

Aplikasi kitosan berbasis kulit udang sebagai alternatif substitusi lilin pelapis dalam rangka peningkatan umur simpan buah-buahan: A review

Aisyah Alifatul Zahidah Rohmah^a, Alifah Nur Aini Fajrin^b, Setiyo Gunawan^{a,b,*}

^aDepartemen Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri dan Rekayasa Sistem, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya, 60111, Indonesia.

^bPusat Kajian Halal, Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya, 60111, Indonesia.

ABSTRAK

Sebagai negara dengan mayoritas penduduk beragama islam, pasar pangan di Indonesia sangat erat kaitannya dengan hukum halal haram. Salah satu pangan yang kerap dikonsumsi adalah buah-buahan, namun dengan karakternya yang mudah rusak dan membusuk, diperlukan suatu pelapis yang berperan sebagai pengawet untuk memperpanjang usia simpan buah-buahan tersebut termasuk dengan melapisi menggunakan lilin pelapis. Lilin pelapis dapat membahayakan tubuh jika dikonsumsi terus menerus sehingga tidak memenuhi syarat thayyib. Kitosan dari kulit udang dapat menjadi alternatif pengganti lilin pelapis karena dibuat dari bahan halal dan aman bagi tubuh. Kitosan dapat diproduksi secara enzimatik dan kimiawi. Proses pengkajian halal telah dilakukan baik dengan metode produksi secara enzimatik maupun kimiawi dimana keduanya memiliki beberapa titik kritis pada bahan yang digunakan yaitu pada komposisi bahan media untuk fermentasi untuk proses enzimatik dan pada penggunaan ionic liquids beserta etanol untuk proses kimiawi.

Kata kunci: Halal, Kitosan, Lilin Pelapis, Pelapis, Udang.

© 2022 Pusat Kajian Halal ITS. All rights reserved.

1 Pendahuluan

Indonesia merupakan negara dengan penduduk keempat terbanyak di dunia. Menurut Direktorat Jenderal Kependudukan dan Pencatatan Sipil (Dukcapil) Kementerian Dalam Negeri, jumlah penduduk Indonesia per tanggal 31 Desember 2021 sebanyak 273,87 juta jiwa dan 86,9% dari penduduknya merupakan muslim yg menjadikan indonesia menjadi negara dengan penduduk muslim terbesar di dunia dengan jumlah penduduk muslim mencapai 237,53 juta jiwa per 31 Desember 2021 [1]. Pangan merupakan salah satu kebutuhan pokok manusia dan sebagai negara muslim terbesar, pasar pangan di indonesia sangat erat dengan hukum halal haram yang disyariatkan kepada umat muslim. Seperti tertulis dalam Al-Qur'an Surat Al-Baqarah 168 mengenai perintah untuk mengonsumsi yang halal dan thayyib.

* Corresponding author. Tel: +62 31 5946240; Fax: + 62 31 5999282.
Email address: gunawan@chem-eng.its.ac.id

Makanan yang dikonsumsi harus memenuhi syarat halal dan *thayyib* (baik) dan *halalan thayyiban* itu sendiri dalam Tafsir Ibnu Katsir berarti sesuatu yang baik, tidak membahayakan tubuh dan pikiran.

Salah satu pangan yang penting dan banyak dikonsumsi adalah buah-buahan karena mengandung nutrisi yang bermanfaat bagi tubuh. Akan tetapi, buah-buahan sendiri merupakan produk hortikultura yang memiliki karakter mudah rusak (*perishable*). Karena karakternya yang mudah rusak, pemasaran buah-buahan menjadi sulit karena masa simpannya yang pendek dan mutunya mudah menurun sehingga mengakibatkan penurunan harga hingga mengakibatkan kerugian. Oleh karena itu dibutuhkan usaha untuk mengatasi masalah tersebut, salah satunya adalah dengan melapisi buah-buahan dengan lilin pelapis/wax agar tidak cepat mengalami pembusukan atau kerusakan.

Namun, penggunaan lilin pelapis sebagai pelapis pada buah-buahan jika dikonsumsi secara terus menerus akan berdampak pada kesehatan konsumen misalnya, kanker hati, kanker usus dan leukemia[2]. Dikarenakan lilin pelapis berpotensi membahayakan tubuh, maka penggunaan bahan tersebut tidak memenuhi syarat *thayyib* dalam *halalan thayyiban* yang kerap kali tertulis dalam Al-Qur'an. Oleh karena itu, dibutuhkan alternatif bahan pelapis lain yang lebih aman untuk menggantikan lilin pelapis sebagai pengawet buah-buahan. Salah satunya adalah dengan mengaplikasikan kitosan dari kulit udang.

Kitosan sendiri merupakan produk alami berupa turunan dari polisakarida kitin. Kitosan sangat berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan antimikroba, karena mengandung enzim lisosim dan gugus aminopolysakarida yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba dan efisiensi daya hambat kitosan terhadap bakteri tergantung dari konsentrasi pelarutan kitosan. Kemampuan dalam menekan pertumbuhan bakteri disebabkan kitosan memiliki polikation bermuatan positif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan kapang[3]. Kitosan juga merupakan senyawa turunan dari hasil proses deasetilasi kitin yang banyak terkandung didalam hewan laut seperti udang dimana udang merupakan makanan yang halal dikonsumsi dan produksinya sangat melimpah. Pada tahun 2021, berdasarkan data dari Balai Besar Riset Sosial Ekonomi Kelautan Dan Perikanan, produksi udang di Indonesia mencapai 881.582 ton.

Banyaknya produksi udang ini menghasilkan limbah yang banyak sekitar 250.000 ton per tahunnya, mengingat hasil samping produksi yang berupa kepala, kulit, ekor, dan kaki sekitar 35-50% dari berat awal. Limbah yang dihasilkan dari proses pembekuan udang, pengalengan udang, dan pengolahan kerupuk udang berkisar 30-75% dari berat udang [4]. Limbah udang ini dapat mencemari lingkungan di sekitar pabrik sehingga perlu dimanfaatkan salah satunya dengan menjadikannya kitosan sebagai pelapis buah-buahan yang aman dikonsumsi tubuh. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji titik kritis bahan dan proses produksi kitosan dari kulit udang untuk menggantikan lilin pelapis/wax pada buah-buahan.

2 Metode

Secara umum review ini dilakukan sebagai kajian studi jurnal terindeks mengenai kajian analisis proses pembusukkan buah, urgensi penggunaan pelapis pada buah, metode pelapisan pada buah, kajian khusus mengenai proses kehalalan penggunaan proses pelapisan terdahulu dan penggantinya, serta analisis mengenai kitosan, pembentukannya, dan pengaplikasiannya. Sehingga diharapkan nantinya review ini nantinya dapat dijadikan acuan mengenai pertimbangan pemilihan bahan pelapis pada buah – buahan dalam rangka peningkatan umur simpan pada buah.

3 Perubahan kondisi buah pasca panen

Aktivitas enzimatik maupun reaksi kimia masih terjadi pada buah pasca panen yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan sifat fisiologis. Selain itu juga terjadi perubahan biologis yang disebabkan karena adanya perlakuan-perlakuan pascapanen seperti kondisi suhu, atmosfer, sinar serta perlakuan-perlakuan fisik diluar batas standar normalnya[5]. Perubahan ini meliputi, perubahan warna kulit buah, kenaikan kandungan gula, penurunan komposisi pati, asam dan tannin, serta terbentuknya gas volatile. Penyebab perubahan buah pasca panen yang telah disebutkan di atas, dapat dikelompokkan menjadi tiga kategori penyebab, yakni proses transpirasi, respirasi, dan produksi etilen.

Proses Transpirasi akan menyebabkan terjadinya pengkerutan, merusak flavor, penurunan kualitas, dan menyebabkan susut bobot buah. Laju transpirasi buah tergantung dari jenis dan derajat kematangan, hal ini berhubungan erat dengan ketebalan, struktur dari kulit, sel epidermis dan lapisan lilin[6]. Perubahan-perubahan tersebut dapat dijadikan indikator umur simpan dan mutu buah[7]. Respirasi merupakan proses pemecahan karbohidrat, protein, dan lemak menjadi komponen-komponen yang lebih sederhana dengan menghasilkan CO₂, air, dan energi. Ketersediaan air dan energi bebas akan digunakan oleh mikroba untuk tumbuh serta menyebabkan terjadinya disorganisasi pada jaringan (sel dinding rusak) atau kerusakan komoditas[8].

Mekanisme perubahan fisiologis menyebabkan terjadinya hal – hal berikut ini: 1) induksi sintesis etilen, jaringan yang terluka akan menstimulasi biogenesis etilen. Peningkatan produksi etilen akan menyebabkan perubahan fisiologis seperti peningkatan aktivitas enzim, peningkatan permeabilitas sel, peningkatan laju respirasi dan hilangnya komponen tertentu dalam sel. 2) degradasi membran lipid, membran yang rusak menyebabkan peningkatan degradasi enzimatik. Etilen berperan dalam mendegradasi membran lipid. Akibat dari terdegradasinya membran lipid adalah adanya reaksi enzimatik yang berupa katalisis asil hidrolase dan fosfolipase yang menghasilkan lemak. Asam lemak ini bersifat toksik dan bisa menyebabkan lisis pada organel. 3) pencoklatan oksidatif, pencoklatan terjadi karena hilangnya kulit buah yang mengakibatkan adanya kontak antara gugus fenol dengan oksigen dan enzim polyfenoloksidase. 4) penyembuhan luka, penyembuhan luka berhubungan dengan produksi suberin dan lignin dan terjadinya deposisi dinding sel yang luka. 5) pembentukan metabolit sekunder, jaringan yang luka akan memproduksi metabolit sekunder

sebagai upaya perlindungan diri buah. Produksi metabolit sekunder dapat mempengaruhi kenampakan, aroma, flavor, dan nilai nutrisi. 6) kehilangan air, buah yang tidak mengalami luka sebagian besar air berada pada bagian interseluler, sedangkan buah yang terluka air interseluler akan keluar dan menguap [9].

4 Fungsi pelapis sebagai media peningkatan umur simpan buah-buahan

Bagi negara agrikultur seperti Indonesia, fenomena kerugian pasca panen akibat masa simpan buah yang relatif singkat sudah menjadi masalah umum yang memprihatinkan. Buah-buahan yang sudah dipanen akan dengan cepat membusuk jika tidak diberikan perlakuan khusus. Pembusukan buah-buahan ini dapat diperlambat dan masa simpannya dapat bertambah dengan mengontrol lingkungan penyimpanan (*controlled atmosphere storage/CA*), memodifikasi packaging (*modified atmosphere packaging/MAP*), atau dengan menambahkan pelapis [10]. Lingkungan yang dimaksud adalah dengan O_2 yang relatif lebih sedikit dan lebih banyak terdapat CO_2 untuk menekan produksi etilena yang berfungsi mengaktifkan gen pematangan pada buah-buahan sehingga menyebabkan perubahan warna, aroma, serta degradasi dinding sel [10].

Pelapis akan membentuk suatu pelindung pada bahan pangan karena berperan sebagai barrier yang menjaga kelembapan, bersifat selektif permeable terhadap gas (O_2 dan CO_2), dan dapat mengontrol migrasi komponen-komponen larut air yang mengakibatkan perubahan komposisi nutrisi. Mekanismenya adalah dengan menghambat difusi O_2 pada buah-buahan agar proses respirasi yang merupakan penyebab pematangan buah juga terhambat sehingga usia simpan buah lebih lama [10]. Dengan demikian, pelapis buah-buahan dapat memperpanjang umur simpan, mengurangi kehilangan air dan kelembapan, menunda proses pematangan dan juga mencegah mikroba pertumbuhan mikroba pada buah-buahan [11]. Keuntungan lain dari diaplikasikannya pelapis yang pada umumnya menggunakan lilin pelapis atau wax berdasarkan [10] di antaranya adalah penampilan buah yang lebih baik, mengurangi kehilangan kelembapan dan memperlambat layu dan mengerut selama penyimpanan buah, lebih sedikit pembusukan, menciptakan penghalang difusi sehingga mengurangi ketersediaan O_2 ke jaringan dan menurunkan laju respirasi, melindungi buah dari infeksi mikrobiologis, serta dianggap sebagai pengganti yang hemat biaya dalam mengurangi pembusukan ketika penyimpanan berpendingin tidak terjangkau.

5 Bahaya lilin pelapis (wax) sebagai pelapis buah-buahan

Wax adalah ester asam lemak yang lebih tinggi dengan alkohol monohidrat dan hidrokarbon dan beberapa asam lemak bebas yang biasa digunakan sebagai pelapis buah dan sayuran dengan menekan kehilangan air selama penyimpanan untuk memperpanjang usia simpan. Pelapisan lilin (*wax*) jika diaplikasikan dengan konsentrasi yang tepat mampu mempertahankan kualitas fisik dan kimia pada berbagai buah-buahan [12]. Dalam pembuatannya, bahan pelapis lilin didispersikan dan dilarutkan dalam pelarut seperti air, alkohol, campuran air dan alkohol. Aditif seperti *plasticizer*, agen antimikroba, mineral, vitamin, warna atau rasa dapat ditambahkan dalam proses ini. Lilin dapat diterapkan pada buah-buahan dengan beberapa metode seperti pencelupan (*dipping*), penyemprotan

(*spraying*), penyikatan (*brushing*) dan pengalengan (*canning*) diikuti dengan pengeringan (*drying*)[10].

Meskipun lilin pelapis mampu memperpanjang usia simpan buah, ada beberapa kerugian seperti terjadinya *off flavour* (bau atau rasa yang menyimpang dari keadaan normal) jika tidak diaplikasikan dengan tepat, dapat terjadi *off flavour* juga dikarenakan penghambatan pertukaran O₂ dan CO₂ yang mengakibatkan respirasi anaerob sehingga menghasilkan etanol dan asetildehid [13]. Selain beberapa kerugian tersebut, terdapat pula bahaya penggunaan wax sebagai pelapis buah-buahan. Wax pada buah-buahan pada umumnya dibuat dengan dilarutkan dalam pelarut dimana digunakan *morpholine* sebagai pelarutnya. Dosis aman konsumsi *morpholine* bagi manusia adalah sekitar 4,3 ng/kg berat badan/hari di mana konsumsi berlebih dapat membahayakan kesehatan. *Morpholine* di dalam tubuh ketika berkontak dengan nitrat akan membentuk *nitrosomorpholine* (NMOR) yang merupakan karsinogen genotoksik yang dapat menimbulkan risiko kanker hati atau ginjal. Para ahli melaporkan bahwa pada menelan *morpholine* melalui konsumsi harian buah yang dilapisi lilin pelapis dapat mempengaruhi fungsi hati dan ginjal [10].

6 Penggunaan *edible coating* sebagai pelapis buah-buahan pengganti wax

Edible coating adalah suatu metode pemberian lapisan tipis pada permukaan buah untuk menghambat keluarnya gas, uap air, dan menghindari kontak dengan oksigen agar dapat memperlambat proses pematangan dan pencoklatan buah. Lapisan tambahan ini tidak berbahaya apabila dikonsumsi bersama dengan buah itu sendiri [14]. Telah banyak penelitian yang mempelajari *edible coating* ramah lingkungan yang dapat menghambat proses respirasi dan transpirasi buah dan memperpanjang usia simpan buah. Bahan yang dapat digunakan sebagai pelapis buah-buahan tentu saja memiliki beberapa syarat dan ketentuan seperti: 1) Permeabilitas yang cukup rendah terhadap oksigen dan karbon dioksida untuk memperlambat respirasi dan aktivitas metabolisme secara keseluruhan, memperlambat pematangan dan perubahan terkait. Di sisi lain, aktivitas metabolisme tidak boleh dikurangi sampai tingkat yang menciptakan kondisi anaerobik, yang meningkatkan gangguan fisiologis dan mempercepat penurunan kualitas [15], [16]. 2) Permeabilitas uap air yang rendah untuk memperlambat pengeringan [17]. 3) Pelapis tidak memiliki rasa (*tasteless*) sehingga tidak mempengaruhi rasa asli dari buah-buahan [18]. Biopolimer seperti lipid, protein, polisakarida, dan resin adalah bahan umum yang digunakan dalam pembuatan *edible coating*. Pemilihan bahan pelapis didasarkan pada kelarutan air, sifat hidrofilisitas dan hidrofobisitas, kemudahan dalam pembentukan pelapis dan sifat sensorik [11].

Edible lipid adalah lipid netral, lilin dan resin yang merupakan bahan pelapis tradisional untuk produk segar yang memberikan properti *moisture barrier* yang efektif dan juga memperbaiki penampilan permukaan buah [19]. Lilin pelapis (*carnauba wax*, *beeswax*, *paraffin wax* dan lain sebagainya) digunakan secara komersial sebagai pelapis buah-buahan dan sayuran segar. Shellac dan pelapis berbasis resin lainnya memiliki permeabilitas yang lebih rendah terhadap O₂, CO₂, dan gas etilena namun efektif untuk menahan kehilangan air [20]. Sifat

menguntungkan dari pelapis berbasis lipid termasuk kompatibilitas yang baik dengan agen pelapis lainnya dan memiliki sifat penghalang uap air dan gas yang tinggi dibandingkan dengan pelapis berbasis polisakarida dan protein[21].

Edible coating berbasis polisakarida telah diproduksi dari pati dan turunannya, turunan selulosa, alginat, karagenan, berbagai gom tanaman dan mikroba, kitosan, dan pektinat. Coating berbasis polisakarida memiliki sifat hidrofilik sehingga merupakan *gas barrier* yang baik sehingga dapat menekan laju respirasi dan memperpanjang usia simpan buah-buahan [19]. *Edible coating* berbasis protein dapat dibuat dari protein hewani (seperti protein susu) dan juga protein nabati (seperti protein kedelai dan protein gandum). Coating berbasis protein ini merupakan O₂ dan CO₂ *barrier* yang baik [22] namun bukan *water barrier* yang baik [23].

7 Penggunaan kitosan sebagai alternatif pelapis buah-buahan pengganti wax

7.1 Sumber kitin sebagai bahan baku kitosan

Kitin berasal dari Bahasa Yunani *kitin*, yang berarti kulit kuku. Kitin merupakan komponen utama dari eksoskeleton invertebrata, krustasea, dan insekta yang berfungsi sebagai komponen penyokong dan pelindung. Kitin merupakan biopolimer dengan kelimpahan yang terbesar di bumi setelah selulosa. Secara struktur kitin sama seperti selulosa, hanya saja merupakan polisakarida amino yang memiliki gugus asetamida pada karbon nomor 2 [24]. Kitin memiliki potensi yang lebih banyak dibandingkan selulosa, antara lain dapat mengalami biodegradasi, biokompatibilitas, dan memiliki bioaktifitas tertentu. Kitin diisolasi melalui dua tahapan reaksi yaitu, determineralisasi dan deproteinisasi. Melalui proses deasetilasi (merubah gugus asetamida (-NHCOCH₃) mejadi amina (-NH₂)), kitin akan berubah menjadi kitosan [poli-(2-amino-2-deoksi-β-(1-4)-D-glukopiranos)] [25]. Nama lain senyawa kitin adalah 2-asetamida-2-deoksi-D-glukopiranos[24].

Kitin merupakan tiga besar dari polisakarida yang paling banyak ditemukan selain selulosa dan *starch* (zat tepung). Kitin menduduki peringkat kedua setelah selulosa sebagai komponen organik paling banyak di alam. Selulosa dan *starch* merupakan zat penting bagi tumbuhan untuk membentuk makanannya (zat karbohidrat) dan pembentukan dinding sel. Kitin juga banyak di temukan di dalam rangka luar marine zoo-plankton termasuk jenis coral dan ubur-ubur. Jenis serangga yaitu kupu-kupu, kumbang mempunyai zat kitin terutama pada lapisan kutikula luar. Sedangkan pada dinding sel ragi, jamur, dan jenis jamur lainnya banyak juga ditemukan kitin [26]. Kitin merupakan polimer alami yang dapat di temukan di alam berbeda-beda tergantung pada sumbernya. Hal ini dapat dilihat dari Tabel 1.

Tabel 1. Presentase kitin pada binatang [27]

| Sumber | % Kitin |
|----------------------------|---------|
| Fungi (jamur) | 5 – 20 |
| Worms (cacing) | 3 – 20 |
| Squigs/octopus (gurita) | 30 |
| Spider (laba – laba) | 38 |
| Scorpions (kalajengking) | 38 |
| Cockroaches (kecoa) | 35 |
| Water beetle (kumbang air) | 37 |
| Silk worm | 44 |
| Hermit crab | 69 |
| Kepiting | 71 |
| Udang | 20 – 30 |

Di dunia, kitin di produksi secara komersial sebanyak 120 ribu ton pertahun. Kitin yang berasal dari kepiting dan udang sebesar 39 ribu ton (32,5%) dan dari jamur 32 ribu ton (26,7%) (Mojarrat et al. 2007). Berdasarkan data pada Tabel 1, kitin dapat berasal dari beragam spesies, mulai dari jamur hingga hewan tingkat rendah. Kerangka kulit arthropoda (eksoskeleton) merupakan sumber kitin yang paling mudah dijumpai. Kerangka atau kulit ini mengandung 20-50% kitin. Apabila ditinjau dari sudut pandang praktis, kulit crustacean seperti kepiting dan udang yang merupakan limbah dari industri makanan laut dapat dijadikan sebagai sumber untuk produksi komersial kitin. Sumber lain yang dapat digunakan dalam produksi kitin adalah rajungan, udang karang, serangga, kijing, tiram, ubur-ubur, alga, dan jamur [28].

Pada cumi-cumi terdapat kandungan β -kitin, di mana material ini berbeda dari α -kitin yang terdapat pada kulit crustacean jika ditinjau dari struktur kristalnya. β -kitin memiliki gaya-gaya intermolekular yang lebih lemah dan merupakan suatu material yang menarik karena memiliki karakteristik yang berbeda dengan α -kitin. Dinding sel beberapa jenis jamur seperti *Zygomycetes*, mengandung kitosan. Namun, secara praktis kitosan akan lebih mudah diperoleh melalui proses deasetilasi kitin. α -kitin diproduksi secara komersial dari kepiting dan udang yang mengandung kalsium karbonat dan protein sebagai komponen utama lainnya [28].

α -kitin memiliki kelimpahan yang jauh lebih banyak. Kitin jenis ini terdapat pada dinding sel jamur dan yeast, tendon dan cangkang lobster dan kepiting, kulit udang, dan pada kutikula serangga. α -kitin juga diproduksi oleh sejumlah organisme laut. Contoh organisme laut yang menghasilkan kitin adalah keong, sagitta, dan ganggang laut *phaeocytis*. α -kitin yang bersifat eksotik ini telah menarik perhatian untuk studi struktural karena memiliki kristalinitas dan kemurnian yang tinggi (α -kitin disintesis dengan adanya pigmen, protein, dan kalsit). Secara sistematis, α -kitin dihasilkan melalui proses rekristalisasi dari larutan, biosintesis in vitro, dan polimerisasi enzimatis [28].

β -kitin dapat diisolasi dari cumi-cumi dengan perlakuan yang lebih sederhana, karena cumi-cumi secara eksklusif terdiri dari kitin dan protein dengan logam garam dalam jumlah yang sangat sedikit. Selain itu, susunan molekular β -kitin kurang rapat bila dibandingkan dengan α -

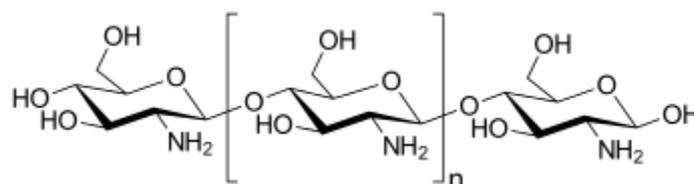
kitin, sehingga β -kitin dapat diisolasi dalam suasana yang lebih “lembut”. Biasanya kitin jenis ini ditemukan bergabung dengan protein pada cumi-cumi. β -kitin juga ditemukan pada *chaetaeaprodit* dan pada lorica yang dihasilkan oleh sejumlah ganggang atau protozoa. β -kitin dalam keadaan murni terutama sekali ditemukan dalam keadaan monokristalin yang disekresikan oleh *Thalassiosira fluviatilis*. Namun, berbeda dengan α -kitin, β -kitin tidak mungkin diperoleh dari larutan atau biosintesis *in vitro*. Kitin diisolasi dari limbah udang melalui dua tahapan reaksi yaitu, determineralisasi dan deproteinisasi. Kitin yang diperoleh disintesis menjadi kitosan dengan cara merubah gugus asetamida (-NHCOCH₃) pada kitin mejadi gugus amina (-NH₂)[27]. Polimer kitin dapat dirombak dengan enzim khitinase menjadi monomer N-asetil glukosami. Sifat kimia kitin adalah tidak beracun, tidak larut dalam air dan alkali, serta dapat mengalami biodegradasi [29].

7.2 Kitosan dan karakteristiknya

Kitosan dibasilkan dari kitin dan mempunyai struktur kimia yang sama dengan kitin, terdiri dari rantai molekul yang panjang dan berat molekul yang tinggi, Perbedaan antara kitin dan kitosan adalah pada setiap cincin molekul kitin terdapat gugus asetil (-CH₃-CO) pada atom karbon kedua, sedangkan pada kitosan terdapat gugus amina (-NH). Kitosan dapat dibasilkan dari kitin melalui proses deasetilasi yaitu dengan cara direaksikan dengan menggunakan alkali konsentrasi tinggi dengan waktu yang relatif lama dan suhu tinggi. Kitosan adalah biopolimer yang mempunyai keunikan yaitu dalam larutan asam, kitosan memiliki karakteristik kation dan bermuatan positif sedangkan dalam larutan alkali, kitosan akan mengendap. Kitin dan kitosan merupakan polimer linier yang bersifat polikationik. Deasetilasi yang terjadi pada kitin hampir tidak pernah selesai sehingga dalam kitosan masih ada gugus asetil yang terikat pada beberapa gugus N [24]. Keberadaan gugus hidroksil dan amino sepanjang rantai polimer mengakibatkan kitosan sangat efektif mengadsorpsi kation ion logam berat maupun kation dari zat-zat organik (protein dan lemak) [29]. Kitosan juga dapat membentuk sebuah membran yang berfungsi sebagai adsorben pada waktu terjadinya pengikatan zat-zat organik maupun anorganik oleh kitosan. Hal ini yang menyebabkan kitosan lebih banyak manfaatnya dibandingkan dengan kitin [30].

7.2.1 Sifat fisika kitosan

Kitosan merupakan kopolimer D-glucosamine dan N-acetyl-D-glucosamine dengan ikatan yang diperoleh dari alkali atau deacetylation enzimatik dari polisakarida kitin. Kitosan mempunyai nama kimia Poly d-glucosamine (beta (1-4) 2-amino-2-deoxy-D-glucose) [26].



Gambar 1. Struktur kitosan [24]

Gambar 1. memperlihatkan struktur polimer kitosan. Kitosan dapat diperoleh dengan berbagai macam bentuk morfologi di antaranya struktur yang tidak teratur, bentuknya kristal atau semikristal. Selain itu dapat juga berbentuk padatan amorf berwarna putih dengan

struktur kristal tetap dari bentuk awal kitin murni. Kitin memiliki sifat biologi dan mekanik yang tinggi di antaranya adalah biorenewable, biodegradable, dan biofungsional. Kitosan mempunyai rantai yang lebih pendek daripada rantai kitin. Kelarutan kitosan dalam larutan asam serta viscositas larutannya tergantung dari derajat deasetilasi dan derajat degradasi polimer. Terdapat dua metode untuk memperoleh kitin, kitosan dan oligomernya dengan berbagai derajat deasetilasi (DD), polimerisasi, dan berat molekulnya (MW) yaitu dengan kimia dan enzimatis[26]. Suatu molekul dikatakan kitin bila mempunyai derajat deasetilasi (DD) sampai 10% dan kandungan nitrogennya kurang dari 7%. Dan dikatakan kitosan bila nitrogen yang terkandung pada molekulnya lebih besar dari 7% berat [27] dan DD lebih dari 70%[31]. Kitosan kering tidak mempunyai titik lebur. Bila disimpan dalam jangka waktu yang relatif lama pada suhu sekitar 100°F maka sifat keseluruhannya dan viskositasnya akan berubah. Hila kitosan disimpan lama dalam keadaan terbuka maka akan terjadi dekomposisi warna menjadi kekuningan dan viscositasnya berkurang. Suatu produk dapat dikatakan kitosan jika memenuhi beberapa standar seperti tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Standard Kitosan [27]

| Parameter | Keterangan |
|----------------------------------|----------------------------|
| Kadar abu | <1% |
| Kadar air | 2 – 10% |
| Kelarutan | pH \leq 6 |
| Deasetilasi | \geq Teknis > 95% p.a |
| Kadar Nitrogen | 7 – 8,4% |
| Warna | Putih – kuning pucat |
| Ukuran partikel | 5 ASTM Mesh |
| Viskositas | 309 cps |
| Kandungan <i>Eschericia coli</i> | Negatif |
| Kandungan <i>Salmonella</i> | Negatif |

7.2.2 Sifat kimia kitosan

Kitosan banyak digunakan pada berbagai aplikasi, hal tersebut dikarenakan adanya gugus amino pada posisi C₂ dan juga karena gugus hidroksil primer dan sekunder pada posisi C₃ dan C₆. Kitosan adalah turunan yang paling sederhana dari kitin. Tidak seperti polisakarida kehadiran gugus amino bermuatan positif yang terdapat sepanjang ikatan pilernya menyebabkan molekul dapat mengikat muatan negatif permukaan melalui ikatan ionik atau hydrogen, sehingga kitosan memiliki sifat kimia linier polyamine (poly D-glucosamine), gugus amino yang reaktif gugus hidroksi yang reaktif [27]. Kitosan tidak larut dalam air namun larut dalam asam, memiliki viscositas cukup tinggi ketika dilarutkan, sebagian besar reaksi karakteristik kitosan merupakan reaksi karakteristik kitin. Adapun berbagai solvent yang digunakan umumnya tidak beracun untuk aplikasi dalam bidang makanan seperti asam format, asam asetat, asam laktat, dan asam glutamater [26].

Larutan kitosan memiliki sifat-sifat yang spesifik dimana terdapat dua jenis gugus asam amino, yaitu:

1. Amino bebas (-NH₂)

- Larut dalam larutan asam
- Tidak larut dalam H₂SO₄
- Limited solubility dalam H₃PO₄
- Tidak larut dalam sebagian besar pelarut organik

2. Kation Amino (-NH₂⁺)

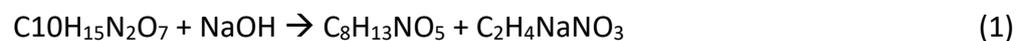
- Larut dalam larutan dengan pH < 6,5
- Membentuk larutan yang kental
- Membentuk gel dengan polyanion
- Dapat larut didalam campuran alkohol dengan air

7.3 Proses produksi kitosan

Dalam kulit crustacea, kitin terdapat sebagai mikropolisakarida yang berikatan dengan garam-garam anorganik terutama kalsium karbonat (CaCO₃), protein dan lipida termasuk pigmen-pigmen. Kitin merupakan bahan utama dalam pembuatan kitosan. Oleh karena itu untuk memperoleh kitin dari kulit crustacea melibatkan proses pemisahan protein (deproteinasi) dan pemisahan mineral (demineralisasi) dan untuk proses sintesa kitosan dapat dilakukan proses penghilangan gugus asetil (deasetilasi). Proses dapat dilakukan secara kimia dan secara enzimatik. Sintesa kitosan dengan cara menghilangkan tiga komponen besar yaitu protein melalui deproteinasi dan kalsium karbonat dengan cara demineralisasi dan gugus asetil dengan deasetilasi. Berbagai metode telah dilakukan untuk menghasilkan kitosan murni. Metode sintesa kitosan terbagi dua yaitu secara enzimatik dan kimiawi. Metode enzimatik menggunakan enzim dari maupun bakteri sedangkan kimiawi dengan cara zat kimia dalam prosesnya [32].

7.3.1 Deproteinasi

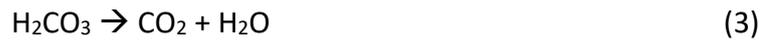
Protein dalam kulit udang mencapai sekitar 21% dari bahan keringnya. Protein tersebut berikatan kovalen dengan kitin. Dalam proses ini kulit kepiting direaksikan dengan larutan natrium hidroksida panas dalam waktu yang relatif lama. Adapun tujuan dari proses ini untuk memisahkan atau melepas ikatan-ikatan antara protein dan kitin. Proses deproteinasi ini dapat dilakukan dengan menggunakan bahan kimia seperti mereaksikannya dengan basa kuat NaOH dengan komposisi tertentu maupun dengan cara menggunakan bantuan mikroba. Adapun reaksi yang terjadi selama proses deproteinasi dapat dilihat dari reaksi pada persamaan (1) [32]



7.3.2 Demineralisasi

Mineral dalam kulit kepiting dapat mencapai 40 – 50% tiap berat bahan kering. Dalam proses demineralisasi menggunakan larutan asam klorida encer. Proses demineralisasi ini bertujuan untuk menghilangkan garam-garam anorganik atau kandungan mineral yang ada pada kitin terutama kalsium karbonat. Adapun reaksi yang terjadi selama reaksi demineralisasi terdapat pada reaksi di persamaan (2) dan (3).





7.3.3 Deasetilasi

Deasetilasi merupakan proses pemutusan gugus asetil pada kitin untuk menghasilkan kitosan. Metode yang biasa digunakan untuk proses deasetilasi kitin adalah dengan menggunakan larutan alkali NaOH [33]. Hilangnya gugus asetil dari kitin ini lah yang dinamakan dengan derajat deasetilasi. Champagne (2002)[34] meneliti bahwa konsentrasi NaOH berbanding lurus dengan derajat deasetilasi yang didapat. Proses sintesis Kitosan secara enzimatik Proses sintesis kitosan secara emzimatik dapat dilakukan dengan 3 tahap yaitu tahap deproteinasi, tahap demineralisasi dan tahap deasetilasi. Mikroba penghasil protease yang telah dimanfaatkan untuk melakukan proses deproteinasi antara lain *Pseudomonas aeruginosa* K-187 [35], *Bacillus subtilis* [36], *Bacillus sp* OG-6 [37], dan *Bacillus subtilis licheniformis*[38].

Pemanfaatan golongan bakteri asam laktat telah banyak diteliti dalam melakukan proses demineralisasi, antara lain *Lactobacillus paracasei subsp, tolerans* KCTC-3074 [39], *L. acidophilus FN CC-116* [37], dan *L. plantarum Stains 541* [37]. Natsir et al (2004) melakukan penelitian tentang konversi kitin dari kulit kepiting (*Scylla serrata*) menjadi kitosan dengan enzim kitin deasetilase.

Proses sintesis kitosan secara kimiawi, dilakukan dengan mengekstraksi kitosan melalui tahap deproteinasi, tahap demineralisasi dan tahap deasetilasi. Setiap proses diikuti dengan tahap pencucian, pembilasan, penetralan pH, dan pengeringan. Tahap deproteinasi dapat dilakukan dengan menggunakan larutan NaOH 3,5% (Rasio 1:10(b/v)) selama 2 jam pada suhu 65 °C dan tahap demineralisasi dapat dilakukan dengan menggunakan larutan HCl 1N (Rasio 1:10(b/v)) selama 1 jam pada suhu 30°C sedangkan pada tahap Deasetilasi dapat dilakukan dengan menggunakan NaOH 50% (Rasio 1:20(b/v)) pada suhu 120°C selama 3 jam [40]. Adapun reaksi yang terjadi dapat dilihat dari reaksi pada persamaan (4).



8 Kajian *traceability* halal kitosan dari kulit udang

Terdapat dua metode penentuan halal tidaknya suatu produk yaitu prinsip telusur (*traceability*) dan prinsip analisa produk akhir (*end-product analysis*). Prinsip sertifikasi halal oleh Majelis Ulama Indonesia (MUI) menganut prinsip telusur dimana dengan prinsip tersebut memungkinkan untuk menjamin kehalalan suatu produk dari bahan baku, proses produksi, penyimpanan, distribusi, hingga sampai ke tangan konsumen untuk dikonsumsi.

Untuk bahan, dibedakan menjadi dua yaitu bahan kritis dan bahan tidak kritis. Bahan tidak kritis adalah bahan yang tercantum pada *positive list* dan bahan kritis adalah bahan yang ada di luar *list* tersebut [41]. Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan kitosan adalah limbah kulit udang di mana udang sendiri termasuk dalam binatang laut yang sudah dijamin kehalalannya. Untuk bahan pendukung dalam proses produksi akan berbeda bergantung pada metode apa yang digunakan untuk sintesa kitosan tersebut, secara enzimatik atau kimiawi.

Selain bahan, terdapat juga aktivitas yang dapat mempengaruhi kehalalan suatu produk atau biasa disebut aktivitas kritis yang salah satunya mencakup mengenai proses produksi, pencucian fasilitas produksi, penyimpanan, dan transportasi bahan baku dan produk [41]. Proses produksi kitosan sendiri dapat dilakukan secara enzimatik atau kimiawi yang selanjutnya akan dibahas masing-masing titik kritis pada bahan dan proses produksi.

8.1 Titik kritis kitosan yang diproduksi secara enzimatik

Proses utama pada pembuatan kitosan adalah deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi dimana pada metode enzimatik semua proses tersebut dilakukan dengan bantuan mikroorganisme. Untuk proses demineralisasi dan deasetilasi memerlukan proses fermentasi asam laktat yang biasanya menggunakan bakteri spesies *Lactobacillus*. Sedangkan untuk deproteinasi biasanya memanfaatkan aktivitas proteolitik dari bakteri spesies *Bacillus* [42].

Untuk produk dengan proses mikrobial, titik kritis berada pada bahan penyusun media tumbuh, enzim, bahan penolong, dan mikroba dengan rekombinan dari gen binatang haram. Untuk pengembangan inokulum dan proses fermentasi, mikroorganisme membutuhkan media dan bahan penyusun media bisa jadi dari bahan yang haram. Tabel 3 menyajikan berbagai mikroba yang digunakan dalam beberapa penelitian yang memproduksi kitosan secara enzimatik beserta komposisi media dan titik kritisnya.

Bahan pendukung lain selain mikroba dan medianya itu sendiri, Ploydee dan Chaiyanan dalam penelitiannya [42] juga menambahkan $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ sebagai sumber Nitrogen tambahan pada media fermentasi untuk mempercepat pertumbuhan mikroba dimana $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ itu sendiri bukan bahan dengan titik kritis. Sementara Khanafari et.al. [43] pada proses deproteinasi menambahkan medium fermentasi ke dalam larutan mineral steril yang terdiri dari 0,1% KH_2PO_4 dan 0,05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ yang kemudian pada proses deasetilasi juga menggunakan larutan NaOH 50% (w/v) yang mana bahan-bahan kimia tersebut juga bukan bahan dengan titik kritis, proses pencucian selama proses produksi dilakukan menggunakan air keran.

Kitosan yang diproduksi secara enzimatik dengan bantuan mikroba meskipun hasil akhirnya dianalisa dan memenuhi standar yang ada pada Tabel 3 dan dapat digunakan untuk berbagai aplikasi termasuk sebagai pelapis buah-buahan yang aman dan tidak berbahaya masih memiliki beberapa titik kritis yang terletak pada komposisi bahan media yang digunakan untuk fermentasi.

8.2 Titik kritis kitosan yang diproduksi secara kimiawi

Kajian titik kritis pembuatan kitosan secara kimiawi dikaji pada Tabel 4. Pada proses pembuatan secara kimiawi, letak titik kritisnya terdapat pada bahan kimia tambahan yang tidak tertera pada *halal positive list* MUI. Bahan kimia tambahan tersebut terdiri atas bahan kimia yang tidak berbahaya dan tidak mengandung bahan non halal, bahan kimia hasil penambangan/proses pemurnian dari alam, dan bahan kimia hasil sintesis anorganik dan organik. Berdasarkan kajian Tabel 4. bahan tambahan yang tidak termasuk ke dalam *halal positive list* MUI adalah Ionic liquids diisopropylethylammonium acetate [DIPEA][Ac], diisopropylethylammonium propanoate [DIPEA][P], dimethylbutylammonium acetate [DMBA][Ac] pada kajian jurnal pertama dan Ethanol pada kajian jurnal ketiga. Ionic liquids

[DIPEA][Ac], [DIPEA][P], [DMBA][Ac] dikhawatirkan titik kritisnya dikarenakan kejelasan bahan pada proses pembuatannya, sementara penggunaan Ethanol pada penelitian ketiga hanya sebagai bleaching, sehingga kandungan bahannya akan terpisah di saat proses evaporasi, namun tetap dikhawatirkan terdapat sisa pada saat proses evaporasi. Akan tetapi, kedua bahan tersebut dapat dieliminasi penggunaannya berdasarkan tingkat urgensitas fungsinya seperti pada *review* penelitian pertama.

Tabel 3. Kajian titik kritis pembuatan kitosan secara enzimatik

| Penelitian | Mikroba | Komposisi Media | Keterangan |
|---------------------------------|--|---|--------------|
| Khanafari, et al., 2007[43] | <i>Lactobacillus Plantarum</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> | 10g pepton dari kasein | titik kritis |
| | | 4g yeast extract | |
| | | 8g meat extract | titik kritis |
| | | 20g D (+) glucose | |
| | | 1g tween 80 | titik kritis |
| | | 2g di-ammonium hydrogen citrate | |
| | | 5g sodium acetate | |
| | | 0,2g magnesium sulfat | |
| | | 0,04g manganese sulfat | |
| Ploydee dan Chaiyanan, 2014[42] | <i>Lactobacillus pentosus L7</i> | 20 g glucose | |
| | | 10 g peptone | titik kritis |
| | | 5 g beef extract | titik kritis |
| | | 5 g yeast extract | |
| | | 5 g sodiumacetate | |
| | | 2 g triammonium citrate | |
| | | 2 g K ₂ HPO ₄ | |
| | | 0,1 gMgSO ₄ ·7H ₂ O | |
| | | 0,05 gMnSO ₄ ·4H ₂ O | |
| | | 1 g Tween 80 | titik kritis |
| | 1,000mL distilled water | | |
| | <i>Bacillus thuringiensis SA</i> | 5 g peptone | titik kritis |
| | | 3 g beef extract | titik kritis |
| | | 3 g yeast extract | |
| 5 g NaCl | | | |
| Afifah, dkk, 2017[44] | <i>Bacillus sp.</i> | 0,5 % bubuk kulit udang | |
| | | 0,2 % yeast ekstrak | |
| | | 0,2 % ammonium sulfat | |
| | | 0,1 % KH ₂ PO ₄ | |
| | | 0,1 % tryptone | titik kritis |
| | | 0,01 % MgSO ₄ ·7H ₂ O | |

Sementara penggunaan kulit udang pada proses pembuatan kitosan terkaji halal karena pada *halal positive list* MUI, pemanfaatan bagian hewan (kulit) yang berasal dari hewan non halal, tidak najis, dan tidak membahayakan dinilai halal. Sehingga berdasarkan hal tersebut, pembuatan kitosan dari kulit udang melalui metode kimia terkaji halal karena memiliki titik kritis yang minim.

Tabel 4. Kajian titik kritis pembuatan kitosan secara kimiawi

| Penelitian | Asal bahan utama | Komponen Bahan | Keterangan |
|---|---|---|--------------|
| Kandile, Zaky, Mohamed, Nasr, Ali, 2018[45] | Udang diperoleh dari Pasar di Kota Euloubor, Mesir | Udang | |
| | | Natrium hidroksida (NaOH) | |
| | | Asam klorida (HCl) | |
| Tolesa, Gupta, Lee, 2019[46] | Cangkang udang dikumpulkan dari pasar malam Yonghee, Kota New Taipei, Taiwan | Cangkang udang | |
| | | Asam asetat | |
| | | Dimethylbutylamine | |
| | | Asam propanoic | |
| | | Asam sitrat | |
| | | Diisopropylethylamine | |
| | | N,N-dimethylacetamide | |
| | | Natrium klorida | |
| | | Lithium klorida | |
| | | Natrium hidroksida | |
| | | The ionic liquids [DIPEA][Ac], [DIPEA][P], and [DMBA][Ac] | titik kritis |
| Air deionisasi terdistilasi ganda | | | |
| Rayane, Bianca, dkk., 2017[47] | Cangkang udang whiteleg laut Pasifik (<i>Litopenaeus vannamei</i> Boone) diperoleh dari Fazenda Aquamaris S.A. | Air distilat | |
| | | Natrium asetat ($C_2H_3NaO_2$) | |
| | | Asam asetat glasial (CH_3COOH) | |
| | | Asam klorida (HCl) | |
| | | Asam sulfat (H_2SO_4) | |
| | | Kalium bromida (KBr) | |
| | | Etanol (C_2H_6O) | titik kritis |
| | | Natrium Hidroksida (NaOH) | |
| N-acetylglucosamine ($C_8H_{15}NO_6$) | | | |

Kesimpulan

Limbah kulit udang dapat diproduksi menjadi kitosan yang terkaji secara traceability halal dan dimanfaatkan sebagai pengganti pelapis lilin untuk mengawetkan buah – buahan. Proses pengkajian halal telah dilakukan baik dengan metode pembuatan kitosan secara enzimatik maupun kimiawi. Penggunaan kulit udang pada proses pembuatan kitosan terkaji halal karena pada *halal positive list* MUI, pemanfaatan bagian hewan (kulit) yang berasal dari binatang halal, tidak najis, dan tidak membahayakan dinilai halal. Kitosan yang diproduksi secara enzimatik dengan bantuan mikroba meskipun hasil akhirnya dianalisa dan memenuhi standar dan dapat digunakan untuk berbagai aplikasi termasuk sebagai pelapis buah-buahan yang aman dan tidak berbahaya masih memiliki beberapa titik kritis yang terletak pada komposisi bahan media yang digunakan untuk fermentasi. Sementara pada pembuatan kitosan secara kimiawi, bahan titik kritis terkandung secara minim pada beberapa penggunaan produksinya, akan tetapi dapat dieliminasi bergantung urgensitas masing – masing. Untuk keperluan pengkajian lebih lanjut diperlukan kajian dari beberapa riset yang lebih luas, untuk memenuhi tingkat keakurasian data.

Referensi

- [1] Dukcapil, "273 Juta Penduduk Indonesia Terupdate Versi Kemendagri," 2022.
- [2] Dwiari, *Teknologi Pangan Jilid I untuk SMK*. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional, 2008.
- [3] and A. W. Tanbury, Peter F., *Principles of Fermentation Technology*. New York: Pergamon Press, 1984.
- [4] G. T. Rekso, *Pemanfaatan Limbah Perikanan*. Jakarta: Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi (P3TIR), Badan Teknologi Nasional, 2001.
- [5] Winarno FG, *Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta (ID)*: Gramedia Pustakatama, 2002.
- [6] and P. C. Pantastico ErB, Matto AK, *Fisiologi pascapanen, penanganan dan pemanfaatan buah-buahan dan sayur-sayuran tropika dan sub tropika*. Yogyakarta, Indonesia: Universitas Gadjah Mada, 1989.
- [7] Santoso BB dan Purwoko BS, *Fisiologi dan Teknologi Pasca Panen Tanaman Hortikultura*. Indonesia Australia Eastern Universities Project, 1995.
- [8] Kartasapoetra AG, *Teknologi Penanganan Pasca Panen*. Jakarta, Indonesia: Rineka Cipta, 1994.
- [9] J. K. Brecht, "Physiology of Lightly Processed Fruits and Vegetables," *HortScience*, vol. 30, no. 1, pp. 18–22, 1995, doi: 10.21273/hortsci.30.1.22.
- [10] P. N. Kumar, N. Jagathjothi, R. Ramasamy, dan S. Suresh, "Importance of Edible wax coatings in fruits and vegetables," no. November, pp. 1–5, 2020.
- [11] H. P. Sharma, V. Chaudhary, dan M. Kumar, "Importance of edible coating on fruits and vegetables: A review," ~ 4104 ~ *J. Pharmacogn. Phytochem.*, vol. 8, no. 3, pp. 4104–4110, 2019.
- [12] S. Susanto, D. Inkorisa, dan D. Hermansyah, "Pelilinan Efektif Memperpanjang Masa Simpan Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) 'Kristal,'" *J. Hortik. Indones.*, vol. 9, no. 1, pp. 19–26, 2018, doi: 10.29244/jhi.9.1.19-26.
- [13] R. L. Bhardwaj, Y. K. Sharma, dan L. Vyas, *Postharvest Handling of Horticultural Crops*. CRC Press, 2021.
- [14] A. Gennadios dan W. C.L., "Edible Film and Coating From Wheat and Corn Protein," *J. Food echnol*, vol. 44, no. 10, p. 63, 1990.
- [15] J. Kester dan O. Fennema, "Edible films and coatings: A review," *Food Technol.*, pp. 47–59, 1986.
- [16] F. Debeaufort, G. Quezada, dan A. Voilley, "Edible films and coating: Tomorrow's packaging: A review," *Food Sc. Nutr.*, vol. 38, pp. 299–313, 1998.
- [17] E. Garcia dan D. Barret, "Preservative treatments for fresh cut fruits and vegetables," in *Fresh-Cut Fruits and Vegetables*, O. Lamikan., CRC Press, 2002.
- [18] R. Contreras-Medellin dan T. Labuza, "Prediction of moisture protection requirements for foods," *Cereal Food World*, vol. 26, no. 7, pp. 335–343, 1981.
- [19] M. V, D. F, B. G, C. M, dan V. A, "Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: A review," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 42, no. 1, pp. 67–89, 2002.
- [20] B. EA, K. JM, dan N. MO, "Edible coatings and films to improve food quality," in *Edible coatings for fresh fruits and vegetables: past, present, and future*, CMC Press, 1994, pp. 25–64.
- [21] G. IK dan F. O, "Lipid-based edible films and coatings," *Lipid Tech*, vol. 4, pp. 34–38, 1992.
- [22] L. D dan Z. Y, "Innovation the development and application of edible coating for fresh and minimally processed fruits and vegetables," *Food Sc. Food Saf.*, vol. 6, pp. 60–75,

- 2007.
- [23] M. R dan S. P, "Mechanical property of and water vapour transferability through whey protein film," *J Dairy Sc*, vol. 75, pp. 942–946, 1992.
- [24] R. Pratiwi, "Manfaat kitin dan kitosan bagi kehidupan manusia," *Oseana*, vol. 39, no. 1, pp. 35–43, 2014.
- [25] C. Purnawan, N. H. A, I. Kartini, dan E. Suguharto, "MENGUNAKAN THERMOGRAVIMETRIC ANALYSIS DAN DIFFERENTIAL THERMAL ANALYSIS (TGA-DTA) Kajian Analisis Termal ... (Candra , dkk)," *J. Ris. Kim.*, vol. 2, no. 2, pp. 44–52, 2008.
- [26] Zulfahmi dan M. R. S. Taufan, "Pemanfaatan Limbah Kulit Udang sebagai Bahan Anti Rayap (Bio-termitisida) pada Bangunan Berbahan Kayu," *Skripsi, Univ. Diponegoro*, p. 44, 2010.
- [27] R. A. Muzzarelli, *Chitin In The Polysaccharisses*, 3rd ed. New York: Academic Press, 1985.
- [28] I. M. Ridwan, S. Mus, dan R. Karnila, "Pengaruh Edible Coating dari Kitosan Terhadap Mutu Fillet Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Disimpan pada Suhu Rendah," *Jom*, vol. 1, no. 10, pp. 1–15, 2015.
- [29] B. W. Sari, I. Nurul B, P. Indun D., H. Amir, dan Ustadi, "Pembentukan N-Asetilglukosamin dari Kitin Cangkang Udang oleh *Serratia marcescens* PT-6 yang dikultur pada berbagai pH dan Suhu Bioformation of N-Acetylglucosamine from Shrimp Shell Chitin by *Serratia marcescens* PT-6 Cultured in various pH and Temperatu," *Perikan. Univ. Gajah Mada*, vol. 19, no. 1, pp. 53–59, 2017.
- [30] S. Agustina, I. Swantara, dan I. Suartha, "Isolasi Kitin, Karakterisasi, Dan Sintesis Kitosan Dari Kulit Udang," *J. Kim.*, vol. 9, no. 2, pp. 271–278, 2015.
- [31] S. Lee, J.-S. Cho, dan G. Cho, "Antimicrobial and Blood Repellent Finishes for Cotton and Nonwoven Fabrics Based on Chitosan and Fluoropolymers," *Text. Res. J.*, vol. 69, no. 2, pp. 104–112, Feb. 1999, doi: 10.1177/004051759906900205.
- [32] M. R. A. Thariq, A. Fadli, A. Rahmat, dan R. Handayani, "Pengembangan Kitosan Terkini pada Berbagai Aplikasi Kehidupan : Review," *J. Teknol. Pangan*, no. October, p. Hal. 49-57, 2016, [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/311806381>.
- [33] A. Tolaimate, J. Desbrieres, M. Rhazi, dan A. Alagui, "Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties," *Polymer (Guildf).*, vol. 44, no. 26, pp. 7939–7952, 2003, doi: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2003.10.025>.
- [34] L. M. Champagne, "The Synthesis of Water Soluble N-Acyl Chitosan Derivatives for Characterization As Antibacterial Agents," *LSU Dr. Diss.*, no. May, pp. 1–126, 2008, [Online]. Available: https://digitalcommons.lsu.edu/gradschool_dissertations/2289.
- [35] Y.-S. Oh, I.-L. Shih, Y.-M. Tzeng, dan S.-L. Wang, "Protease produced by *Pseudomonas aeruginosa* K-187 and its application in the deproteinization of shrimp and crab Shell wastes," *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 27, pp. 3–10, Aug. 2000, doi: 10.1016/S0141-0229(99)00172-6.
- [36] H. Muhammad, "PENYEDIAAN CARBOXYMETHYL CELLULOCE (CMC) DARI TEPUNG BIJI DURIAN SEBAGAI PENGENTAL FOOD GRADE DENGAN METODE GERMAN BATCH PROCESS," Universitas Sumatera Utara, 2021.
- [37] M. R. A. Thariq, A. Fadli, A. Rahmat, dan R. Handayani, "Pengembangan Kitosan Terkini pada Berbagai Aplikasi Kehidupan : Review," *J. Teknol. Pangan*, no. October, p. Hal. 49-57, 2016, [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/311806381>.
- [38] S. R. Fatihyah, "Deproteinasi Kulit Udang Secara Fermentasi Menggunakan Isolat *Bacillus licheniformis* F11 Pada Ekstrasi Kitin," *Inst. Pertan. Bogor*, 2006.

- [39] W.-J. Jung, G. H. Jo, J. H. Kuk, Y. J. Kim, K. T. Oh, dan R.-D. Park, "Production of chitin from red crab shell waste by successive fermentation with *Lactobacillus paracasei* KCTC-3074 and *Serratia marcescens* FS-3," *Carbohydr. Polym.*, vol. 68, pp. 746–750, Apr. 2007, doi: 10.1016/j.carbpol.2006.08.011.
- [40] L. O. A. . Ramadhan, C. L. Radiman, D. Wahyuningrum, V. Suendo, L. O. Ahmad, and S. Valiyaveetil, "Deasetilasi Kitin secara Bertahap dan Pengaruhnya terhadap Derajat Deasetilasi serta Massa molekul Kitosan," *J. Kim. Indones.*, vol. 5, no. 1, pp. 17–21, 2010.
- [41] MUI, "Kriteria Sistem Jaminan Halal dalam HAS23000," 2021. .
- [42] E. Ploydee dan S. Chaiyanan, "Production of high viscosity chitosan from biologically purified chitin isolated by microbial fermentation and deproteinization," *Int. J. Polym. Sci.*, vol. 2014, 2014, doi: 10.1155/2014/162173.
- [43] A. Khanafari, R. Marandi, dan S. Sanatei, "Recovery of chitin and chitosan from shrimp waste by chemical and microbial methods," *Iran. J. Environ. Heal. Sci. Eng.*, vol. 5, no. 1, pp. 19–24, 2008.
- [44] K. N. Afifah, M. P. Koentjoro, dan E. N. Prasetyo, "Produksi Kitosan Secara Enzimatis oleh *Bacillus* Sampah Perikanan Enzymatic Chitosan Production by New Isolated *Bacillus* from Fisheries Waste," vol. 14, pp. 286–294, 2017.
- [45] Y. Saleh, A. Nasr, H. Zaki, M. Mohamed, dan N. Kandile, "Extraction and Characterization of Chitosan from Shrimp Shells (Egypt : case study)," *J. Sci. Res. Sci.*, vol. 33, no. part1, pp. 396–407, 2018, doi: 10.21608/jsrs.2016.17145.
- [46] L. D. Tolesa, B. S. Gupta, dan M. J. Lee, "Chitin and chitosan production from shrimp shells using ammonium-based ionic liquids," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 130, pp. 818–826, 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.018.
- [47] R. S. C. M. D. Q. Antonino *et al.*, "Preparation and characterization of chitosan obtained from shells of shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone)," *Mar. Drugs*, vol. 15, no. 5, pp. 1–12, 2017, doi: 10.3390/md15050141.