

Uji Efektivitas Kitosan sebagai Pengawet Pada Susu Kedelai

¹Diviany Sholihatunnisa ²Bertha Rusdi ³Anggi Arumsari
^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, Unisba, Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116
e-mail: ¹diviany.sholihatunnisa@yahoo.co.id, ²bertha_rusdi@gmail.com,
³anggiarumsari@yahoo.com

Abstrak. Pangan siap saji atau pangan olahan sangat erat kaitannya dengan penggunaan bahan tambahan pangan, terutama pengawet. Penggunaan pengawet sintetik natrium benzoat secara terus menerus dengan kadar melebihi batas maksimal yang diperbolehkan dapat menimbulkan efek merugikan bagi tubuh. Salah satu bahan aktif antimikroba alami yang dapat digunakan sebagai pengawet adalah kitosan yang merupakan produk turunan dari polimer kitin, yang berasal dari cangkang hewan *crustaceae*. Sehingga pada penelitian ini dilakukan pengujian efektivitas kitosan sebagai pengawet pada susu kedelai. Serta membandingkan efektivitasnya dengan natrium benzoat. Uji efektivitas pengawet dilakukan berdasarkan ketentuan dalam FI IV dengan metode angka lempeng total (ALT) pada hari ke 0, 7, 14 dan 21 dan dengan pengujian organoleptis pada hari pengujian yang sama. Hasil uji efektivitas kitosan sebagai pengawet pada susu kedelai menunjukkan kitosan mampu menekan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 1% dan 1,5%. Efektivitas kitosan 1% dan 1,5% sebagai pengawet pada susu kedelai juga lebih baik dari natrium benzoat 0,1%. Namun berdasarkan persyaratan pada FI IV, kitosan tidak efektif digunakan sebagai pengawet pada susu kedelai karena penurunan atau peningkatan angka lempeng total yang dihasilkan oleh kitosan lebih besar dari 0,1% pada setiap hari pengujian. Selain itu penambahan kitosan pada susu kedelai dapat mengakibatkan perubahan bau dan kekentalan.

Kata kunci: Pengawet, natrium benzoat, kitosan, susu kedelai, angka lempeng total (ALT)

A. Pendahuluan

Dalam pola hidup modern saat ini, terutama di perkotaan, sebagian besar masyarakat cenderung memilih makanan yang praktis untuk memenuhi kebutuhan nutrisinya. Praktis dalam artian mudah diperoleh dan siap saji sehingga bisa langsung dikonsumsi. Oleh sebab itu makanan siap saji dan teknologi pengolahan pangan semakin berkembang (Subroto, 2009). Perkembangan ini mengarah pada makanan atau minuman yang sudah diolah dan bisa langsung dikonsumsi. Pangan olahan atau pangan siap saji yang banyak digemari masyarakat diantaranya produk susu dan olahannya, dari mulai susu yang berasal dari sumber hewani hingga susu yang berasal dari sumber nabati, seperti susu kedelai (Subroto, 2009). Pada pangan olahan, penambahan BTP (Bahan Tambahan Pangan) seringkali dibutuhkan untuk mempertahankan bentuk, rasa, dan bau serta memperpanjang waktu simpan dari produk. Bahan tambahan pangan yang ditambahkan salah satunya adalah bahan pengawet yang berperan sebagai antimikroba. Salah satu bahan pengawet yang diizinkan untuk digunakan pada minuman ringan seperti susu adalah natrium benzoat.

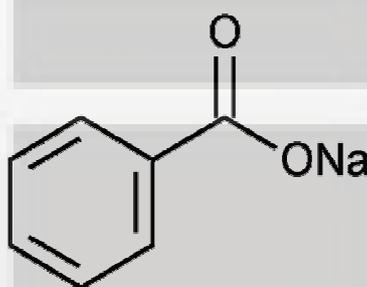
Natrium benzoat memiliki fungsi sebagai antimikroba, serta menghambat pertumbuhan kapang dan khamir. Meskipun penggunaan natrium benzoat diizinkan, namun jika dikonsumsi secara terus menerus dan dengan kadar melebihi batas maksimal yang diperbolehkan dapat terakumulasi serta menimbulkan efek merugikan bagi kesehatan. Dimana pemberian bahan pengawet natrium benzoat dosis 2,6mg/kg bb pada mencit atau setara dengan 1000 mg pada manusia dapat menyebabkan kerusakan degenerasi sel-sel hati yang berupa degenerasi lemak, hepatosit irregular, vasodilatasi vena dan piknotik pada histopatologi hati mencit (Kawitani, 2010). Untuk itu, perlu antimikroba alami yang lebih aman untuk penggunaan jangka panjang.

Departemen THP FPIK-IPB secara intensif telah melakukan riset bahan aktif antimikroba alami guna menggantikan bahan-bahan antimikroba sintetik. Salah satu bahan aktif antimikroba tersebut adalah kitosan yang merupakan produk turunan dari polimer kitin. Kitin adalah produk samping dari pengolahan industri perikanan, khususnya udang, rajungan dan kepiting. Kitosan mengandung enzim lysozim dan gugus aminopolysakarida yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen dan bersifat polikationik yang dapat melindungi protein (Wardaniati, 2006). Dengan demikian, kitosan memiliki potensi sebagai antimikroba pada pangan dengan kandungan protein tinggi.

Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian secara ilmiah mengenai efektifitas pengawet kitosan yang berperan sebagai antimikroba pada susu kedelai, serta membandingkan efektifitas kitosan dengan pengawet sintetik natrium benzoat.

Adapun manfaat yang diharapkan bisa memberi pengetahuan ilmiah mengenai kitosan yang dapat digunakan sebagai bahan pengawet yang berperan sebagai antimikroba yang aman. Serta diharapkan kitosan dapat menjadi bahan pengawet alternatif yang bisa digunakan oleh masyarakat khususnya produsen susu kedelai secara luas, sehingga penggunaan bahan pengawet berbahaya bisa berkurang.

B. Landasan Teori



Gambar I.1 Struktur natrium benzoat (Dirjen POM, 1995)

Natrium benzoat berupa granul atau serbuk hablur berwarna putih, tidak berbau dan stabil di udara, mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol dan lebih mudah larut dalam etanol 90% (Dirjen POM, 1995).

Menurut peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) RI nomor 36 tahun 2013, tentang batas maksimum penggunaan bahan tambahan pangan, penggunaan natrium benzoat pada produk sari buah/sayur dan produk kedelai non fermentasi adalah 600 mg/kg, dengan ADI 0-5 mg/kg berat badan (Kepala BPOM, 2013).

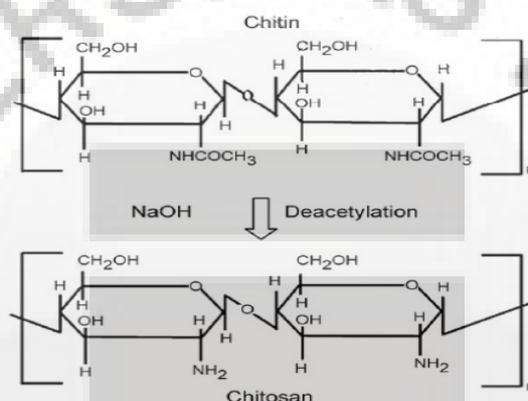
Natrium benzoat termasuk dalam bahan pengawet organik golongan benzoat yang efektif bekerja sebagai pengawet antimikroba pada pH rendah. Karena pada pH rendah proporsi asam yang tidak terdisosiasi meningkat, dan asam yang tidak terdisosiasi merupakan penentu utama peranan pengawet (Cahyadi, 2012). Benzoat efektif pada kisaran pH 2,5 – 4,0 (Winarno dan Fardiaz, 1980).

Senyawa benzoat dapat menghambat pertumbuhan kapang dan khamir, bakteri penghasil toksin (racun), bakteri spora dan bakteri bukan pembusuk. Dalam bahan pangan garam benzoat terurai menjadi bentuk efektif sebagai antimikroba yaitu bentuk asam benzoat yang tak terdisosiasi (Branen dan Davidson, 1983). Mekanisme kerja benzoat dan garamnya sebagai antimikroba adalah berdasarkan molekul asam yang

tidak terdisosiasi akan mengganggu permeabilitas dari membran sel mikroba. Isi sel mikroba mempunyai pH yang selalu netral. Bila sel mikroba menjadi asam atau basa maka akan terjadi gangguan pada organ-organ sel sehingga metabolisme terhambat dan akhirnya sebagian sel mati (Pujihastuti, 2007).

Pada penderita asma dan orang yang menderita urticaria sangat sensitif terhadap pengawet golongan benzoat, jika dikonsumsi dalam jumlah besar akan mengiritasi lambung (Cahyadi, 2012). Pemberian bahan pengawet natrium benzoat dosis 2,6mg/kg bb pada mencit atau setara dengan 1000 mg pada manusia dapat menyebabkan kerusakan degenerasi sel-sel hati yang berupa degenerasi lemak, hepatosit irregular, vasodilatasi vena dan piknotik pada histopatologi hati mencit (Kawitani, 2010) Selain itu, pemberian natrium benzoat secara in vivo pada hewan coba tikus pada dosis 60 dan 120 mg/kg BB dapat mengakibatkan penurunan Hb (hemoglobin) secara nyata (Eberechukwu dkk., 2007).

Kitosan



Gambar I.2 Struktur kitin dan kitosan (Khan et. al., 2002)

Kitosan merupakan polisakarida alami yang terdiri dari kopolimer glukosamin dan N-asetilglukosamin, dan dapat diperoleh dari deasetilasi kitin, yang umumnya berasal dari limbah kulit hewan *Crustacea* (Khan et. al., 2002). Kitosan memiliki sifat yang relatif lebih reaktif dari kitin. Kitin biopolimer alami terbesar ke dua yang dapat ditemukan di alam setelah selulosa. Kitin dapat diperoleh dari arthropoda, jamur, dan ragi (Fernandez-Kim, 2004), tetapi sumber komersial yang penting adalah eksoskeleton dari kepiting (Kim & Park, 2001).

Kitosan memiliki sifat antimikroba, karena dapat menghambat bakteri patogen dan mikroorganisme pembusuk, termasuk jamur, bakteri gram-positif, bakteri gram negatif (Hafdani, 2011). Senyawa kitosan yang berpotensi sebagai bahan antimikrobia bisa ditambahkan pada bahan makanan karena tidak berbahaya bagi manusia, selain itu penggunaan kitosan tidak menimbulkan perubahan warna dan aroma.

Pada manusia kitosan tidak dapat dicerna sehingga tidak punya nilai kalori dan langsung dikeluarkan oleh tubuh bersama feces. Kitosan memiliki sifat penghalang metabolisme sel membran bagian luar (Helander, 2001).

Berbagai hipotesa yang sampai saat ini masih berkembang mengenai mekanisme kerja kitosan sebagai antibakteri adalah sifat afinitas yang dimiliki oleh kitosan yang sangat kuat dengan DNA mikroba sehingga dapat berikatan dengan DNA yang kemudian mengganggu mRNA dan sintesa protein. Sifat afinitas antimikroba dari kitosan dalam melawan bakteri atau mikroorganisme tergantung dari berat molekul dan

derajat deasetilasi. Berat molekul dan derajat deasetilasi yang lebih besar menunjukkan aktifitas antimikroba yang lebih besar. Kitosan memiliki gugus fungsional amina ($-NH_2$) yang bermuatan positif yang sangat reaktif, sehingga mampu berikatan dengan dinding sel bakteri yang bermuatan negatif. Ikatan ini terjadi pada situs elektronegatif di permukaan dinding sel bakteri. Selain itu, karena $-NH_2$ juga memiliki pasangan elektron bebas, maka gugus ini dapat menarik mineral Ca^{2+} yang terdapat pada dinding sel bakteri dengan membentuk ikatan kovalen koordinasi. Dengan demikian kitosan dapat digunakan sebagai bahan antibakteri atau pengawet pada berbagai produk pangan karena aman tidak berbahaya dan harganya relatif murah (Killay, 2013).

C. Metode Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi susu kedelai, Kitosan (food grade yang diperoleh dari CV.Biochitosan), natrium benzoat, nutrisi agar (NA) bakteri *Esterichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Alat-alat yang digunakan meliputi blender, kain saring, timbangan analitik elektronik (Mettler Toledo), inkubator, *autoklaf*, *hotplate*, pengaduk magnet, spatel, batang pengaduk, vial, cawan petri dan alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium

Pengujian efektivitas pengawet ini dilakukan dengan metode angka lempeng total (alt) dan pengujian organoleptis pada hari pengujian ke 0,7,14, dan 21. Dengan sampel sebagai berikut:

- (1) susu kedelai tanpa pengawet;
- (2) susu kedelai + natrium benzoat 0,1%
- (3) susu kedelai + kitosan 0,5%;
- (4) susu kedelai + kitosan 1%; dan
- (5) susu kedelai + kitosan 1,5%

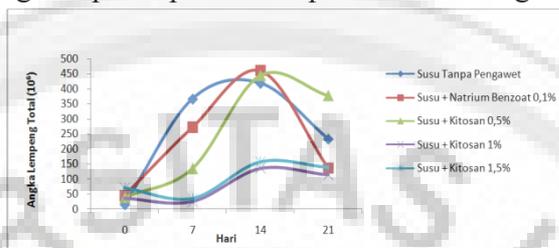
D. Hasil Penelitian

Dari hasil pengamatan organoleptis diperoleh hasil bahwa susu kedelai tanpa bahan pengawet dan susu kedelai dengan pengawet natrium benzoat 0,1% hanya dapat stabil kurang dari 7 hari. Karena pada pengamatan hari ke-7 sudah terjadi perubahan warna dan bau, serta sudah terjadi pemisahan atau pengendapan. Susu kedelai yang ditambahkan pengawet natrium benzoat juga pada pengamatan hari ke-7 sudah terjadi perubahan secara fisik. Hal ini diakibatkan natrium benzoat efektif digunakan pada pangan dengan pH lingkungan 2,5 – 4,0 (Winarno dan Fardiaz, 1980) dan menjadi kurang efektif apabila digunakan pada pH diatas 4,5 (Rahman, 2007).

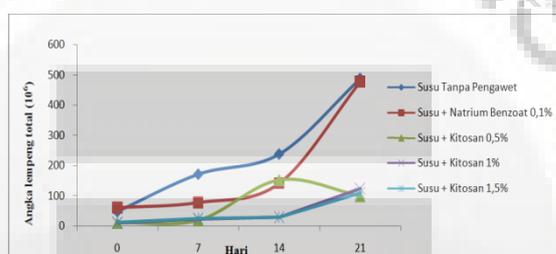
Sedangkan untuk susu kedelai dengan tambahan pengawet kitosan secara fisik lebih stabil dibandingkan dengan susu kedelai tanpa bahan pengawet ataupun susu kedelai dengan pengawet natrium benzoat. Hal ini terlihat dari warna dan tidak adanya pemisahan yang terjadi pada sampel sampai hari ke-14 yang dapat terlihat pada konsentrasi kitosan 1% dan 1,5%. Sedangkan pada konsentrasi 0,5% hanya stabil sampai hari ke-7. Dengan kata lain, kitosan ini mampu menstabilkan susu kedelai dan memperpanjang umur simpan susu kedelai sampai hari ke-14 dengan konsentrasi 1% dan 1,5%. Sedangkan pada hari ke-21 susu kedelai dengan pengawet kitosan sudah mengalami pemisahan dan perubahan warna. Akan tetapi apabila diamati bau dari susu kedelai yang ditambahkan pengawet kitosan, tercium bau sedikit asam yang ditimbulkan dari pelarut yang digunakan untuk melarutkan kitosan, yaitu asam asetat

2%. Juga pada kekentalan, susu kedelai yang ditambahkan kitosan memiliki tekstur sedikit lebih kental dari susu kedelai segar. Kekentalan tersebut diakibatkan oleh kitosan yang merupakan polisakarida yang dapat menjadi mucilago ketika dilarutkan.

Dari hasil pengujian efektifitas pengawet dengan metode Angka Lempeng Total diatas terlihat ada perbedaan jumlah angka lempeng total pada masing-masing sampel susu kedelai. Jumlah angka lempeng total susu kedelai tanpa bahan pengawet dan natrium benzoat lebih besar dibandingkan susu kedelai dengan pengawet kitosan baik pada bakteri *E. coli* maupun pada bakteri *S. aureus*. Pertumbuhan masing-masing bakteri pada masing-masing sampel dapat dilihat pada kurva sebagai berikut :



Gambar V.1 Kurva pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* pada masing-masing sampel



Gambar V.2 Kurva pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada masing-masing sampel

Apabila dilihat dari kurva diatas pertumbuhan bakteri baik pada bakteri *E.coli* maupun pada bakteri *S. aureus* untuk setiap sampel mengalami pertumbuhan. Akan tetapi pada sampel dengan bahan pengawet kitosan pada konsentrasi 1% dan 1,5% pertumbuhannya relatif lebih rendah apabila dibandingkan dengan susu kedelai tanpa bahan pengawet ataupun susu dengan pengawet natrium benzoat. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa kitosan mulai dari konsentrasi 1% dapat menekan pertumbuhan bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif.

Penafsiran hasil uji efektifitas pengawet berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi IV dinyatakan dalam persen. Suatu pengawet dinyatakan efektif dalam sampel uji, apabila jumlah viabel bakteri pada hari ke 14 berkurang hingga tidak lebih dari 0,1% dari jumlah awal. Dan jumlah tiap mikroba uji selama hari pengujian adalah tetap atau kurang dari bilangan yang disebutkan diatas. Berdasarkan Persen Perubahan jumlah angka lempeng total yang diperoleh dari pengujian dapat terlihat bahwa jumlah viabel bakteri setiap pengujiannya mengalami naik turun pada bakteri *E. coli* dan mengalami kenaikan pada bakteri *S. aureus*, tidak mengalami penurunan seperti yang dipersyaratkan pada Farmakope Indonesia Edisi IV. Adapun penurunan yang ditunjukkan pada tabel bakteri *E. coli* nilai penurunannya lebih besar dari 0,1% begitu pula dengan nilai kenaikannya yang dapat dikatakan lebih besar dari 0,1% pada hari ke 14 maupun pada hari ke-21. Sedangkan pada bakteri *S. aureus* angka lempeng total mengalami peningkatan hampir pada setiap hari pengujian dan peningkatannya pun lebih dari 0,1%. Dari data yang diperoleh, meskipun jumlah angka lempeng total untuk masing-masing bakteri pada sampel dengan pengawet kitosan relatif lebih rendah dari kitosan tanpa bahan pengawet, dapat diamati pertumbuhan bakteri pada sampel masih

ada dan relatif meningkat. Untuk itu, pada penelitian ini, berdasarkan persyaratan pada Farmakope Indonesia Edisi IV kitosan ini tidak efektif dijadikan sebagai pengawet pada susu kedelai.

E. Kesimpulan

Hasil uji efektifitas kitosan sebagai pengawet pada susu kedelai dapat disimpulkan bahwa kitosan mampu menekan pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta dapat memperpanjang umur simpan susu kedelai sampai dengan 14 hari pada konsentrasi 1% dan 1,5% yang disimpan pada suhu ruangan. Efektifitas kitosan sebagai pengawet juga lebih baik apabila dibandingkan dengan natrium benzoat 0,1% dalam menekan pertumbuhan bakteri pada susu kedelai. Namun berdasarkan persyaratan pada Farmakope Indonesia Edisi IV, kitosan tidak efektif digunakan sebagai pengawet pada susu kedelai karena penurunan atau peningkatan hambatan yang dihasilkan oleh kitosan lebih besar dari 0,1% pada setiap hari pengujian. Selain itu penambahan kitosan pada susu kedelai dapat mengakibatkan perubahan bau dan kekentalan pada susu kedelai.

Daftar Pustaka

- Branen, A.L., dan P.M., Davidson. (1983). *Antimicrobials in Food*, Marcell Dekker Inc, New York.
- Cahyadi, Wisnu. (2012). *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan* Ed.2, Bumi Aksara, Jakarta.
- Ditjen POM. (1995). *Farmakope Indonesia* Ed. IV, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Ebereschukwu, I.S., Amadikwa, U.A. dan Okechukwu, M.M. (2007). *Effect of oral intake of sodium benzoat on some haematological parameters of wistar albino rats*, Scientific Research and Essay 1.
- Fernandez-Kim, S.O. (2004). *Physicochemical And Functional Properties Of Crawfish Chitosan As Affected By Different Processing Protocols*, The Departement of Food Science, Seoul National University., Seul.
- Hafdani, F.N. and Sadeghinia. N. (2011). *A Review on Application of Chitosan as a Natural Antimicrobial*. World Academy of Science, Engineering and Technology, 50.
- Helander, E.-L., Nurmiaho-Lassila, Ahvenainen, R., Rhoades J. and Roller, S. (2001). *Chitosan Disrupts The Barrier Properties of The Outer Membrane of Gram-Negative Bacteria*. International Journal of Food Microbiology, 71.
- Kawitani, A. (2010). *Efek Pemberian Bahan Pengawet Natrium Benzoat Dosis 1000 mg Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (Mus Musculus)*. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jember.
- Kepala BPOM RI. (2013). *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 36 Tahun 2013*, Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta

- Khan W., Prithiviraj B. and Smith D. L. (2002). *Effect of Foliar Application of Chitin and Chitosan Oligosaccharide on Photosynthesis of Maize and Soybean*, *Photosynthetica*, 40.
- Killay, Amos. (2013) *Kitosan sebagai Antibakteri pada Bahan Pangan yang Aman dan Tidak Berbahaya (review)*, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Pattimura, Maluku.
- Kim, S. D., and Park-Yonn, B. (2001). "Effect on The Removal of Pb^{+2} from Aqueous Solution by Crab Shell". *J. Of Chem. Tech and Biotech.* 76:1179.
- Pujihastuti, D.R. (2007). *Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat Terhadap Umur Simpan Minuman Beraroma Apel*, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Rahman, M.S. (2007). *Handbook of Food Preservation 2nd Edition*. CRC Press, New York.
- Subroto MA. (2009). *REAL FOOD TRUE HEALTH Makanan Sehat Untuk Hidup Lebih Sehat*, AgroMedia, Surabaya
- Wardaniati RA, Setyaningsih S. (2006). *Pembuatan Chitosan Dari Kulit Udang dan Aplikasinya untuk Pengawetan Bakso*, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Winarno, F.G., S. Fardiaz dan D. Fardiaz. (1980). *Pengantar Teknologi Pangan*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.