

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rajungan (*Portunus pelagicus*)

Rajungan merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi. Rajungan berbeda dengan kepiting dimana bentuk dan ukuran karapasnya berbeda. Rajungan memiliki karapas dan duri cangkang yang relatif lebih panjang dibanding dengan kepiting bakau. Selain itu rajungan memiliki lebih banyak warna dibanding kepiting bakau. Rajungan jantan memiliki warna biru dan bercak-bercak putih pada cangkangnya, sedangkan rajungan betina memiliki warna hijau kecoklatan dengan bercak-bercak putih kotor (Yanuar, 2008).

Cangkang merupakan bagian terkeras dari semua komponen rajungan. Cangkang rajungan tersusun atas beberapa lapisan. Lapisan penyusun cangkang rajungan disebut *kutikula*. Lapisan paling luar dari kutikula disebut sebagai *epikutikula*. Lapisan dibawah epikutikula disebut prokutikula. Lapisan prokutikula tersusun dari kitin, protein dan garam kalsium. Dalam lapisan prokutikula terdiri atas dua lapisan yaitu lapisan *preecdysal procuticle* dan *postecdysial procuticle*. Lapisan *postecdysial procuticle* terdiri dari dua lapisan yaitu *principal layer* dan *membranous layer*. Sedangkan lapisan dibawah prokutikula disebut lapisan epidermis. Pada umumnya cangkang rajungan mengandung 20-30% kitin, 30-40% protein, 30-50% mineral (CaCO_3) serta sedikit MgCO_3 dan pigmen *astaxanthin* (Martati dkk., 2002).

Rajungan tergolong hewan yang hidup di dasar laut dan berenang ke dekat permukaan laut untuk mencari makan, sehingga disebut pula *swimming crab* atau *blue swimming crab* yang artinya kepiting perenang (Sumiono, 2010). Rajungan termasuk salah satu famili dari seksi kepiting (*Brachyura*) dan ordo *Decapoda* (deka = sepuluh; pous = kaki) (Moosa, 1980).

P. pelagicus termasuk famili Portunidae (Svane dan Hooper, 2004). Kulit punggung atau karapas *P. pelagicus* berwarna hijau kecokelatan dengan

permukaan yang kasar, bercorak, dan jari-jari berwarna ungu. Bagian depan memiliki sembilan gigi berbentuk segitiga (Galil, 2006).

Taksonomi rajungan *P. pelagicus* berdasarkan Kangas (2000) sebagai berikut:

Phylum : Crustacea

Class : Malacostraca

Subclass : Eumalacostraca

Order : Decapoda

Family : Portunidae



Gambar 2.1 Bentuk Rajungan

(Sumber: Cantika, 2018)

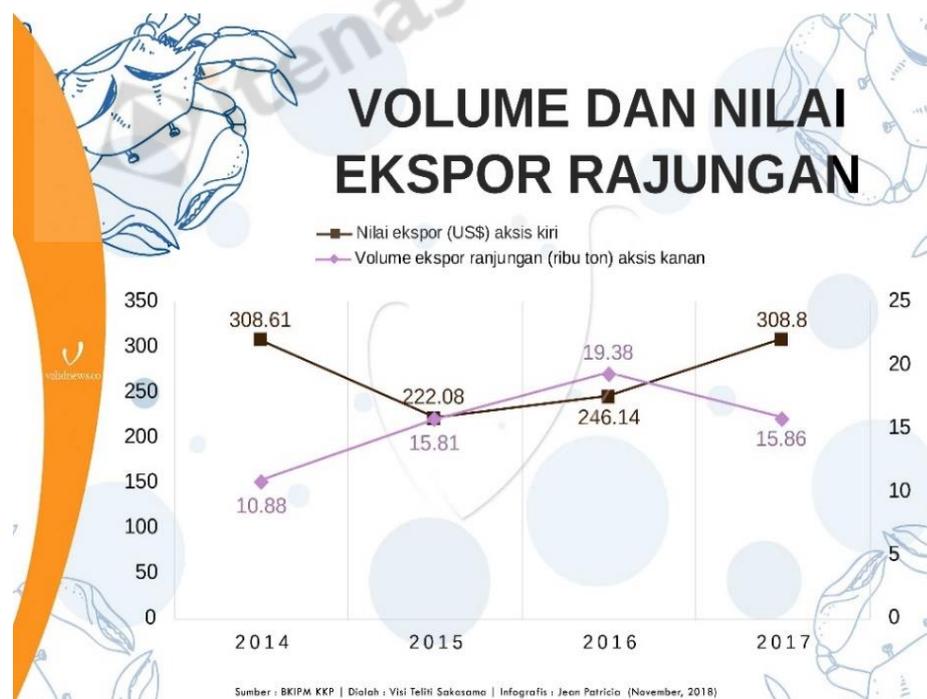
2.1.1 Rajungan di Indonesia

Wilayah perairan Indonesia merupakan sumber cangkang hewan invertebrata laut berkulit keras (*Crustacea*) yang mengandung kitin secara berlimpah. Kitin yang terkandung dalam *Crustacea* berada dalam kadar yang cukup tinggi berkisar 20-60 % tergantung spesies. Saat ini di Indonesia dihasilkan limbah yang mengandung kitin sekitar 56.200 ton pertahun (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2000). Rajungan merupakan salah satu komoditas penting bagi hasil perikanan Indonesia. Pada umumnya rajungan diekspor dalam bentuk daging yang telah dipasteurisasi. Hasil samping pengolahan daging rajungan berupa limbah cangkang (kulit dan kepala). Limbah ini belum dimanfaatkan secara baik dan

berdaya guna, bahkan sebagian besar merupakan buangan yang juga turut mencemari lingkungan.

Indonesia sendiri sudah sejak tahun 1992 menjadikan rajungan sebagai komoditas perikanan alternatif penghasil devisa, selain udang dan tuna. Sejak saat itu ekspor rajungan dan juga kepiting terus meningkat. Sebagai contoh, dalam kurun tiga tahun volume ekspor rajungan meningkat dari tahun ke tahun sejak tahun 2014 (10,88 ribu ton), 2015 (15,81 ribu ton), 2016 (19,38 ribu ton). Perikanan rajungan memiliki peran penting untuk nelayan Indonesia karena sebagian besar dilakukan oleh nelayan kecil (dengan ukuran kapal <10 GT) dengan menggunakan alat tangkap bubu (trap) dan jaring insang (gillnet).

Berdasarkan data KKP, tercatat nilai ekspor daging rajungan Indonesia pada tahun 2017 menempati posisi ke-3 terbesar setelah Tuna dan Udang, yaitu dengan nilai hampir mencapai USD411 juta. Adapun negara tujuan ekspor terbesar adalah Amerika Serikat (71%) disusul Jepang (9%), Malaysia (7%), dan negara lainnya. (Kementerian dan Kelautan Republik Indonesia, 2018)



Gambar 2.2 Nilai Ekspor Rajungan Indonesia
(Sumber: Departemen Kelautan dan Perikanan, 2000)

Kabupaten Cirebon, Jawa Barat merupakan salah satu daerah penghasil rajungan sebagai komoditas ekspor untuk diambil dagingnya. Selain itu, cangkang rajungan dapat digunakan sebagai bahan campuran pembuatan lantai keramik, barang hiasan, atau campuran pakan ternak dan mampu menyerap tenaga kerja terutama wanita dalam proses perebusan dan pengambilan daging rajungan (Sumiono, 2010).

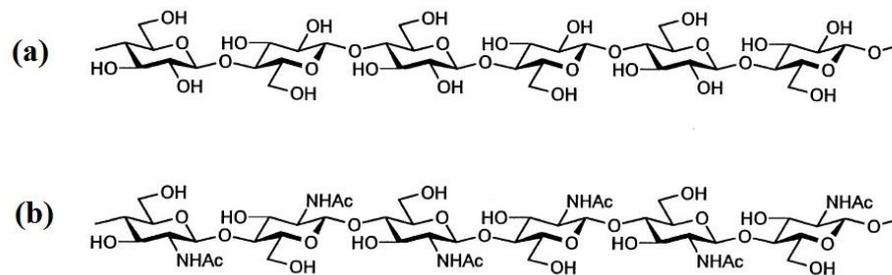
Dalam proses pengambilan daging rajungan dihasilkan limbah cangkang cukup banyak mencapai 40-60% dari total berat rajungan. Limbah kulit rajungan mengandung senyawa kimia bermanfaat seperti protein, mineral, dan kitin dalam jumlah cukup banyak (Rochima, 2014).

2.2 Kitin dan Kitosan

2.2.1 Kitin

Kitin ($C_8H_{13}NO_5$)_n merupakan biopolimer dari unit N-asetil-D-glukosamin yang saling berikatan dengan ikatan $\beta(1\rightarrow4)$. Strukturnya sangat mirip dengan selulosa kecuali pada gugus asetamido diganti dengan gugus hidroksil pada atom karbon kedua. Polimer kitin berbentuk mikrofibril berdiameter sekitar 3 nm yang distabilkan oleh ikatan hidrogen antara gugus amina dan karboksil. Kitin adalah kristal amorphous berwarna putih, tidak berasa, tidak berbau, dan tidak dapat larut dalam air, pelarut organik umumnya, asam-asam anorganik dan basa encer. Sumber kitin yang sangat potensial adalah kerangka luar *crustacea* (seperti udang, kepiting, rajungan, dan lobster), serangga, dinding yeast dan jamur, serta *mollusca*. Di alam kitin merupakan senyawa yang tidak berdiri sendiri namun bergabung dengan senyawa yang lain. Pada *crustacea*, kitin bergabung dengan protein, garam anorganik ($CaCO_3$) dan pigmen (Mohadi dkk., 2014).

Kitin secara struktural seperti selulosa, namun amino polisakarida kitin memiliki gugus asetamida pada posisi C-2 menggantikan posisi gugus hidroksil n



Gambar 2.3 Struktur (a) selulosa dan (b) kitin

(Sumber: Kurita, 2001)

Kitin memiliki sifat tidak berasa, tidak berbau, dan tidak dapat larut dalam air, pelarut organik umumnya, asam-asam anorganik dan basa encer (Muzzarelli, 1985). Berikut sifat fisik dan kimia spesifikasi kitin niaga dapat dilihat melalui **Tabel 2.1** sebagai berikut:

Tabel 2.1 Spesifikasi Kitin Niaga

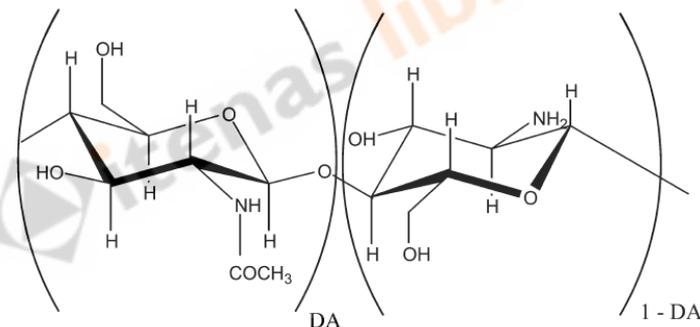
Parameter	Ciri
Ukuran partikel	Serpihan sampai serbuk
Kadar air (%)	$\leq 10,0$
Kadar abu (%)	$\leq 2,0$
N-deasetilasi (%)	$\geq 15,0$
Kelarutan dalam:	
- Air	Tidak larut
- Asam encer	Tidak larut
- Pelarut organik	Tidak larut
- LiCl ₂ /dimetilasetamida	Sebagian larut
Enzim pemecah	Lisozim dan kitinase

Sumber: Purwantiningsih dkk, 2009

2.2.2 Kitosan

Kitosan adalah kitin yang telah dihilangkan gugus asetilnya menyisakan gugus amina bebas yaitu Beta-(1,4)-N-asetil-D-Glukosamin dan Beta-(1,4)-D-glukosamin. Biopolimer D-glukosamin dihasilkan dari proses deasetilasi kitin menggunakan alkali kuat. Kitosan bersifat sebagai polimer kationik yang tidak dapat larut dalam air dan larutan alkali dengan pH diatas 6,5. Kitosan mudah larut dalam asam organik seperti asam fosmiat, asam asetat dan asam nitrat. Dengan sifat polikationiknya kitosan telah banyak dimanfaatkan, salah satunya sebagai koagulan.

Kitosan dapat dijadikan koagulan karena memiliki banyak kandungan nitrogen pada gugus aminanya. Gugus amina dan hidroksil menjadikan kitosan bersifat lebih reaktif. Pada penanganan limbah cair, kitosan berperan sebagai *chelating agent* yang dapat menyerap logam beracun seperti merkuri, timah, tembaga dan kobalt. Kitosan juga memiliki sifat lainnya biopolimer, *biodegradable*, memiliki daya antimikroba dan tidak toksik. Oleh karena sifat-sifatnya tersebut kitosan mudah dibentuk menjadi spons, larutan, gel, pasta, membran, dan serat yang sangat bermanfaat dalam berbagai macam aplikasi (Rochima, 2014 dan Setiawan, 2011). Kitosan merupakan polisakarida hasil deasetilasi kitin. Kitosan adalah sebuah β -1,4 terikat dengan polimer 2-amino-2-deoksi- β -D-glukopiranososa yang larut dalam larutan asam encer. Parameter utama yang mempengaruhi karakteristik kitosan adalah berat molekul dan derajat deasetilasi (Martinova dan Lubasova, 2008).



Gambar 2.4 Struktur kitosan dengan derajat asetilasi (DA)

(Sumber: Toloamiate dkk, 2003)

Kitosan larut pada kebanyakan larutan asam organik, seperti asam asetat, asam sitrat, asam format, asam piruvat, dan asam maleat pada pH 4,0 tetapi tidak larut pada pH lebih besar dari 6,5. Selain itu, kitosan juga tidak larut dalam pelarut air, alkohol, dan aseton. Dalam asam mineral pekat, seperti HCl dan HNO₃, kitosan larut pada konsentrasi 0,15-1,10% tetapi tidak larut pada konsentrasi 10%. Kitosan tidak larut dalam H₂SO₄ pada berbagai konsentrasi, sedangkan di dalam H₃PO₄ tidak larut pada konsentrasi 1% sementara pada konsentrasi 0,1% sedikit larut (Purwantiningsih dkk., 2009).

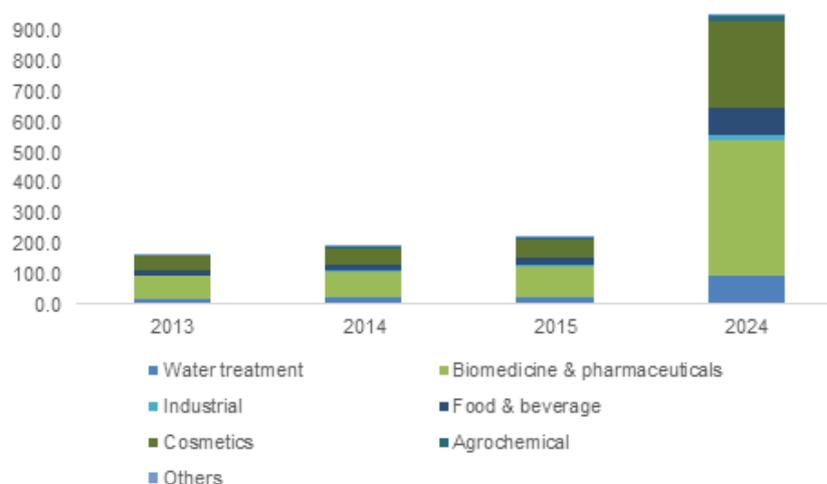
Berikut sifat fisik dan kimia spesifikasi kitosan niaga dapat dilihat melalui **Tabel 2.2** sebagai berikut;

Parameter	Ciri
Ukuran partikel	Serpihan sampai serbuk
Kadar air (%)	$\leq 10,0$
Kadar abu (%)	$\leq 2,0$
N-deasetilasi (%)	$\geq 70,0$
Warna larutan	Tidak berwarna
Kelas viskositas (cps)	< 200
- Rendah	200-799
- Medium	800-2000
- Tinggi	> 2000
- Sangat tinggi	

Sumber: Purwantiningsih dkk, 2009

Berbeda dengan spesifikasi kitosan yang dinyatakan oleh Purwantiningsih dkk. (2009), Rinaudo (2006) menjelaskan bahwa kitin yang memiliki derajat deasetilasi mencapai 50% dan larut dalam larutan asam encer maka dapat disebut kitosan. Kelarutannya dalam asam encer disebabkan oleh terprotonasinya fungsi – NH_2 pada posisi C-2 di pengulangan unit D-glukosamina sehingga polisakarida terkonversi menjadi polielektrolit dalam media asam.

Setiap tahun, rata – rata pemanfaatan kitosan sebagai turunan kitin terus meningkat disetiap sektor, seperti ditunjukkan oleh **Gambar 2.5**



Gambar 2.5 Target pasar pemanfaatan kitin dan turunannya

(Sumber: <https://gminsights.com/pressrelease/kitosan-market>)

Salah satu produk kitin dan turunannya yang dapat dikembangkan menggunakan nanoteknologi adalah nanofiber. Dalam bidang pangan, nanofiber dapat dijadikan sebagai sistem yang mampu melindungi probiotik atau nutrisi makanan lainnya dalam kondisi ekstrim sehingga terjaga kualitas dan fungsinya (Khorasani dkk., 2017)

2.3 Proses Pembuatan Kitin dan Kitosan

Pengolahan cangkang rajungan menjadi kitosan dapat dilakukan melalui 3 proses yaitu demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi (Setiawan, 2011)

1. Demineralisasi

Proses demineralisasi merupakan tahap penghilangan mineral, yaitu kalsium karbonat (CaCO_3) yang terkandung di dalam serbuk cangkang rajungan dengan menggunakan larutan HCl yang kemudian dipanaskan dan setelah dingin disaring untuk mendapatkan endapannya. Hasil endapan yang diperoleh dibilas dengan aquades lalu dikeringkan.

2. Deproteinasi

Hasil dari proses demineralisasi kemudian dilanjutkan pada proses deproteinasi. Pada tahap ini protein dihilangkan dari serbuk cangkang rajungan. Proses deproteinasi menggunakan larutan NaOH sebagai pereaksinya. Larutan kemudian dipanaskan dan setelah dingin disaring untuk mendapatkan endapannya. Hasil endapan yang diperoleh dibilas dengan aquades lalu dikeringkan. Serbuk cangkang yang telah mengalami proses penghilangan mineral dan protein disebut dengan kitin.

3. Deasetilasi

Kitin yang telah diperoleh kemudian masuk pada tahap deasetilasi. Pada tahap ini kitin diubah menjadi kitosan dengan menghilangkan gugus asetilnya menggunakan basa kuat NaOH. Saat pencampuran dengan larutan NaOH terjadi adisi OH^- pada amida kemudian terjadi eliminasi gugus COCH_3^- sehingga terbentuklah gugus NH_2 yang berikatan dengan polimer kitin. Senyawa inilah disebut dengan kitosan (Mekawati, 2000).

2.4 Karakterisasi Kitin dan Kitosan

Kitin dan kitosan dikarakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dan viskometer Ostwald. Analisis FTIR dilakukan untuk mengonfirmasi senyawa kitin dan kitosan sedangkan viscometer Ostwald digunakan untuk menginformasikan nilai berat molekul kitosan

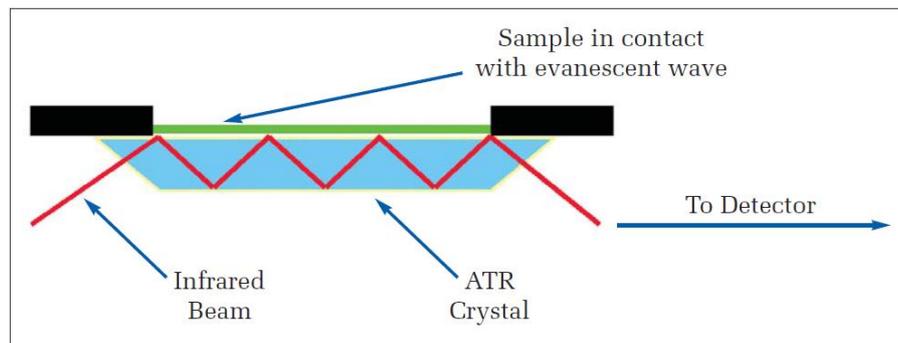
2.4.1 Fourir Transform Infra Red (FTIR)

Spektrum infra merah suatu molekul adalah hasil transisi antara tingkat energi getaran (vibrasi) yang berlainan. Bila molekul menyerap radiasi infra merah, energi yang diserap menyebabkan kenaikan dalam amplitudo getaran atom-atom yang terikat. Ketika suatu molekul berada dalam keadaan vibrasi tereksitasi, energi yang diserap akan dibuang dalam bentuk panas bila molekul kembali ke keadaan dasar. Panjang gelombang eksak dari absorpsi oleh suatu tipe ikatan bergantung pada jenis getaran dari ikatan tersebut. Dengan demikian, spektrometri infra merah dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya gugus fungsi dalam suatu molekul (Supratman, 2010).

Energi dari kebanyakan vibrasi molekul berhubungan dengan daerah infra merah. Vibrasi molekul dapat dideteksi dan diukur pada spektrum infra merah. Penggunaan spektrum infra merah untuk penentuan struktur senyawa organik biasanya antara $4000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ (Sudjadi, 1983).

2.4.1.1 Attenuated Total Reflectance Method (ATR)

ATR berfungsi untuk mengukur perubahan yang disebabkan oleh total reflektansi internal sinar infra merah ketika sinar datang lalu kontak dengan sampel. Sinar infra merah diarahkan ke dalam *optically dense crystal* dengan indeks refraktif yang tinggi pada sudut tertentu. Internal reflektansi menciptakan sebuah gelombang yang cepat sehingga melewati permukaan kristal ke dalam sampel yang kontak dengan kristal (Elmer, 2005).



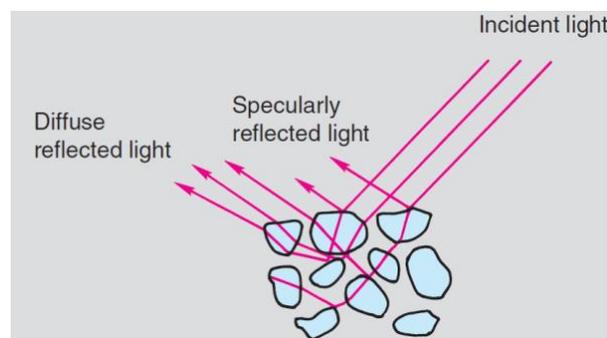
Gambar 2.6 ATR-FTIR

(Sumber: Perkin Elmer, 2005)

2.4.1.2 Diffuse Reflectance Spectroscopy (DRS)

Ketika FTIR digunakan untuk mengumpulkan spektra *diffuse reflectance* dari sampel maka disebut *Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy*. DRS digunakan untuk menganalisis serbuk dan bahan apapun yang dapat diubah kedalam bentuk serbuk (Smith, 2011).

Dalam pengukuran sampel serbuk dengan metode dispersif infra merah, metode KBr pellet jarang digunakan. Ketika sinar dikenakan pada sampel serbuk, beberapa bagian sinar dianggap melakukan reflektansi pada permukaan serbuk. Bagian lain menembus ke dalam sampel, ditransmisikan, dan dipantulkan secara berulang sehingga muncul sebagai hamburan sinar reflektansi dari sampel. Hamburan sinar reflektansi ini sangat informatif untuk spektrum infra merah dari sampel serbuk (Shimadzu, 2011).

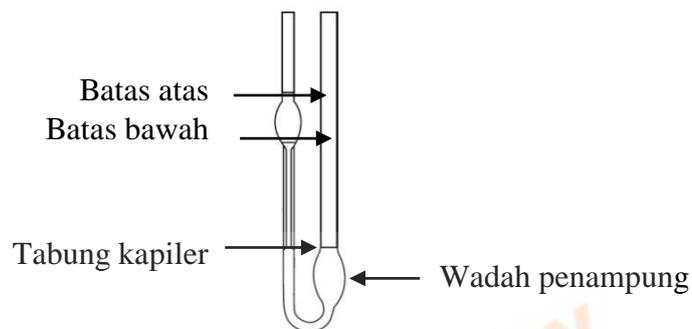


Gambar 2.7 Refleksi Sampel Serbuk

(Sumber: Shimadzu, 2011)

2.4.2 Penentuan Berat Molekul dengan Viskometer Ostwald

Viskometer manual terdiri dari wadah penampung (reservoir) dan sebuah tabung kapiler. Seperti ditunjukkan pada gambar 2.8, hidrostatis cairan menyebabkan sampel cair mengalir melalui kapiler (Liptak, 2003). Penentuan BM dapat dilakukan melalui pengukuran viskositas menggunakan alat viskometer Ostwald (Puwantiningih dkk., 2009).



Gambar 2.8 Viskometer Ostwald

(Sumber: Liptak, 2003)

Pengukuran viskositas intrinsik berguna untuk menentukan berat molekul dan/atau bentuk molekul polimer di dalam larutan. Viskositas intrinsik dari larutan polimer dapat diketahui melalui pengukuran waktu keluar aliran (*efflux*) (Liptak, 2003).

Viskositas larutan kitosan dapat diketahui menggunakan viskometer Ostwald dengan melarutkannya ke dalam larutan buffer asetat (0,5 M asam asetat + 0,2 M Natrium asetat, pH 4,5) kemudian berat molekul kitosan (M) dihitung menggunakan persamaan Mark-Houwink, sebagai berikut :

$[\eta] = KM^a$ dengan $[\eta]$ = viskositas instrinsik, $K = 3,5 \times 10^{-4}$, dan $a = 0,76$ (Kumar dkk, 2007).

2.4.3 Proses Ultrasonikasi

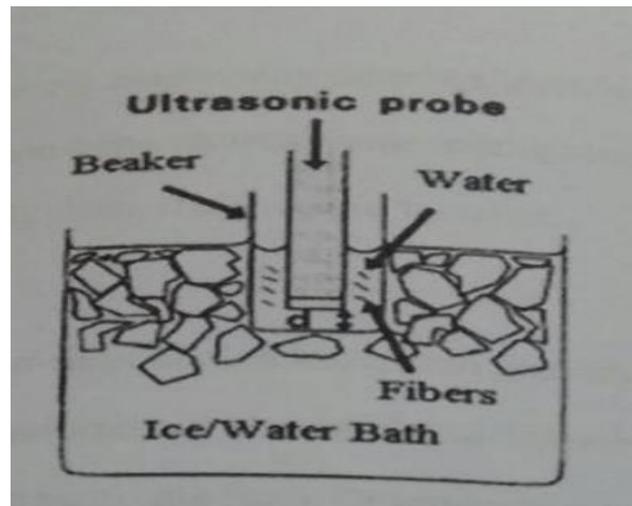
2.4.3.1 Ultrasonik

Ultrasonik merupakan alat spektrum suara dikisaran 20 kHz-10MHz yang dihasilkan oleh transduser yang mengubah energi mekanik atau listrik menjadi energi akustik berfrekuensi tinggi untuk mengubah sampel menjadi ukuran nano melalui proses fibrilasi. Intensitas tinggi gelombang ultrasonic (HIUS) dapat

menghasilkan kekuatan osilasi mekanis yang kuat karena kavitasi, yang merupakan fenomena listrik meliputi pembentukan, ekspansi, dan pemecahan mikroskopis saat molekul dalam cairan menyerap energi ultrasonik. Dalam kavitasi dan sekitarnya, dihasilkan radiasi gelombang yang kuat, suhu tinggi sampai 5.000°C dan tekanan tinggi lebih dari 500 atm. Dengan demikian radiasi tersebut digunakan dalam banyak proses, termasuk emulsifikasi, katalisis, homogenisasi, disagregasi, dan disperse (Wang dkk., 2009).

Pendekatan top-down ini untuk mengekstrak nanofiber dari bahan alami mungkin dijelaskan oleh efek kavitasi akustik frekuensi tinggi 20 kHz dalam formasi dan kolapsnya gelembung-gelembung kecil dalam larutan encer. Kekerasan kolaps menginduksi mikrojet dan gelombang pada permukaan dari serat alami, menyebabkan erosi permukaan serat untuk terbagi sepanjang arah aksial. Dampak ultrasonik bisa memisahkan antar serat yang terikat satu sama lain dengan ikatan lemah terutama oleh interaksi non-ikatan seperti gaya van der Waals. Dengan demikian ultrasonik secara bertahap dapat menghancurkan ukuran mikron alami serat menjadi nanofiber. Kecepatan fibrilasi tergantung pada intensitas dan frekuensi ultrasonik gelombang, serta jenis serat. Umumnya, semakin tinggi intensitas dan frekuensi, semakin cepat proses fibrilasi. Kecepatan fibrilasi lebih tinggi untuk serat fibroin daripada serat alami seperti kolagen, kitin, dan serat jenis selulosa. Misalnya, fibrilasi nanofiber kolagen membutuhkan daya 1.000 W untuk 45 menit, sedangkan fibrilasi nanofiber fibroin hanya membutuhkan 900 W untuk 30 menit (Zhao dkk., 2007).

Ultrasonik secara luas terbagi menjadi high dan low intensitas. Ultrasonic bath (ultrasonikasi intensitas rendah) memberikan sonikasi lemah dengan kekuatan densitas dengan kisaran 0,125-3 Wcm⁻² dan ultrasonik perangkat tipe probe (ultrasonikasi intensitas tinggi) memiliki kekuatan densitas dengan kisaran 5 Wcm⁻² sampai beberapa ribu Wcm⁻² (Wang dkk., 2009).



Gambar 2.9 Ultrasonik Menggunakan Air dan Es

(Sumber: Wang dkk., 2009)

Pada alat ultrasonik yang umum digunakan yaitu frekuensi 20 kHz dan ujung probe titanium alloy berdiameter 2,5 cm. Selanjutnya, ultrasonikasi dilakukan pada kekuatan yang berbeda dan jangka waktu yang berbeda (Zhao, 2007).

Ultrasonik memberikan energi tinggi di larutan. Kavitasasi dapat mematahkan nano-agregat terpisah, yang akan memperbaiki disperse nano dan memperbaiki sifat mekanik nanocomposite, namun energi tinggi bisa merusak rantai polimer dari sampel (He dkk., 2007)

2.4.3.2 Amplitudo Gelombang Ultrasonik

Gelombang ultrasonik pada sonikasi diperkirakan memiliki kemampuan membangkitkan semacam rongga di dalam larutan yang berfungsi untuk membantu meningkatkan keseragaman ukuran partikel dalam skala manometer (Astuti dan Ningsih, 2017). Gelombang ultrasonik sebagai gelombang mekanik atau akustik dengan frekuensi di atas 20 kHz, sehingga tidak terdengar oleh telinga manusia. Untuk menghasilkan gelombang ultrasonik diperlukan suatu transduser, dimana tegangan listrik yang diterima transduser akan diubah menjadi mekanik. Kecepatan gelombang akustik yang sedang menjalar di dalam suatu medium bergantung pada sifat-sifat medium tersebut:

$$c = \frac{L}{t} \dots\dots\dots(1)$$

Dengan c , L dan t berturut-turut adalah kecepatan gelombang (m/s), tebal medium (m), dan waktu tempuh gelombang ultrasonik (s). Sebuah gelombang akustik yang sedang menjalar di dalam suatu medium. Gelombang ini akan mengalami pengurangan amplitudo yang bergantung pada jarak tempuh dan koefisien atenuasi:

$$A = A_0 10^{\alpha L/20} \dots \dots \dots (2)$$

Dengan A , A_0 , α , dan L , berturut-turut adalah amplitudo setelah menjalar sejauh L , amplitudo mula-mula, koefisien atenuasi, dan jarak tempuh (m) (Hadi dkk., 2010).

2.4.3.3 Nanokitosan

Nanokitosan dibuat menggunakan alat ultrasonikasi. Skema pembuatan kitosan nanokitosan ditunjukkan oleh gambar berikut.



Gambar 2.10 Pembuatan Nanokitosan Menggunakan Ultrasonikasi

(Sumber: Hadi dkk., 2010).

Menyebabkan serat alami mikrofibril pada kitosan terurai menjadi *nanofiber*. Untuk memudahkan nanofibrilasi, kitin murni didispersikan menggunakan airsampel. Sonikasi dilakukan pada 20 kHz dengan Sonifiers® Cell Disruptor/ Homogeniser (S450D, Branson Ultrasonics Corp.) dengan *horn* titanium diameter 1 cm². Percobaan ultrasonik subsekuen dilakukan di bawah siklus 50% (yaitu siklus pengulangan perlakuan ultrasonik 1 s dan shutdown 1 s). Pengolahan secara ultrasonik dilakukan dalam bak es/air, dan es dipertahankan sepanjang proses ultrasonikasi.

2.5 Karakterisasi Nanofiber

2.5.1 Nanopartikel

Nanopartikel adalah partikel berukuran 1-100 nanometer dan kebanyakan metode menyarankan sebaiknya ukuran diameter partikel antara 200 dan 400 nm. (Rachmawati, 2007).

1. Sifat Organoleptis

Mengetahui morfologi dari nanopartikel yang mempengaruhi sifat pelepasan zat aktif dari nanopartikel tersebut. Pengamatan ini dapat dilakukan menggunakan mikroskop optik dengan perbesaran yang disesuaikan. Pengamatan kejernihan dilakukan untuk mengetahui morfologi dan ukuran dari nanocarrier secara visual. Partikel yang berukuran nanometer tidak dapat terlihat secara kasat mata, suspensi akan terlihat jernih dan transparan (Perdana, 2007).

2. Ukuran dan Distribusi

Ukuran Nanopartikel Ukuran dan distribusi nanopartikel diukur menggunakan Particle Size Analyzer (PSA) menggunakan prinsip Photon Correlation Spectroscopy dan Electrophoretic Light Scattering. Rentang pengukuran dengan alat ini yaitu 0,6 μm – 7 nm (Coulter, 2008). Konsepnya bahwa partikel kecil dalam suspensi bergerak dengan pola secara acak, kemudian sinar laser menyinarinya. Semakin besar ukuran partikel, semakin lambat Gerak Brown. Ukuran dan distribusi partikel merupakan karakteristik yang paling penting dalam sistem nanopartikel. Hal ini digunakan untuk memperkirakan distribusi secara *in vivo*, biologis, toksisitas, dan kemampuan membidik dari sistem nanopartikel (Mohanraj, 2006). Penentuan ukuran dan distribusi ukuran nanopartikel harus dilakukan karena mempengaruhi secara langsung keunikan sifat nanopartikel. Metode yang dapat digunakan antara lain Dynamic Light Scattering (DLS), Static Light Scattering (SLS), NMR, turbidimetri, dan lain sebagainya (Haskell, 2006). Setelah sampel diukur dengan perhitungan beberapa jenis menghasilkan representasi dari distribusi ukuran partikel. Partikel distribusi ukuran dapat dihitung sebagai angka atau volume distribusi massa. Analisis memberikan nilai ukuran untuk setiap partikel yang diperiksa (Horiba, 2014).

3. Morfologi Nanopartikel

Bentuk dan keadaan permukaan nanopartikel dapat memberi informasi tentang sifat pelepasan obat. Dapat digunakan Scanning Electron Microscopy (SEM), Transmission Electron Microscopy (TEM), dan mikroskop daya atom (Haskell, 2006).

2.5.2 Scanning Electron Microscopy (SEM)



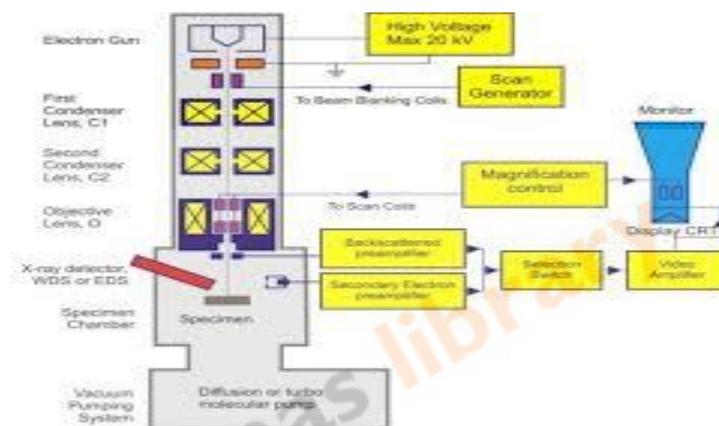
Gambar 2.11 Alat SEM

(Sumber: Bilad, 2010)

SEM digunakan untuk untuk mengetahui morfologi permukaan serat nano (Pakravan dkk, 2012). Pada prinsipnya cara kerja SEM dimulai dari berkas elektron berinteraksi dengan sampel yang akan menghasilkan *Secondary Electron (SE)* yang di dalam detektor SE tersebut diubah menjadi sinyal listrik dan seterusnya akan menghasilkan gambar pada monitor. Sinyal yang keluar dari detektor ini berpengaruh terhadap intensitas cahaya dalam tabung monitor karena jumlah cahaya yang dipancarkan oleh monitor sebanding dengan jumlah electron yang berinteraksi dengan sampel. Apabila jumlah elektron yang dipancarkan semakin banyak maka gambar yang dihasilkan semakin terang dan demikian sebaliknya (Masrukan dkk, 1999).

Komponen utama alat SEM ini pertama adalah tiga pasang lensa-lensa elektromagnetik yang berfungsi memfokuskan berkas elektron menjadi sebuah titik kecil, lalu oleh dua pasang scan coil di-scan dengan frekuensi variable pada permukaan sampel. Semakin kecil berkas difokuskan semakin besar resolusi lateral yang dicapai. Kesalahan fisika pada lensa-lensa elektromagnetik berupa astigmatismus dikoreksi oleh perangkat stigmator. Yang kedua adalah sumber

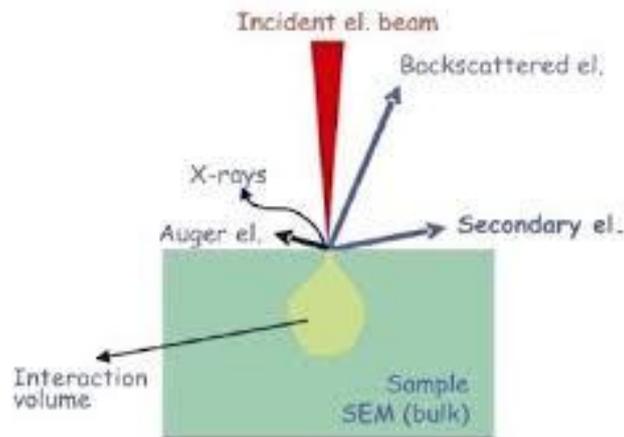
elektron, biasanya berupa filamen dari bahan kawat tungsten atau berupa jarum dari paduan Lantanum Hexaboride LaB_6 atau Cerium Hexaboride CeB_6 yang dapat menyediakan berkas elektron yang teoretis memiliki energi tunggal (monokromatik). Ketiga adalah imaging detektor, yang berfungsi mengubah sinyal elektron menjadi gambar ataupun foto. Sesuai dengan jenis elektronnya, terdapat dua jenis detektor dalam SEM ini, yaitu detektor Secondary Electron (SE) dan detektor Backscattered Electrons (BSE) (Sujatno dkk., 2015). Skema dasar SEM disajikan pada **Gambar 2.12**



Gambar 2.12 Skema Dasar SEM

(Sumber: Sujatno dkk., 2015)

Ketika berkas elektron di-scan pada permukaan sampel, terjadi interaksi elektron dengan atom-atom di permukaan maupun di bawah permukaan sampel. Seperti terlihat pada Gambar 6, akibat interaksi tersebut sebagian besar berkas elektron berhasil keluar kembali, elektron-elektron tersebut disebut sebagai *Backscattered Electrons* (BSE), sebagian kecil elektron masuk ke dalam sampel kemudian memindahkan sebagian besar energi pada elektron atom sehingga terpental ke luar permukaan sampel, yaitu *Secondary Electron* (SE). Pembentukan elektron-elektron sekunder selalu diikuti proses munculnya X-ray yang karakteristik untuk setiap elemen, sehingga dapat digunakan untuk mengukur kandungan elemen yang ada di dalam sampel yang diteliti (Sujatno dkk., 2015).



Gambar 2.13 Skema Interaksi Antara Sampel Dengan Elektron Didalam SEM

(Sumber: Sujatno dkk., 2015)

2.6 Imagej

Imagej merupakan sebuah software pengolahan data digital untuk analisis partikel secara gratis (*Free-Software*). *Imagej* adalah software berbasis Java yang dibuat oleh Wayne Rasband dari *Research Services Branch, National Institute of Mental Health*, Bethesda, Maryland, USA. Penggunaan *imagej* dalam analisis gambar digital telah digunakan secara luas dalam bidang kesehatan dan biologi.

Imagej dengan pemrograman Java dapat digunakan untuk sistem operasi computer Windows, Linux, maupun Mchintosh, dengan alasan komputer tersebut terdapat *java runtime environment*. (Chandra, 2011)