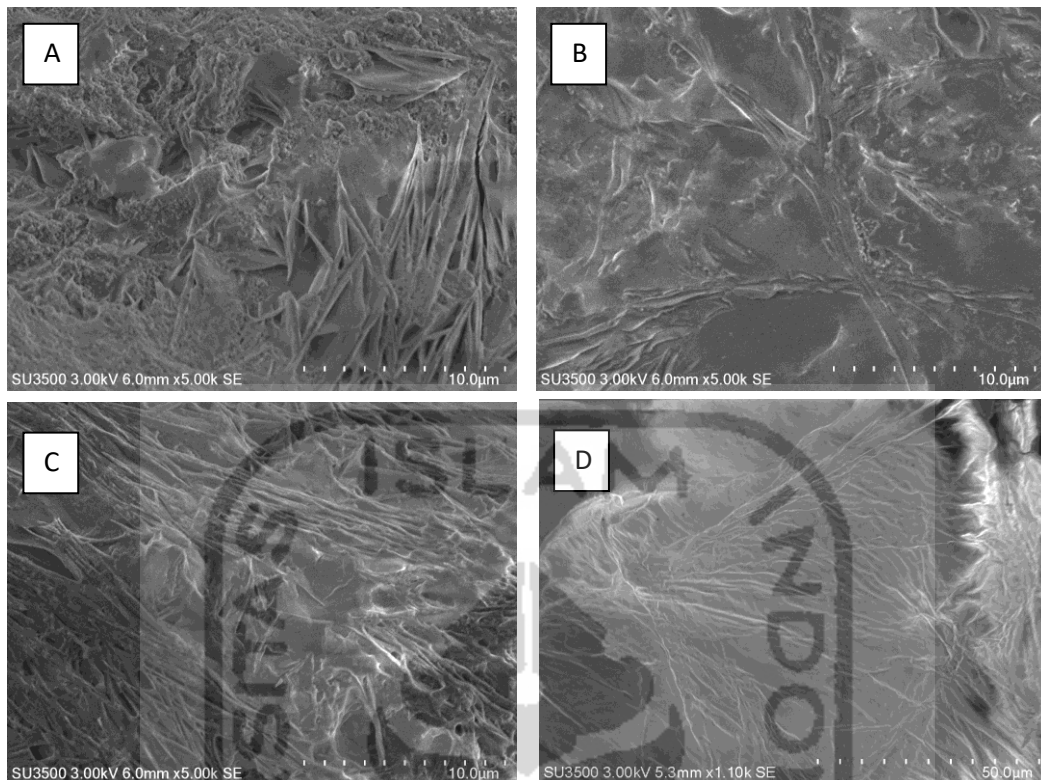
dan mikronutrien yang membantu proses pembentukan kitin pada dinding sel jamur.

5.3 Analisis Kitosan



Gambar 16. Spektra FTIR hasil ekstraksi miselium dari beberapa jenis media

Pada spektra FTIR hasil ekstraksi miselium dari beberapa jenis media Gambar 16 terlihat adanya pita serapan pada bilangan gelombang sekitar 3400 cm^{-1} yang menunjukkan serapan dari ikatan OH ulur dan NH ulur. Pita serapan pada bilangan gelombang sekitar 2900 cm^{-1} yang menunjukkan gugus fungsi CH_2 ulur. Pada pita serapan panjang gelombang sekitar 1600 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $\text{C}=\text{O}$ amida. Pita serapan pada bilangan gelombang sekitar 1010 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $\text{C}-\text{O}-\text{C}$.



Gambar 17. Hasil SEM kitosan, (A) Kitosan dari kacang, (B) PDA pemanasan, (C) PDA sonikasi, (D) Kitosan dari udang

Pada Gambar 17 (A) pada sampel dari media kacang kitosan yang terlihat tersusun dari layer dan terdapat rongga kecil pada permukaannya. Pada Gambar 17 (B) kitosan dari media PDA dengan metode pemanasan memperlihatkan tampilan lapisan pada permukaan kitosan. Pada sampel PDA (Gambar 17) dengan metode sonikasi (C) menampilkan permukaan kitosan yang memperlihatkan lapisan lapisan yang berongga. Pada Gambar 17 (D) memperlihatkan permukaan kitosan yang berasal dari kulit udang yang rapat, tidak berongga dan tersusun atas lapisan lapisan.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian serta analisis data yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kacang-kacangan yang digunakan sangat mempengaruhi kitosan yang dihasilkan, hasil kitosan tertinggi diperoleh pada kacang koro benguk, sedangkan pada rendemen tertinggi terdapat pada kacang koro benguk. Derajat deasetilasi dari semua kitosan yang dihasilkan pada berbagai media berada lebih dari 80% yang berarti kualitas kitosan yang diperoleh baik.
2. Metode ekstraksi yang optimal untuk menghasilkan rendemen dan derajat deasetilasi yang tertinggi diperoleh pada metode ekstraksi sonikasi yaitu sebesar 4,88% dan 96,24%.

6.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka disarankan hal hal berikut:

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstraksi kitosan baik dalam segi metode dan komposisi media agar bisa menghasilkan kualitas kitosan yang baik.

2. Pada kitosan yang telah didapatkan kemudian dicuci dengan etanol dan aseton agar didapatkan warna kitosan yang sesuai.
3. Mengidentifikasi metabolit dan mikro mineral yang terdapat pada semua media kacang-kacangan



DAFTAR PUSTAKA

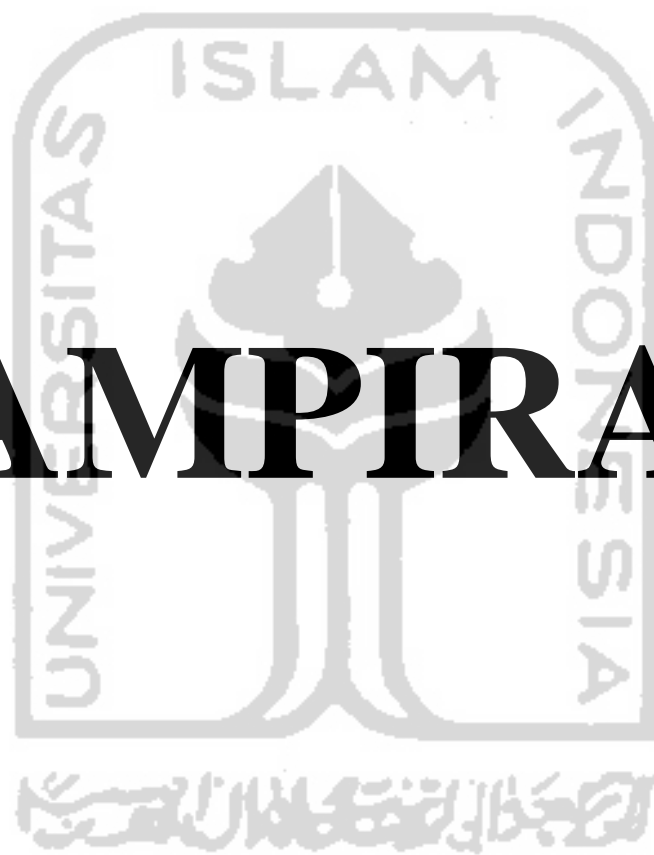
- Aini, N., and Rahayu, T, 2015, Media alternatif untuk pertumbuhan jamur menggunakan sumber karbohidrat yang berbeda, *Bio, scie, enviro and teach*, 861-866
- Annegowda, H., V., Bhat, R., Tze, M., L., Karim, A., A., and Mansor, S., M, 2012, influence of sonication treatment and extraction solvent of the phenolics and antioxidant in star fruit, *J Food Sci Technol*, 49 (4): 510-514
- Astawan, M., 2009. *Sehat dengan Hidangan Kacang dan Biji-Bijian*, Swadaya, Jakarta, hlm 20-21.
- Arcidiacono, S., and Kaplan, D. L., 1992, Molecular weight distribution of chitosan isolated from *Mucor rouxii* under different culture and processing conditions, *Biotechnol Bioeng* 39: 281-286.
- Brink, O. G., and Flink, R. J., 1984, *Dasar-Dasar Ilmu Instrumen*, Binacipta, Bandung.
- Cappucino, J. G., and Sherman, N., 2014. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*, Edisi 8, Jakarta, EGC, hlm 97-103.
- Chatterjee, S., Adhya, M., Guha, A. K., and Chaterjee, B. P., 2005, Chitosan from *Mucor rouxii*: Production and Physic-Chemical Charecterization, *Proc Biochem*, 40, 395-400.
- Crestini, C., Kovac, B., and Sermanni, G., G., 1996, Production and isolation of chitosan by submerged and solid state fermentation from *Lentinus edodes*, *Biotechnol and Bioeng*, 34:11-6
- Day, R. A. and Underwood, A. L., 1986. *Analisa Kimia Kuantitatif*, Edisi Keempat, Erlangga, Jakarta
- Domszy, J. G., and Roberts, G. A. F., 1985, Evaluation of Infrared Spectroscopic Techniques for analyzing chitosan, *Makromol Chem*, 186, 1671-1677.
- Earnshaw, A., 1997, *Chemistry of The Element*, 2nd Edition, New York: Elsevier.
- Enari, T. M, 1983, Microbial Cellulase. In: Fogarty, W, M, 1985, *Microbiol Enzymes and Biotechnology*. New York : Appl, Sci, Publ
- Fachruddin, L., 2007, *Budi Daya Kacang-Kacangan*, Kanisius, Yogyakarta, hlm:53-55.
- Fardiaz, S., 1992, *Mikrobiologi Pangan I*, PT.Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, hlm 180-205.

- Haliza, W., 2008, *Tanpa Kedelai Masih Bisa Makan Tempe*, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian. Bogor. hlm 10-12.
- Hafdani, F. N., Sadeghinia, N., 2011, A Review on Application of Chitosan as a Natural Antimicrobial. World Academy of Science. *Enng Tech*, 50
- Haryoto, 2007, *Teknologi Tepat Guna Tempe Benguk*, Kanisius, Yogyakarta, hlm 9-11.
- Ikechi, N. C. G., and Elenwo, E. N. 2012. Comparative Evaluation of Growth Media for the Cultivation of Fungal Cultures. *J. Plant Pathol and Microb.* 3:139.
- Ilo, S., and Berghofer, E., 1998, Kinetics of Thermomechanical Destruction of Thiamin During Extrusion Cooking, *JFS*, 63, 312-315.
- Istiani, Y., 2010, Karakterisasi Senyawa Bioaktif Isoflavon dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Tempe Berbahan Baku Koro Pedang (*Canavalia ensiformis*), Thesis, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Kanimozhi, S., Ramya, D., and Gandhi, M. 2014. Production and Optimization of Chitosan from *Aspergillus niger* by Solid State and Submerged Fermentation and Evaluation of Its Antibacterial and Antioxidant Activity. *DIT*, 6(2), 141-148.
- Kay, D. E., 1979, *Crop and Producer Digest No. 3- Food Legumes*, (London: Tropical Products Institue, 1979), hlm:89
- Kucera, J, 2004, Fungal mycelium the source of chitosan for cromathography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 808: 69-73.
- Lestari, D. S., 2015, Karakterisasi Fisikokimia Gypsum Tipe III Daur Ulang Merek *Blue Dental Plaster* Menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), *Skripsi*, Universitas Jember, Jawa Timur.
- Li, Q., Dunn, E. T., Grandmaison, E. W., and Goosen, M. F. A., 1992, Application and Properties of Chitosan . *J Bioact Compat Polym*, 7:370-397.
- Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J., 1951, Protein Measurment with the Folin Phenol Reagent, *J Biol Chem*, pp 265-275.
- Lu, S., Song X., Cao, D., Chen, T., Yao, K., 2004, Preparation of water-soluble chitossan, *J Appl Polym sci*, 91:3497-3503.
- Maghsoodi, V., Razavi, J. and Yaghmaei, S., 2009, Production of Chitosan by Submerged Fermentation from *Aspergillus niger*, *Chem Chem Eng*, 145-148.

- Nelson N., 1944, A photometric adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. *J Biol Chem*, 153: 375-380.
- Niederhofer, A., and Muller, B.W. 2004, A Method for Direct Preparation of Fungi Chitosan with Low Molecular Weight from Fungi. *Pharma Biopharma*, 57, pp. 101-105.
- Nwe, N., and Stevens, W. F. 2004, Effect of Urea on Fungal Chitosan Production in solid Substrate Fermentation, *Proc Biochem*, 39, 1639.
- Nwe, N., Stevens, W., Tokura, S., and Tamura, H, 2007, Characterization of chitosan-glucan complex extracted from cell wall of fungus *Gongnorea butleri* USDB 0201 by enzymatic method, *Enzy Micro Tech*, 42, 241-251
- Pochanavanich, P., and Suntornsuk, W. 2002. Fungal Chitosan Production and Its Characterization, *Lett Appl Microbio*, 35, 17-21.
- Poedjiadi, A., and Titin, F. M. S., 1994, *Dasar-dasar Biokimia*, UI Press, Jakarta, hlm 453.
- Purwanto, I., 2011, *Mengenal Lebih Dekat Leguminosae*. Kanisius, Yogyakarta, hlm 41.
- Rane, K. D., and Hoover, D. G. 1993, An Evaluation of alkali and acid treatments for Chitosan Extraction from Fungi, *Proc Biochem*, 28: 115-118.
- Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta
- Samson, R. A., Hoekstra, E. S., and Oorschot, C. A. N., 1996. *Introduction to Food Borne Fungi*, Centra Albureau for Schimmel Cultures, Netherland, hlm 4.
- Saksony, A. K., 2011, Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Kasar *Tetraselmis chuii* Metode Ekstraksi dan Jenis Pelarut Berbeda, *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.
- Sayekti, R. S., Prajitno, D., and Toekidjo, 2010, *Karakterisasi Dekapan Aksesori Kacang Tunggak (Vigna unguiculata L. Walp) Asal Daerah Istimewa Yogyakarta*, *Jurnal Penelitian* vol 1 no 1, 2012.
- Sisosuwarno, M., 1996, *Scanning Electron Microscope Sebagai Salah Satu Teknik Pemeriksaan Material. Seminar On in current knowledge Proceedings of metal 2004 National Museum of Australia Canberra ACT (4-8 october)*
- Silverstein, 2005, *Identification of Organic Compound*, 7th edition, New York, John Wiley & Sons Ltd, hlm 72.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., and Suhardi, 1997, *Prosedur Analisa Untuk Bahan Pangan Makanan dan Pertanian*, Yogyakarta: Liberti.

- Synoweicki, J., and Al-Khateeb N. A. A. Q., 1997, Mycelia of *Mucor rouxii* as a Source of Chitin and Chitosan, *Food Chem*, 60, 605-610.
- Tadjini, F., Amini, M. A., Varcheh. N. N., and Faramarzi, M. A., 2010., Production, Physiochemical and Antimicrobial Properties of Fungal Chitosan from *Rhizomucor mieheo* and *Mucor racemosus*, *J. Biological Macromolecules*, 47, 180-183
- Tan, S. C., Tan, T. K., Wong, S. M., and Khor, E., 1996, The Chitosan Yield of Zygomycetes at Their Optimum Harvesting Time, *Carbo polym*, 30, 239-242.
- Teng, W. L., Khor, E. Tan, T. K., Lim, L. Y., and Tan, S. C., 2001, Concurrent Production of Chitin from Shrimp Shells and Fungi, *Carbohydr Res* 332. 305-316.
- Tolaimate, A., Desbrieres, J., Rhazi, M., and Alagui, A., 2003. Contribution to the preparation of chitin and chitosans with controlled physic-chemical properties, *Poly*, 44:7939-7952.
- Trewin, N., 1988, *Use of Scanning Electron Microscope in Sedimentology*. Techniques in sedimentology. Blackwell Science Publications, Oxford.
- Veroka, S., 2010. Pemanfaatan Tepung Biji Koro Benguk (*Mucuna pruriens*) Sebagai Substitusi Tepung Kedelai pada Pakan Buatan Terhadap Pertumbuhna Benih Ikan Patin Siam, *Skripsi*, Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Winarno, F. G., 2002, *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Wulijani, S. N., and Maligalig, R. F., 1996, *Mucuna pruriens (L) DC, cv. Group Utilis. Prosea handbooks no 11, Auxillary plants*, Prose/Bogor Wageningen. The Netherlands.
- Wuryanti, 2008, Pengaruh Penambahan Biotin Pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel *Aspergillus niger*, *Bioma*, 2, 46-50.
- Yaghobi, N., and Mirzadeh, H. 2004, Enhancment of Chitins Degree of Acetylation by Multistage Alkali Treatment. *Iranian Poly J*, 13(2). Pp. 131-136
- Yulia, 2010, Pengaruh Penyimpanan Terhadap Kualitas Inokulum *Aspergillus niger* dan *Neurospora sitophila* untuk Hirolisis Tongkol Jagung, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

LAMPIRAN



Lampiran 1. Perhitungan uji proksimat

1. Kadar Air

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{[(\text{berat cawan} + \text{sampel}) - \text{berat kering}]}{(\text{berat sampel awal})} \times 100\%$$

a. Kacang koro pedang

$$1. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(13,5217 \text{ g} - 13,4979 \text{ g})}{(0,5039 \text{ g})} \times 100\% = 4,72\%$$

$$2. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(16,0077 \text{ g} - 15,9839 \text{ g})}{(0,5055 \text{ g})} \times 100\% = 4,73\%$$

$$3. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(16,2493 \text{ g} - 13,4979 \text{ g})}{(0,4930 \text{ g})} \times 100\% = 4,91\%$$

Rata-rata: $4,79 \pm 0,11\%$

b. Kacang gude

$$1. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(15,6002 \text{ g} - 15,5750 \text{ g})}{(0,5021 \text{ g})} \times 100\% = 5,02\%$$

$$2. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(13,1986 \text{ g} - 13,1698 \text{ g})}{(0,5428 \text{ g})} \times 100\% = 5,31\%$$

$$3. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(14,8900 \text{ g} - 14,8637 \text{ g})}{(0,5056 \text{ g})} \times 100\% = 5,20\%$$

Rata-rata: $5,24 \pm 0,06\%$

c. Kacang tunggak

$$1. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(16,4705 \text{ g} - 16,4464 \text{ g})}{(0,5085 \text{ g})} \times 100\% = 4,74 \%$$

$$2. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(17,4671 \text{ g} - 17,4409 \text{ g})}{(0,5624 \text{ g})} \times 100\% = 4,66 \%$$

$$3. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(14,8503 \text{ g} - 14,8251 \text{ g})}{(0,5053 \text{ g})} \times 100\% = 5,99\%$$

Rata-rata: $4,80 \pm 0,17\%$

d. Kacang merah

$$1. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(13,3870 \text{ g} - 13,3656 \text{ g})}{(0,4993 \text{ g})} \times 100\% = 4,29\%$$

$$2. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(15,4346 \text{ g} - 15,4125 \text{ g})}{(0,4961 \text{ g})} \times 100\% = 4,45\%$$

$$3. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(12,7716 \text{ g} - 12,7489 \text{ g})}{(0,5193 \text{ g})} \times 100\% = 4,37\%$$

Rata-rata: $4,37 \pm 0,08\%$

e. Koro benguk

$$1. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(15,9428 \text{ g} - 14,9165 \text{ g})}{(0,4966 \text{ g})} \times 100\% = 5,30\%$$

$$2. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(16,9812 \text{ g} - 16,9532 \text{ g})}{(0,4947 \text{ g})} \times 100\% = 5,66\%$$

$$3. \% \text{ Kadar Air} = \frac{(17,4747 \text{ g} - 17,4469 \text{ g})}{(0,5122 \text{ g})} \times 100\% = 5,43\%$$

Rata-rata: $5,46 \pm 0,18\%$

2. Kadar Abu

$$\text{Abu} = \frac{(\text{berat cawan setelah tanur} - \text{berat cawan kosong})}{(\text{berats ampel})} \times 100\%$$

a. Koro pedang

$$1. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(17,7568 \text{ g} - 17,7351 \text{ g})}{(1,0622 \text{ g})} \times 100\% = 2,04\%$$

$$2. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(12,0342 \text{ g} - 12,0144 \text{ g})}{(1,0445)} \times 100\% = 1,90\%$$

$$3. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(11,6571 \text{ g} - 11,6386 \text{ g})}{(0,9949 \text{ g})} \times 100\% = 1,89\%$$

Rata-rata: $1,94 \pm 0,08\%$

b. Kacang gude

$$1. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(17,5620 \text{ g} - 17,5312 \text{ g})}{(1,0180 \text{ g})} \times 100\% = 3,03\%$$

$$2. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(11,5535 \text{ g} - 11,5080 \text{ g})}{(1,4931 \text{ g})} \times 100\% = 3,05\%$$

$$3. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(12,2270 \text{ g} - 12,1992 \text{ g})}{(0,9213 \text{ g})} \times 100\% = 3,02\%$$

Rata-rata: $3,03 \pm 0,02\%$

c. Kacang tunggak

$$1. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(14,5391 \text{ g} - 14,5111 \text{ g})}{(1,0151 \text{ g})} \times 100\% = 2,76\%$$

$$2. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(11,6800 \text{ g} - 11,6534 \text{ g})}{(0,9701 \text{ g})} \times 100\% = 2,74\%$$

$$3. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(13,0454 \text{ g} - 13,0180 \text{ g})}{(1,0060 \text{ g})} \times 100\% = 2,72\%$$

Rata-rata: $2,74 \pm 0,02\%$

d. Kacang merah

$$1. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(13,8061 \text{ g} - 13,7659 \text{ g})}{(10602 \text{ g})} \times 100\% = 3,79\%$$

$$2. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(16,9048 \text{ g} - 16,8658 \text{ g})}{(1,0086 \text{ g})} \times 100\% = 3,87\%$$

$$3. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(16,5640 \text{ g} - 16,5257 \text{ g})}{(1,0013 \text{ g})} \times 100\% = 3,83\%$$

Rata-rata: $3,83 \pm 0,04\%$

e. Koro benguk

$$1. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(15,5323 \text{ g} - 15,5025 \text{ g})}{(1,0666 \text{ g})} \times 100\% = 2,79\%$$

$$2. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(13,3489 \text{ g} - 13,319 \text{ g})}{(1,0791 \text{ g})} \times 100\% = 2,77\%$$

$$3. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{(14,4746 \text{ g} - 14,4469 \text{ g})}{(0,9754 \text{ g})} \times 100\% = 2,84\%$$

Rata-rata: $2,80 \pm 0,04\%$

3. Kadar protein

$$\% \text{ N} = \frac{(\text{mL NaOH sampel} - \text{mL NaOH blanko})}{(\text{berat sampel} \times 1000)} \times \text{Normalitas HCl} \times 14,008 \times 100\%$$

$$\% \text{ protein} = \% \text{ N} \times 6,25 \text{ (faktor konversi)}$$

a. Kacang gude

$$1. \% \text{ N} = \frac{(9,42 \text{ mL} - 0,14 \text{ mL})}{(500,8 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 3,65\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,65 \% \times 6,25 = 22,79\%$$

$$2. \% \text{ N} = \frac{(9,46 \text{ mL} - 0,14 \text{ mL})}{(500,3 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 3,67\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,67 \% \times 6,25 = 22,93\%$$

$$3. \% \text{ N} = \frac{(13,9 \text{ mL} - 0,14 \text{ mL})}{(503,9 \text{ mg})} \times 0,0959 \times 14,008 \times 100\% = 3,67\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,67 \% \times 6,25 = 22,93\%$$

Rata-rata: $22,88 \pm 0,08\%$

b. Kacang koro pedang

$$1. \% \text{ N} = \frac{(8,86 \text{ mL} - 0,14 \text{ mL})}{(509,2 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 3,37\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,37 \% \times 6,25 = 21,06\%$$

$$2. \% \text{ N} = \frac{(8,86 \text{ mL} - 0,14 \text{ mL})}{(503,2 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 3,33\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,33 \% \times 6,25 = 20,83\%$$

$$3. \% \text{ N} = \frac{(8,84 \text{ mL} - 0,14 \text{ mL})}{(508,6 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 3,37\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,37 \% \times 6,25 = 21,04\%$$

Rata-rata: $20,98 \pm 0,13\%$

c. Kacang merah

$$1. \% \text{ N} = \frac{(9,42 \text{ ml} - 0,14 \text{ ml})}{(504,5 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 3,62\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,62 \% \times 6,25 = 22,63\%$$

$$2. \% \text{ N} = \frac{(9,46 \text{ ml} - 0,14 \text{ ml})}{(507 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 3,62\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,62 \% \times 6,25 = 22,61\%$$

$$3. \% \text{ N} = \frac{(13,63 \text{ ml} - 0,14 \text{ ml})}{(501,2 \text{ mg})} \times 0,0959 \times 14,008 \times 100\% = 3,62\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,62 \% \times 6,25 = 22,60\%$$

Rata-rata: $22,61 \pm 0,02\%$

d. Kacang tunggak

$$1. \% \text{ N} = \frac{(8,98 \text{ ml} - 0,14 \text{ ml})}{(504,1 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 3,45\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,45 \% \times 6,25 = 21,57 \%$$

$$2. \% \text{ N} = \frac{(8,42 \text{ ml} - 0,14 \text{ ml})}{(508,7 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 3,20\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,20 \% \times 6,25 = 20,02 \%$$

$$3. \% \text{ N} = \frac{(8,62 \text{ ml} - 0,14 \text{ ml})}{(500,3 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 3,34\%$$

$$\% \text{ protein} = 3,34 \% \times 6,25 = 20,85 \%$$

Rata-rata: $20,81 \pm 0,78\%$

e. Kacang koro benguk

$$1. \% \text{ N} = \frac{(10,84 \text{ ml} - 0,14 \text{ ml})}{(502,7 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 4,19\%$$

$$\% \text{ protein} = 4,19 \% \times 6,25 = 26,18 \%$$

$$2. \% \text{ N} = \frac{(10,84 \text{ ml} - 0,14 \text{ ml})}{(501,5 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 4,12\%$$

$$\% \text{ protein} = 4,12 \% \times 6,25 = 25,75 \%$$

$$3. \% N = \frac{(10,94 \text{ ml} - 0,14 \text{ ml})}{(504 \text{ mg})} \times 0,1405 \times 14,008 \times 100\% = 4,22\%$$

$$\% \text{ protein} = 4,22\% \times 6,25 = 26,36\%$$

Rata-rata: $26,10 \pm 0,31\%$

4. Kadar lemak

$$\% \text{ lemak} = \frac{(\text{Berat labu lemak setelah oven} - \text{Berat labu lemak sebelum oven})}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

a. Kacang gude

$$1. \% \text{ Lemak} = \frac{(45,2954 \text{ g} - 45,2711 \text{ g})}{(2,0427 \text{ g})} \times 100\% = 1,19\%$$

$$2. \% \text{ Lemak} = \frac{(55,3399 \text{ g} - 55,3143 \text{ g})}{(2,0809 \text{ g})} \times 100\% = 1,23\%$$

$$3. \% \text{ Lemak} = \frac{(58,0968 \text{ g} - 58,0762 \text{ g})}{(2 \text{ g})} \times 100\% = 1,03\%$$

Rata-rata: $1,15 \pm 0,11\%$

b. Kacang pedang

$$1. \% \text{ Lemak} = \frac{(51,5988 \text{ g} - 51,5824 \text{ g})}{(2,0823 \text{ g})} \times 100\% = 0,79\%$$

$$2. \% \text{ Lemak} = \frac{(59,6098 \text{ g} - 59,5912 \text{ g})}{(2,0410 \text{ g})} \times 100\% = 0,91\%$$

$$3. \% \text{ Lemak} = \frac{(45,2863 \text{ g} - 45,2875 \text{ g})}{(2,0729 \text{ g})} \times 100\% = 0,90\%$$

Rata-rata: $0,87 \pm 0,07\%$

c. Kacang merah

$$1. \% \text{ Lemak} = \frac{(52,1782 \text{ g} - 52,1513 \text{ g})}{(2,0396 \text{ g})} \times 100\% = 1,32\%$$

$$2. \% \text{ Lemak} = \frac{(58,8208 \text{ g} - 58,7968 \text{ g})}{(2,0775 \text{ g})} \times 100\% = 1,16\%$$

$$3. \% \text{ Lemak} = \frac{(59,5856 \text{ g} - 59,5628 \text{ g})}{(2,0525 \text{ g})} \times 100\% = 1,11\%$$

Rata-rata: $1,20 \pm 0,11\%$

d. Kacang tunggak

$$1. \% \text{ Lemak} = \frac{(59,6545 \text{ g} - 59,6131 \text{ g})}{(2,0426 \text{ g})} \times 100\% = 2,03\%$$

$$2. \% \text{ Lemak} = \frac{(60,5102 \text{ g} - 60,4741 \text{ g})}{(2,0190 \text{ g})} \times 100\% = 1,79\%$$

$$3. \% \text{ Lemak} = \frac{(53,4533 \text{ g} - 53,4145 \text{ g})}{(2,0656 \text{ g})} \times 100\% = 1,88\%$$

Rata-rata: $1,90 \pm 0,12\%$

e. Koro benguk

$$1. \% \text{ Lemak} = \frac{(59,6292 \text{ g} - 59,5639 \text{ g})}{(2,0587 \text{ g})} \times 100\% = 3,18\%$$

$$2. \% \text{ Lemak} = \frac{(60,5345 \text{ g} - 60,5351 \text{ g})}{(2,0628 \text{ g})} \times 100\% = 3,05\%$$

$$3. \% \text{ Lemak} = \frac{(59,6523 \text{ g} - 59,5892 \text{ g})}{(2,0624 \text{ g})} \times 100\% = 3,06\%$$

Rata-rata: $3,10 \pm 0,07\%$

5. Analisis karbohidrat

$$\% \text{ karbohidrat} = 100 - \% (\text{protein} - \text{air} - \text{lemak} - \text{abu})$$

a. Kacang gude

$$1. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (5,20 - 3,03 - 22,79 - 1,19) = 67,79\%$$

$$2. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (5,20 - 3,05 - 22,91 - 1,23) = 67,61\%$$

$$3. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (5,31 - 3,02 - 22,93 - 1,03) = 67,71\%$$

Rata-rata: $67,70 \pm 0,09\%$

b. Kacang pedang

$$1. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (4,72 - 2,04 - 21,06 - 0,90) = 71,28\%$$

$$2. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (4,73 - 1,90 - 20,83 - 0,79) = 71,75\%$$

$$3. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (4,91 - 1,89 - 21,04 - 0,91) = 71,25\%$$

Rata-rata: $71,43 \pm 0,28\%$

c. Kacang merah

$$1. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (4,29 - 3,79 - 22,63 - 1,31) = 67,97\%$$

$$2. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (4,45 - 3,83 - 22,61 - 1,16) = 67,95\%$$

$$3. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (4,37 - 3,87 - 22,60 - 1,11) = 67,05\%$$

Rata-rata: $67,99 \pm 0,05\%$

d. Kacang tunggak

$$1. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (4,74 - 2,76 - 21,57 - 2,03) = 68,90\%$$

$$2. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (4,66 - 2,74 - 20,02 - 1,79) = 70,79\%$$

$$3. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (4,99 - 2,72 - 20,85 - 1,88) = 69,56\%$$

Rata-rata: $69,75 \pm 0,96\%$

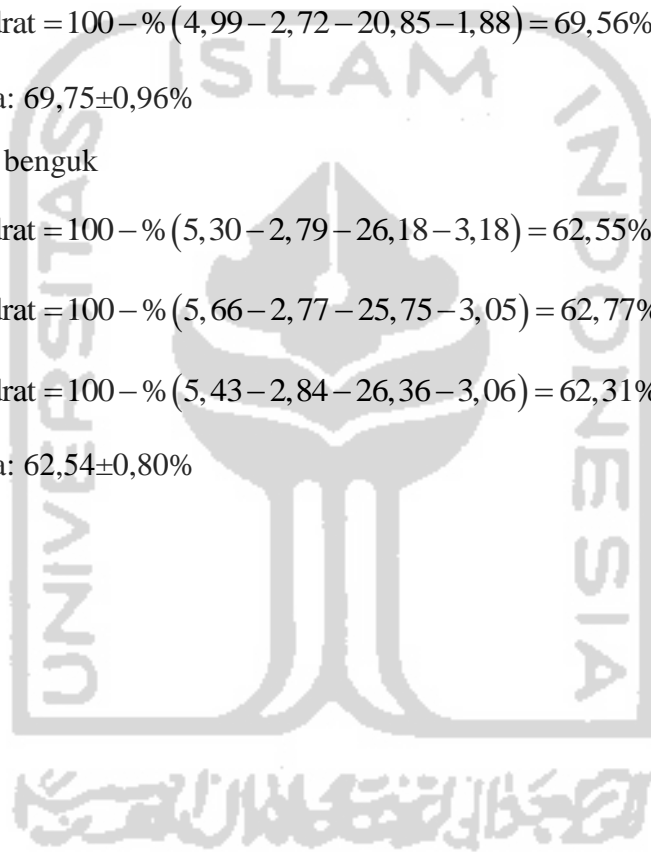
e. Kacang koro benguk

$$1. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (5,30 - 2,79 - 26,18 - 3,18) = 62,55\%$$

$$2. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (5,66 - 2,77 - 25,75 - 3,05) = 62,77\%$$

$$3. \% \text{ Karbohidrat} = 100 - \% (5,43 - 2,84 - 26,36 - 3,06) = 62,31\%$$

Rata-rata: $62,54 \pm 0,80\%$



Lampiran 2 Pembuatan reagen Nelson

1. Nelson A

Ditimbang sebanyak 12,5 gram natrium karbonat anhidrat, 12,5 gram garam Rochelle, 10 gram natrium bikarbonat dan 100 gram natrium sulfat anhidrat. Kemudian setelah ditimbang masing masing bahan dilarutkan dengan akuades hingga larut, setelah itu semua larutan dicampurkan dan diencerkan hingga 500 mL.

2. Nelson B

Ditimbang sebanyak 7,5 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan kemudian dilarutkan dengan akuades sebanyak 50 mL. Setelah itu ditambahkan 1 tetes H_2SO_4 pekat.

3. Reagen Nelson

Reagen Nelson dibuat dengan cara mencampurkan 25 bagian reagen nelson A dan 1 bagian Nelson B. Pencampuran dilakukan pada saat sebelum digunakan untuk analisis

4. Pembuatan larutan Arsenomolibdat

Ditimbang sebanyak 25 gram amonium molibdat dan dilarutkan ke dalam 450 mL akuades lalu ditambahkan sebanyak 25 mL H_2SO_4 pekat. Ditimbang sebanyak 3 gram $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ kemudian dilarutkan ke dalam 25 mL akuades. Setelah itu dicampurkan larutan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

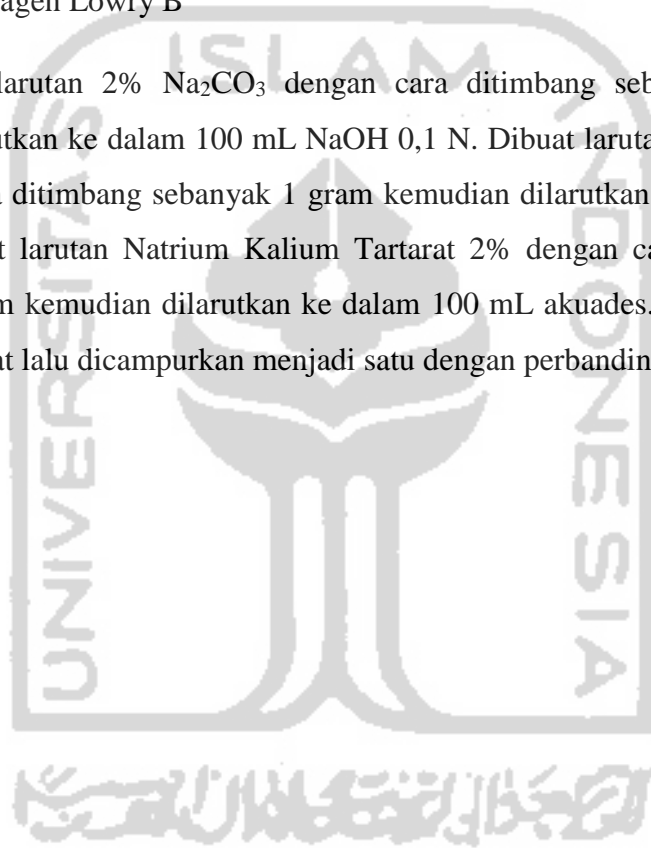
Lampiran 3. Pembuatan reagen Lowry

1. Pembuatan reagen Lowry A

Reagen lowry A merupakan larutan asam phospo-tungstic-phospho-molybdic atau larutan Folin. Pembuatannya yaitu dengan cara diencerkan dengan akuades dengan perbandingan 1:1.

2. Pembuatan reagen Lowry B

Dibuat larutan 2% Na_2CO_3 dengan cara ditimbang sebanyak 2 gram kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL NaOH 0,1 N. Dibuat larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% dengan cara ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades. Dibuat larutan Natrium Kalium Tartarat 2% dengan cara menimbang sebanyak 2 gram kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL akuades. Semua larutan yang telah dibuat lalu dicampurkan menjadi satu dengan perbandingan 100:1:1.



Lampiran 4. Hasil analisis proksimat

Jenis Kacang	Kadar air %	Kadar Abu %	Protein %	Lemak %	Karbohidrat %
Koro Pedang	4,79±0,11	1,94±0,08	20,98±0,13	0,87±0,07	71,43±0,28
Gude	5,24±0,06	3,03±0,02	22,88±0,08	1,15±0,11	67,70±0,09
Tunggak	4,80±0,17	2,74±0,02	20,81±0,78	1,90±0,12	69,75±0,96
Merah	4,37±0,08	3,83±0,04	22,61±0,02	1,20±0,11	67,99±0,05
Koro Benguk	5,46±0,18	2,80±0,04	26,10±0,31	3,10±0,07	62,55±0,80



Lampiran 5. Perhitungan konsentrasi larutan standar glukosa

Larutan standar glukosa 500 ppm

- Ditimbang sebanyak 50 mg
- Dilarutkan dalam 100 mL aquades

➤ Glukosa 0 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 0 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0 \text{ mL}$$

➤ Glukosa 20 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ mL}$$

➤ Glukosa 40 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 40 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{200 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

➤ Glukosa 60 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 60 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{300 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ mL}$$

- Glukosa 80 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 80 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{400 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ mL}$$

- Glukosa 100 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{500 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

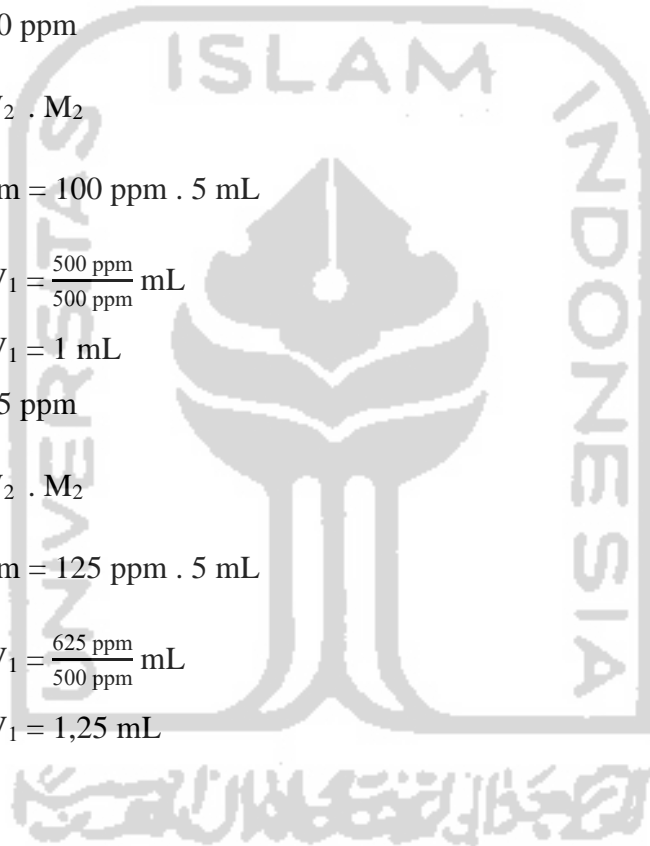
- Glukosa 125 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

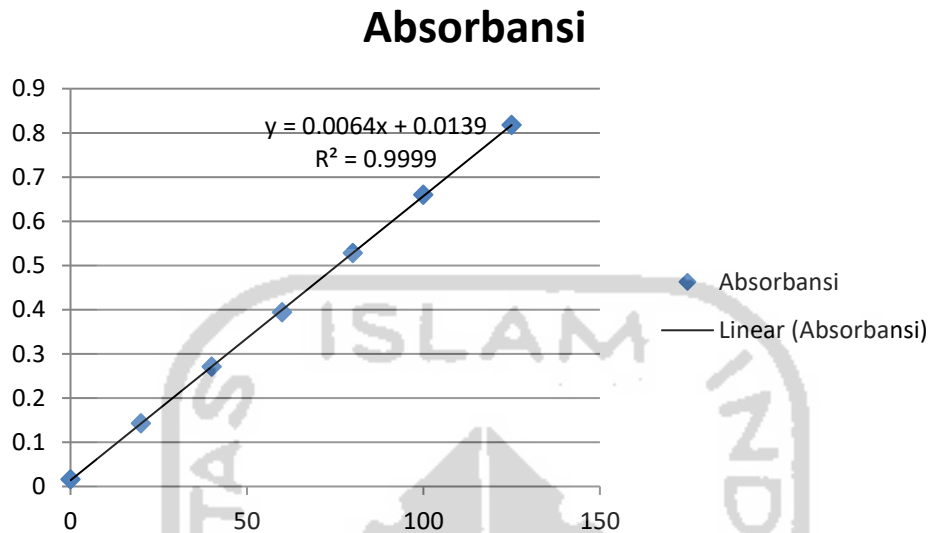
$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 125 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{625 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 1,25 \text{ mL}$$



Lampiran 6. Perhitungan kadar konsentrasi gula reduksi pada sampel



Dari kurva kalibrasi larutan standar glukosa diatas, dapat ditentukan kadar sampel media kacang dengan analisis regresi linear, dengan persamaan sebagai berikut

$$y = b x + a$$

$$y = 0,006 x + 0,013$$

Dimana:

y = absorbansi larutan sampel

x = konsentrasi sampel

b = slope =0,006

a = intersep = 0,013

Faktro pengenceran (fp) = 20 kali

1. Konsentrasi gula reduksi pada sampel kacang koro pedang

$$y = 0,006 x + 0,013 , \text{ absorbansi sampel} = 0,216$$

$$y = 0,006 x + 0,013$$

$$0,216 = 0,006 x + 0,013$$

$$X = \frac{0,216-0,013}{0,006}$$

$$X = 33,83$$

$$\text{Kadar (ppm)} = X \times Fp$$

$$= 33,83 \times 20$$

$$= 676,6 \text{ ppm (mg/L)}$$

$$= 13,5 \text{ (mg/g)}$$

2. Konsentrasi gula reduksi pada sampel kacang koro benguk

$$y = 0,006 x + 0,013, \text{ absorbansi sampel} = 0,667$$

$$y = 0,006 x + 0,013$$

$$0,667 = 0,006 x + 0,013$$

$$X = \frac{0,667-0,013}{0,006}$$

$$X = 109$$

$$\text{Kadar (ppm)} = X \times Fp$$

$$= 109 \times 20$$

$$= 2180 \text{ ppm (mg/L)}$$

$$= 43,6 \text{ (mg/g)}$$

3. Konsentrasi gula reduksi pada sampel kacang tunggak

$$y = 0,006 x + 0,013, \text{ absorbansi sampel} = 0,023$$

$$y = 0,006 x + 0,013$$

$$0,023 = 0,006 x + 0,013$$

$$X = \frac{0,023-0,013}{0,006}$$

$$X = 1,5$$

$$\text{Kadar (ppm)} = X \times Fp$$

$$= 1,5 \times 20$$

$$= 676,6 \text{ ppm (mg/L)}$$

$$= 30 \text{ (mg/g)}$$

4. Konsentrasi gula reduksi pada sampel kacang merah

$$y = 0,006 x + 0,013, \text{ absorbansi sampel} = 0,031$$

$$y = 0,006 x + 0,013$$

$$0,031 = 0,006 x + 0,013$$

$$X = \frac{0,031-0,013}{0,006}$$

$$X = 3$$

$$\text{Kadar (ppm)} = X \times Fp$$

$$= 3 \times 20$$

$$= 60 \text{ ppm (mg/L)}$$

$$= 1,2 \text{ (mg/g)}$$

5. Konsentrasi gula reduksi pada sampel kacang gude

$$y = 0,006 x + 0,013, \text{ absorbansi sampel} = 0,061$$

$$y = 0,006 x + 0,013$$

$$0,061 = 0,006 x + 0,013$$

$$X = \frac{0,061 - 0,013}{0,006}$$

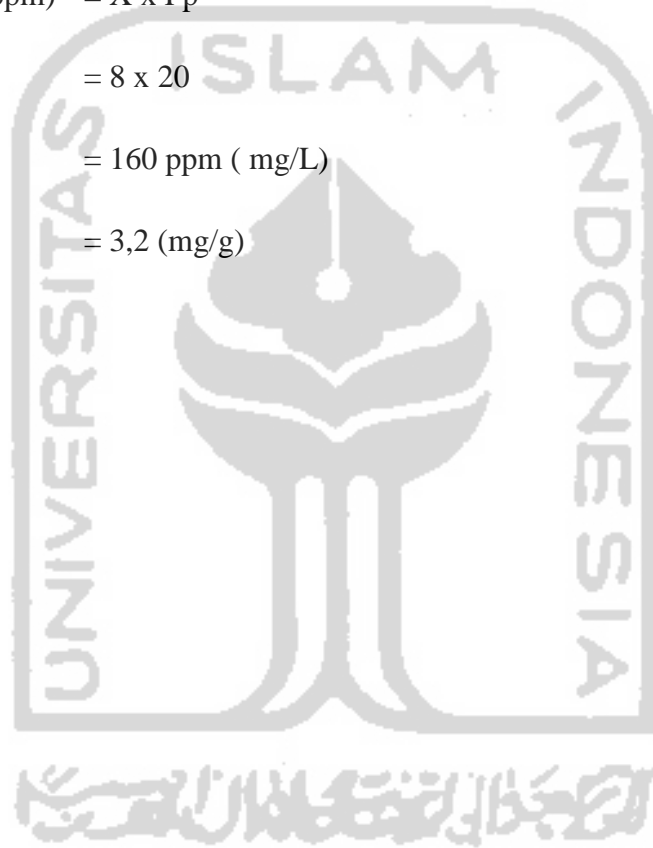
$$X = 8$$

$$\text{Kadar (ppm)} = X \times Fp$$

$$= 8 \times 20$$

$$= 160 \text{ ppm (mg/L)}$$

$$= 3,2 \text{ (mg/g)}$$



Lampiran 7. Perhitungan konsentrasi larutan standar BSA

Larutan standar BSA 500 ppm

- Ditimbang sebanyak 50 mg
- Dilarutkan dalam 100 mL aquades

➤ BSA 0 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 0 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0 \text{ mL}$$

➤ BSA 25 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 25 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{125 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ mL}$$

➤ BSA 50 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 50 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{250 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

➤ BSA 100 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{500 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

- BSA 150 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 150 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{750 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 1,5 \text{ mL}$$

- BSA 250 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 250 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{1250 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 2,5 \text{ mL}$$

- BSA 350 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 350 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{1750 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 3,5 \text{ mL}$$

- BSA 500 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

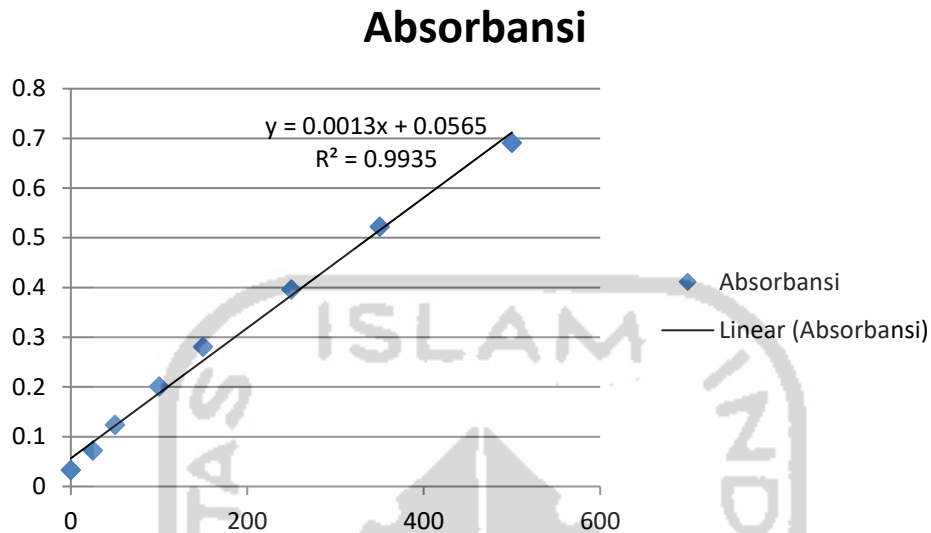
$$V_1 \cdot 500 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm} \cdot 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{2500 \text{ ppm}}{500 \text{ ppm}} \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$



Lampiran 8. Perhitungan kadar konsentrasi protein terlarut pada sampel



Dari kurva kalibrasi larutan standar glukosa diatas, dapat ditentukan kadar sampel media kacang dengan analisis regresi linear, dengan persamaan sebagai berikut

$$y = b x + a$$

$$y = 0,001 x + 0,056$$

Dimana:

y = absorbansi larutan sampel

x = konsentrasi sampel

b = slope = 0,001

a = intersep = 0,056

Faktor pengenceran (fp) = 20 kali

1. Konsentrasi protein terlarut pada sampel kacang koro pedang

$$y = 0,001 x + 0,056, \text{ absorbansi sampel} = 0,088$$

$$y = 0,001 x + 0,056$$

$$0,088 = 0,001 x + 0,056$$

$$X = \frac{0,088-0,056}{0,001}$$

$$X = 3,2$$

$$\text{Kadar (ppm)} = X \times Fp$$

$$= 3,2 \times 20$$

$$= 64 \text{ ppm (mg/L)}$$

$$= 1,3 \text{ (mg/g)}$$

2. Konsentrasi protein terlarut pada sampel kacang koro bengkak

$$y = 0,001 x + 0,056, \text{ absorbansi sampel} = 0,399$$

$$y = 0,001 x + 0,056$$

$$0,399 = 0,001 x + 0,056$$

$$X = \frac{0,399-0,056}{0,001}$$

$$X = 6860$$

$$\text{Kadar (ppm)} = X \times Fp$$

$$= 6860 \times 20$$

$$= 6860 \text{ ppm (mg/L)}$$

$$= 137,2 \text{ (mg/g)}$$

3. Konsentrasi protein terlarut pada sampel kacang tunggak

$$y = 0,001 x + 0,056, \text{ absorbansi sampel} = 0,113$$

$$y = 0,001 x + 0,056$$

$$0,113 = 0,001 x + 0,056$$

$$X = \frac{0,113-0,056}{0,001}$$

$$X = 57$$

$$\text{Kadar (ppm)} = X \times Fp$$

$$= 57 \times 20$$

$$= 1140 \text{ ppm (mg/L)}$$

$$= 22,8 \text{ (mg/g)}$$

4. Konsentrasi protein terlarut pada sampel kacang merah

$$y = 0,001 x + 0,056, \text{ absorbansi sampel} = 0,120$$

$$y = 0,001 x + 0,056$$

$$0,120 = 0,001 x + 0,056$$

$$X = \frac{0,113-0,056}{0,001}$$

$$X = 64$$

$$\text{Kadar (ppm)} = X \times Fp$$

$$= 64 \times 20$$

$$= 1280 \text{ ppm (mg/L)}$$

$$= 25,6 \text{ (mg/g)}$$

5. Konsentrasi protein terlarut pada sampel kacang gude

$$y = 0,001 x + 0,056, \text{ absorbansi sampel} = 0,062$$

$$y = 0,001 x + 0,056$$

$$0,062 = 0,001 x + 0,056$$

$$X = \frac{0,113-0,056}{0,001}$$

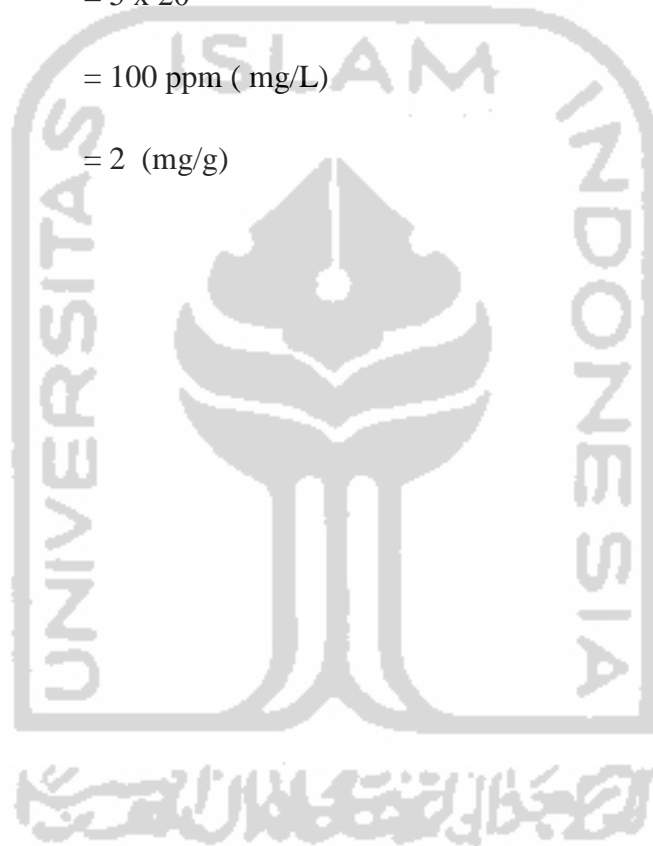
$$X = 5$$

$$\text{Kadar (ppm)} = X \times Fp$$

$$= 5 \times 20$$

$$= 100 \text{ ppm (mg/L)}$$

$$= 2 \text{ (mg/g)}$$



Lampiran 9. Perhitungan rendemen kitosan

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat kitosan}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100\%$$

1. PDB (pemanasan)

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{0,0250}{1,7767} \times 100\% = 1,4071\%$$

2. PDB (refluks)

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{0,0830}{1,6980} \times 100\% = 4,8881\%$$

3. Kacang koro benguk

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{0,0195}{0,6799} \times 100\% = 2,868 \%$$

4. Kacang koro pedang

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{0,0143}{0,5046} \times 100\% = 2,8339\%$$

5. Kacang tunggak

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{0,0193}{0,8107} \times 100\% = 2,3807\%$$

6. Kacang gude

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{0,0128}{0,4529} \times 100\% = 2,8261\%$$

7. Kacang merah

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{0,0105}{0,6199} \times 100\% = 1,6938\%$$

Lampiran 10. Peralatan dalam analisis proksimat

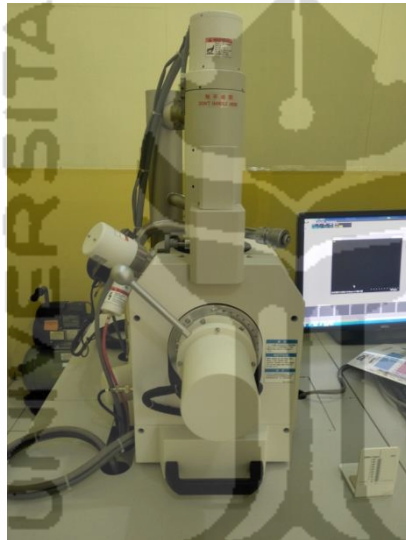


Lampiran 11. Alat-alat instrumen



Spektrofotometer UV-VIS

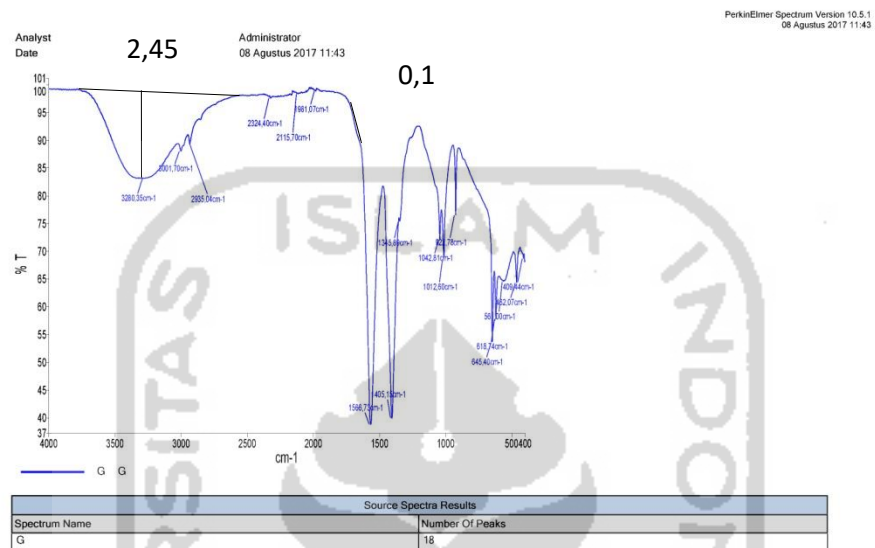
FTIR



SEM

Lampiran 12. Perhitungan derajat deasetilasi kitosan

1. Kacang gude

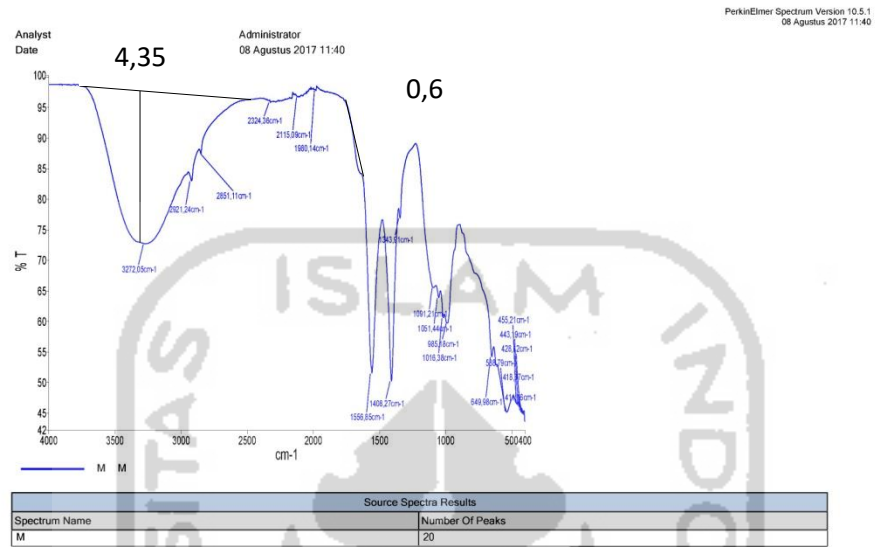


Page 1

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 75,2 \right)$$

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{0,1}{2,45} \times 75,2 \right) = 96,93\%$$

2. Kacang merah

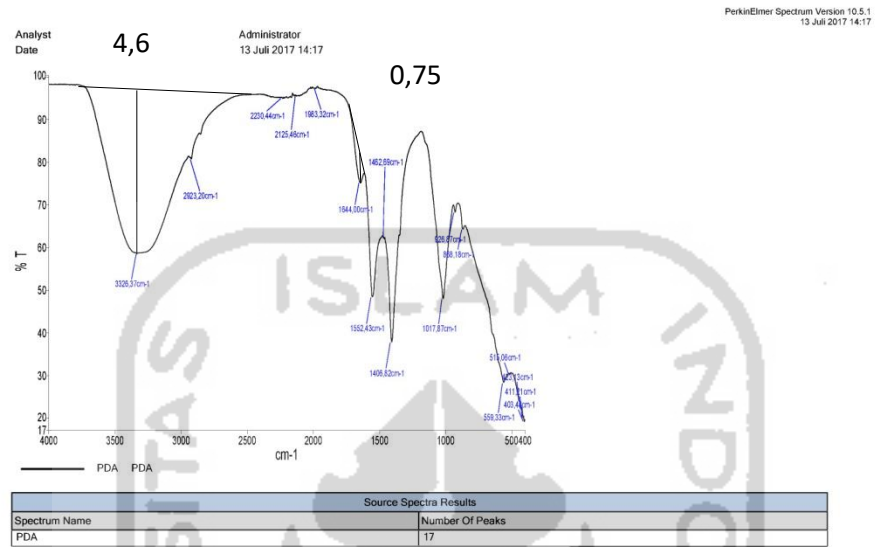


Page 1

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 75,2 \right)$$

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{0,6}{4,35} \times 75,2 \right) = 89,62\%$$

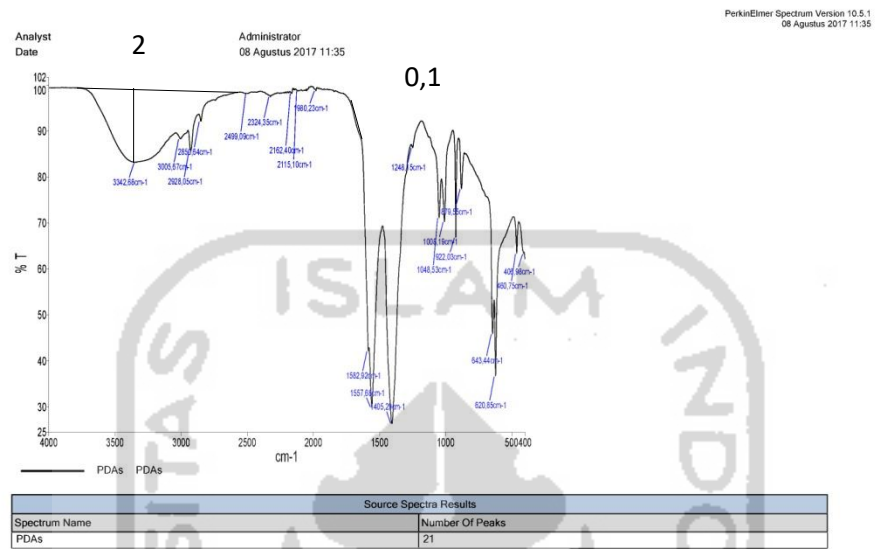
3. PDA pemanasan



$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 75,2 \right)$$

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{0,75}{4,6} \times 75,2 \right) = 87,73\%$$

4. PDA sonikasi

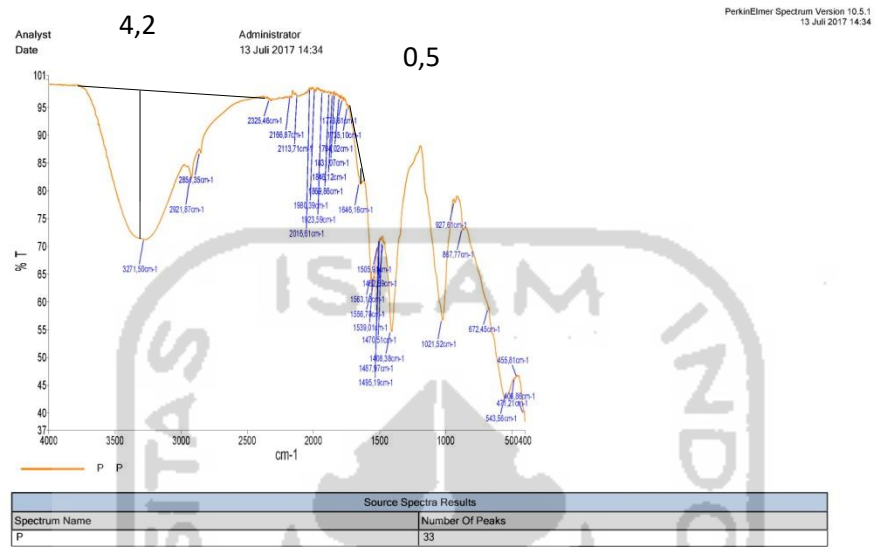


Page 1

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 75,2 \right)$$

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{0,1}{2} \times 75,2 \right) = 96,24\%$$

5. Kacang koro pedang

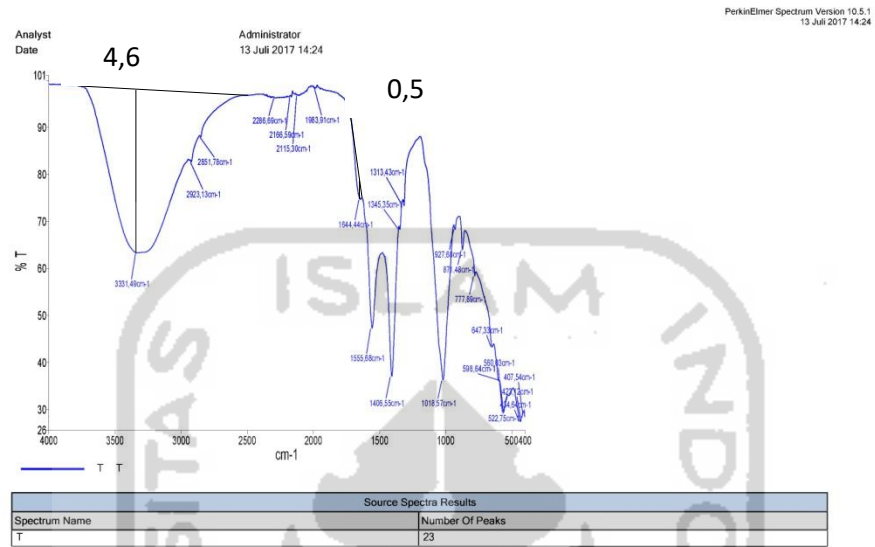


Page 1

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 75,2 \right)$$

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{0,5}{4,2} \times 75,2 \right) = 91,04\%$$

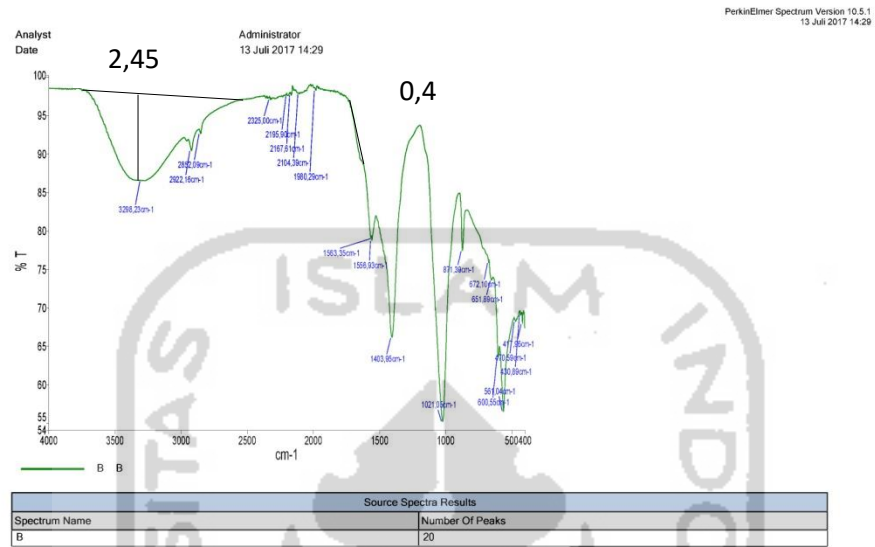
6. Kacang tunggak



$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 75,2 \right)$$

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{0,5}{4,6} \times 75,2 \right) = 91,82\%$$

7. Kacang koro benguk

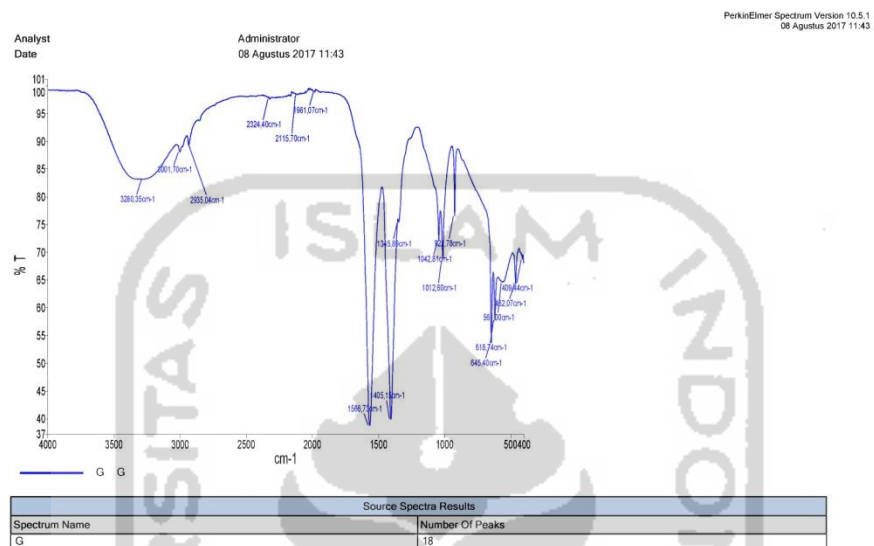


$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 75,2 \right)$$

$$DD[\%] = 100 - \left(\frac{0,4}{2,45} \times 75,2 \right) = 81,22\%$$

Lampiran 13. Hasil data analisis FTIR

1. Kacang gude



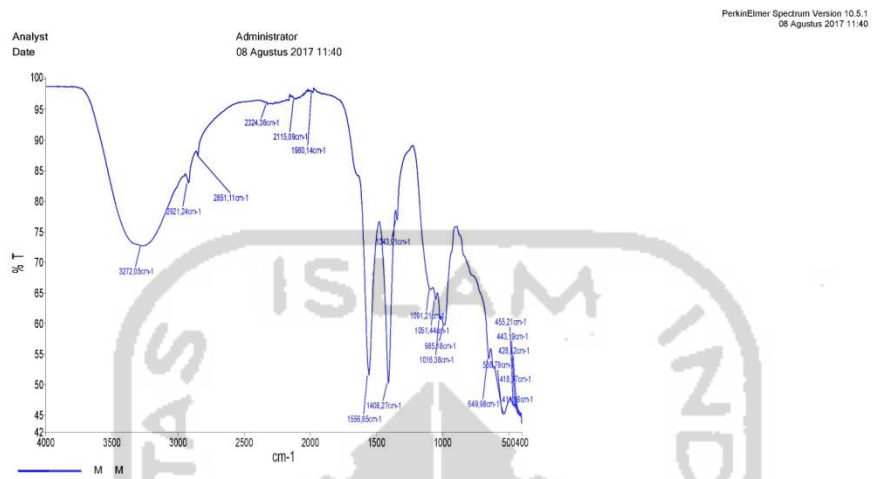
Page 1

PerkinElmer Spectrum Version 10.5.1
08 Agustus 2017 11:43

Peak Number	X (cm-1) (cm-1)
1	3280.35
2	3001.7
3	2935.04
4	2324.4
5	2115.7
6	1981.07
7	1566.73
8	1405.15
9	1345.89
10	1042.81
11	1012.6
12	922.78
13	645.4
14	618.74
15	561
16	462.07
17	409.44
18	401.08

Page 2

2. Kacang merah



Source Spectra Results	
Spectrum Name	Number Of Peaks
M	20

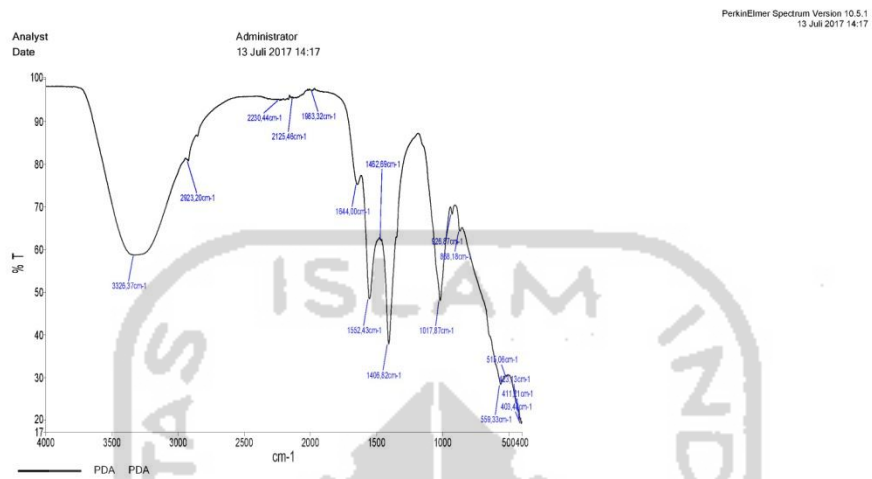
Page 1

PerkinElmer Spectrum Version 10.5.1
08 Agustus 2017 11:40

List of Peak Area/Height	
Peak Number	X (cm-1) (cm-1)
1	3272.05
2	2921.24
3	2851.11
4	2324.36
5	2115.09
6	1980.14
7	1556.85
8	1408.27
9	1343.91
10	1091.21
11	1051.44
12	1016.38
13	985.18
14	649.98
15	538.79
16	455.21
17	443.19
18	428.12
19	418.87
20	411.16

Page 2

3. PDA (pemansan)



Source Spectra Results	
Spectrum Name	Number Of Peaks
PDA	17

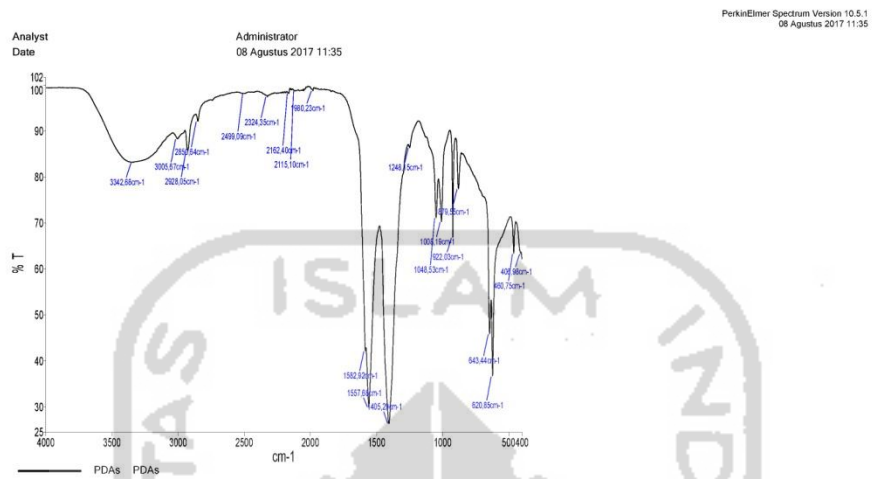
Page 1

PerkinElmer Spectrum Version 10.5.1
13 Juli 2017 14:17

List of Peak Area/Height	
Peak Number	X (cm-1) (cm-1)
1	3326.37
2	2923.2
3	2330.44
4	2125.46
5	1983.32
6	1644
7	1552.43
8	1462.69
9	1406.82
10	1017.87
11	926.87
12	868.18
13	559.33
14	515.06
15	423.13
16	411.21
17	403.48

Page 2

4. PDA (sonikasi)



Source Spectra Results	
Spectrum Name	Number Of Peaks
PDAs	21

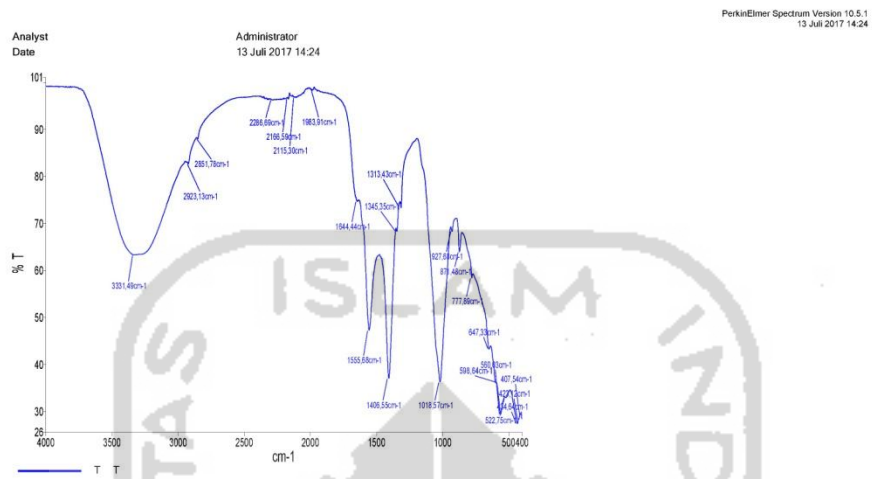
Page 1

PerkinElmer Spectrum Version 10.5.1
08 Agustus 2017 11:35

List of Peak Area/Height	
Peak Number	X (cm-1) (cm-1)
1	3342.68
2	3005.67
3	2928.05
4	2850.64
5	2499.09
6	2324.35
7	2162.4
8	2115.1
9	1980.23
10	1582.92
11	1557.68
12	1405.29
13	1248.15
14	1048.53
15	1008.19
16	922.03
17	879.55
18	643.44
19	620.85
20	460.75
21	406.98

Page 2

5. Kacang Tunggak



Source Spectra Results	
Spectrum Name	Number Of Peaks
T	23

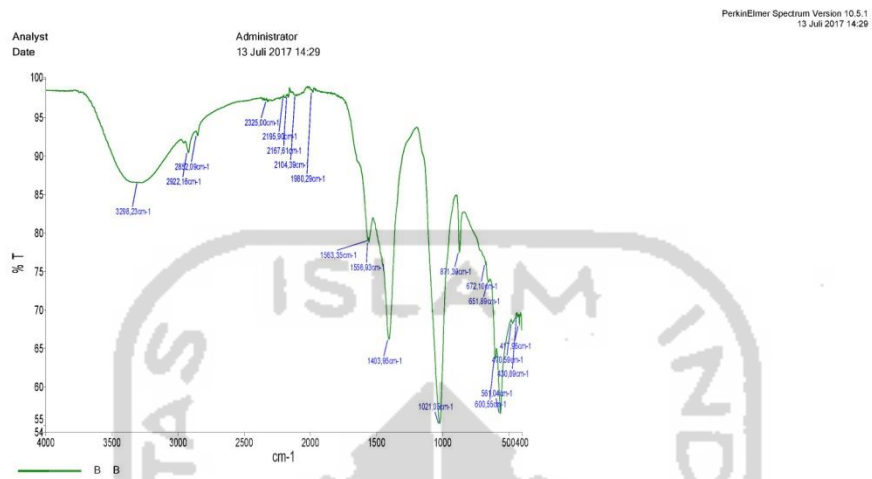
Page 1

PerkinElmer Spectrum Version 10.5.1
13 Juli 2017 14:24

List of Peak Area/Height	
Peak Number	X (cm-1) (cm-1)
1	3331.49
2	2923.13
3	2851.78
4	2286.69
5	2166.59
6	2115.3
7	1983.91
8	1644.44
9	1555.68
10	1406.55
11	1345.35
12	1313.43
13	1018.57
14	927.68
15	871.48
16	777.89
17	647.33
18	598.64
19	560.03
20	522.75
21	434.64
22	423.12
23	407.54

Page 2

6 .Kacang koro bunguk



Source Spectra Results	
Spectrum Name	Number Of Peaks
B	20

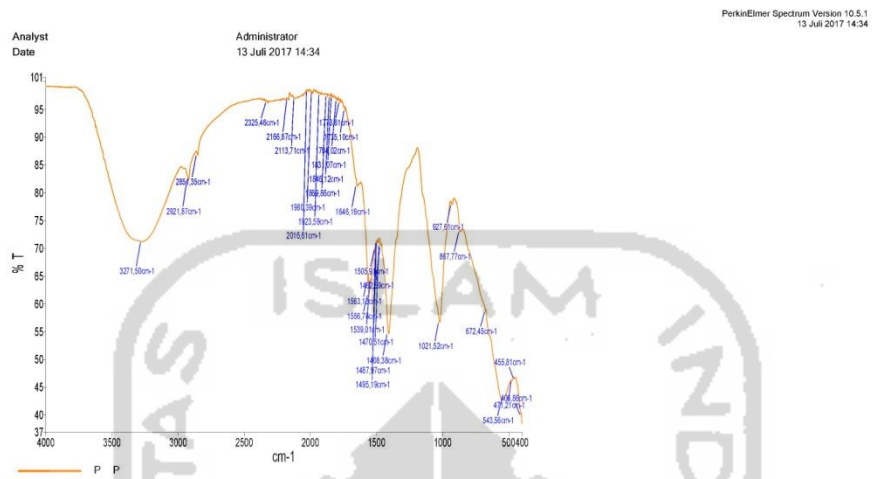
Page 1

PerkinElmer Spectrum Version 10.5.1
13 Juli 2017 14:29

List of Peak Area/Height	
Peak Number	X (cm-1) (cm-1)
1	3298.23
2	2922.16
3	2852.09
4	2325
5	2195.9
6	2167.61
7	2104.39
8	1980.29
9	1583.35
10	1556.93
11	1403.95
12	1021.05
13	971.39
14	672.1
15	651.89
16	600.55
17	561.04
18	470.59
19	430.89
20	417.96

Page 2

7. Kacang koro pedang



Source Spectra Results	
Spectrum Name	Number Of Peaks
P	33

Page 1

PerkinElmer Spectrum Version 10.5.1
13 Juli 2017 14:34

List of Peak Area/Height	
Peak Number	X (cm-1) (cm-1)
1	3271.5
2	2921.87
3	2851.35
4	2325.46
5	2166.87
6	2113.71
7	2016.61
8	1980.39
9	1923.59
10	1869.86
11	1846.12
12	1831.07
13	1794.02
14	1773.81
15	1735.1
16	1646.16
17	1563.13
18	1556.78
19	1539.01
20	1505.91
21	1495.19
22	1487.97
23	1470.51
24	1462.59
25	1408.38
26	1021.52
27	827.81
28	867.77
29	672.45
30	543.56
31	471.21

Page 2

PerkinElmer Spectrum Version 10.5.1
13 Juli 2017 14:34

List of Peak Area/Height	
Peak Number	X (cm-1) (cm-1)
32	455,81
33	406,86



SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertand tangan di bawah ini:

Nama : Fitrio Romadhoni

NIM : 13612039

Fakultas/Jurusan : MIPA/Kimia


Dengan ini menyatakan bahwa judul skripsi "**Pengaruh Ekstrak Kacang-Kacangan pada Fermentasi Terendam oleh Jamur *Aspergillus niger* Terhadap Kitosan yang Dihasilkan**" benar bebas dari plagiat, dan apabila pernyataan ini tidak benar maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 27 September 2017

Yang membuat pernyataan,




Fitrio Romadhoni