

BAB I

PENDAHULUAN UMUM

1.1 Latar Belakang

Limbah merupakan salah satu penyebab utama polusi yang memiliki dampak serius terhadap lingkungan, terutama di wilayah perkotaan. Bertambahnya jumlah limbah yang tidak diimbangi dengan pengelolaan yang sesuai, akan menyebabkan terjadinya berbagai kerusakan serta pencemaran lingkungan. Limbah sangat berpotensi menimbulkan pencemaran lingkungan, baik berupa pencemaran air, tanah dan udara serta dapat menimbulkan berbagai gangguan bagi kesehatan.

Jenis limbah yang banyak dihasilkan namun tidak terkelola dengan baik yaitu jenis limbah yang berbahan plastik (Nadjib, 2022). Berdasarkan Laporan Sistem Informasi Pengelolaan Sampah Nasional (SIPSN), pada tahun 2023 perolehan sampah di Indonesia mencapai 69,9 juta ton. Berdasarkan jumlah tersebut, sampah plastik menyumbang sekitar 18,71% atau sekitar 13,1 juta ton. Penggunaan polimer plastik justru mempunyai dampak negatif bagi lingkungan. Plastik memiliki sifat yang tidak mudah untuk didegradasi meskipun telah ditimbun puluhan tahun. Akibatnya dapat terjadi penumpukan limbah plastik yang menjadi salah satu penyebab pencemaran lingkungan (Siregar dan Irma, 2012). Penggunaan plastik sebagai kemasan makanan juga menyebabkan terjadinya transfer senyawa dari hasil degradasi polimer, residu pelarut, dan biopolimerisasi ke bahan pangan sehingga menimbulkan resiko toksik. Zat kimia yang terdapat pada plastik adalah bisfenol A dan ftalat yang dapat menyebabkan efek kesehatan yang merugikan (Wan, et al., 2022).

Upaya untuk menangani pengurangan limbah plastik yang umumnya digunakan sebagai kemasan makanan yaitu dengan mengembangkan plastik *biodegradable* dalam bentuk *edible film*. Jenis kemasan makanan yang terbuat dari *edible film* dapat diuraikan kembali oleh mikroorganisme secara alami menjadi senyawa yang ramah lingkungan. Pengembangan *edible film* pada kemasan makanan dapat memberikan kualitas produk yang lebih baik, karena terbuat dari bahan alami yang tidak beracun sehingga dapat langsung dimakan dan tidak mudah terkena kontaminasi terhadap makanan (Jumadewi et al., 2019).

Edible film merupakan bahan kemasan tipis yang terbuat dari bahan yang bersifat hidrokoloid dari protein maupun karbohidrat serta lemak atau campurannya (Asmudrono et al., 2018). *Edible film* dapat memberikan efek pengawetan karena dapat memberi perlindungan terhadap oksigen, mengurangi penguapan air serta dapat digunakan sebagai pembawa aktivitas senyawa antimikroba seperti antjamur dan antibakteri yang diperoleh dari bahan yang

digunakan pada pembuatan *edible film*. Kelebihan *edible film* sebagai pengemas makanan juga dapat melindungi produk dari pengaruh lingkungan serta kontaminan, aman untuk dikonsumsi, praktis dan bersifat *biodegradable* sehingga bahan tersebut dapat berkontribusi untuk mengurangi pencemaran lingkungan akibat limbah kemasan plastik sintetik (Boutoom, 2008).

Penelitian mengenai *edible film* telah melibatkan berbagai jenis bahan utama, terutama dalam upaya mengembangkan bahan yang ramah lingkungan yang terdiri atas polimer alami, seperti protein, polisakarida, lemak, dan komposit. (Boutoom, 2008). Bahan yang sering dijadikan sebagai bahan utama pembuatan *edible film* adalah selulosa, ekstrak rumput laut, pati dan kitosan (Krochta dan Mulder-Johnson, 1997). Salah satu contoh bahan baku alami yang dapat dimanfaatkan sebagai *edible film* adalah rumput laut (Fardhayanti dan Syara. 2016). Rumput laut memiliki kandungan air, protein, karbohidrat, lemak, serat, dan abu. Rumput laut juga mengandung enzim, asam amino, vitamin dan mineral (Yustinah et al. 2019).

Rumput laut jenis *Sargassum* sp. merupakan salah satu jenis rumput laut yang melimpah di Indonesia (Tangko, 2008). Produksi rumput laut *Sargassum* sp. pada tahun 2019 dari hasil budidaya mampu diekspor sekitar 2.082,76 ton (Wulandari, 2022). Melimpahnya produksi rumput laut *Sargassum* sp. di Indonesia mendorong peneliti untuk memanfaatkan rumput laut tersebut menjadi bahan utama untuk pembuatan *edible film* sebagai upaya mengoptimalkan potensi rumput laut Indonesia khususnya provinsi Sulawesi Selatan.

Biomassa rumput laut *Sargassum* sp. mengandung $\pm 30\%$ selulosa. Selulosa *Sargassum* sp. termasuk biomassa dari polisakarida rantai linear yang dimanfaatkan secara luas, diantaranya untuk industri kertas, *film* fotografi, sinar-X, plastik *biodegradable* dan membran yang digunakan pada bidang industri lainnya (Rahmi et al, 2020). Selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. memiliki sifat yang mudah terurai di alam dan termasuk sumber terbarukan sehingga sangat sesuai untuk dijadikan sebagai bahan utama dari pembuatan *edible film* (Jellyne et al., 2014).

Pengujian kadar lignoselulosa diperlukan untuk memastikan kualitas bahan baku dalam isolasi selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. yang akan digunakan dalam pembuatan *edible film*. Selulosa merupakan komponen utama lignoselulosa yang berperan sebagai matriks utama dalam formulasi *edible film* karena sifatnya yang *biodegradable*, transparan, dan memiliki kekuatan mekanis tinggi. Metode van soest digunakan untuk memisahkan lignin, hemiselulosa, dan selulosa secara akurat, sehingga menghasilkan data kuantitatif yang mendukung optimasi proses isolasi selulosa. Data ini memastikan bahwa kandungan selulosa memenuhi kriteria bahan baku yang diperlukan serta meminimalkan pengaruh lignin dan hemiselulosa yang dapat menurunkan kualitas *edible film*. Dengan demikian, pengujian kadar lignoselulosa menjadi dasar penting dalam

pengembangan *edible film* berbasis selulosa dari *Sargassum* sp. sebagai alternatif kemasan ramah lingkungan.

Pembuatan *edible film* memerlukan bahan tambahan untuk meningkatkan elastisitas serta ketahanan terhadap mikroorganisme, air, kerusakan mekanis, dan transmisi gas. Bahan seperti kitosan umumnya digunakan sebagai bahan tambahan pada pembuatan *edible film* karena bahan tersebut kuat, fleksibilitas yang signifikan dan sulit untuk robek (Murni et al., 2015). Ketika direndam dalam air, *film* kitosan akan menjadi kenyal tetapi tetap kuat (Butler et al., 1996). Selain itu, *film* dari kitosan memiliki sifat transmisi uap air dan permeabilitas yang rendah terhadap oksigen sehingga sifat mekaniknya sebanding dengan plastik komersial (Kittur et al., 1998). Struktur kitosan juga memiliki muatan positif pada gugus amina, sehingga dapat berikatan dengan minyak dan lemak. Hal ini menjadikan kitosan berpotensi sebagai bahan dalam pembuatan kemasan makanan yang ramah lingkungan (Bajpai, 2019).

Penambahan *plasticizer* pada pembuatan *edible film* juga sangat penting untuk lebih meningkatkan fleksibilitas dan elastisitas pada *edible film*. Gliserol merupakan salah satu *plasticizer* yang paling sering digunakan dalam pembuatan *edible film* (Aripin et al., 2017). Gliserol efektif untuk digunakan pada *edible film* karena memiliki kemampuan untuk mengurangi ikatan hidrogen internal pada ikatan intramolekuler. Gliserol juga mampu berinteraksi dengan molekul amilopektin dan memiliki berat molekul rendah (Anggarini et al., 2013).

Aktivitas senyawa yang terkandung pada bahan pembuatan *edible film* sangat penting untuk diidentifikasi. Pengujian aktivitas senyawa antimikroba seperti antijamur dan antibakteri merupakan tahap penting dalam pengembangan *edible film* (Sutra et al., 2020). Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa *edible film* tersebut dapat memberikan perlindungan terhadap oksidasi dan pertumbuhan bakteri patogen pada makanan. Pengujian aktivitas senyawa antimikroba juga dapat meningkatkan keamanan dan daya simpan pada produk pangan yang dikemas dengan *edible film* (Fatisa dan Nadya, 2018).

Uji aktivitas antijamur bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan *film* dalam mencegah pertumbuhan jamur atau menghambat aktivitas mikroorganisme yang dapat merusak produk pangan yang dilapisi oleh *edible film* tersebut (Torrijos et al., 2022). Mekanisme kerja antijamur terdiri atas penghambatan pertumbuhan mikroba, perusakan dinding sel, interaksi dengan antijamur lain, pengaruh pada mitokondria dan memiliki pengaruh terhadap metabolisme lipid (Silva et al., 2023). Bahan *edible film* yang digunakan seperti kitosan memungkinkan sebagai sumber antijamur karena memiliki kemampuan untuk menghambat peroksidasi lemak dan dapat mengurangi beberapa efek dari radikal bebas (Pakidi dan Hidayat, 2017).

Aktivitas antijamur pada kitosan telah diuji pada beberapa penelitian, dimana kitosan memiliki aktivitas antijamur yang kuat dan dapat menjadi solusi yang efektif dalam mencegah pertumbuhan jamur (Torrijos et al., 2022). Struktur

kitosan yang memiliki gugus amino (NH_2) dan gugus hidroksil (OH) memberikan sifat yang dapat berinteraksi dengan membran sel jamur, mengganggu integritasnya dan menghambat pertumbuhan jamur. (Feng et al., 2023). Kitosan juga memiliki aktivitas antijamur karena sifat polikationiknya, yang memungkinkan kitosan berinteraksi dengan membran sel jamur. Interaksi ini dapat mengganggu integritas membran sel jamur, menghambat pertumbuhan dan reproduksi jamur (Karkhane et al., 2020).

Selain memiliki aktivitas antijamur, kitosan juga mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri. Gugus amino pada kitosan berinteraksi dengan membran sel bakteri yang bermuatan negatif, merusak integritas membran, dan meningkatkan permeabilitasnya, yang menyebabkan kebocoran komponen intraseluler (Ahmed et al., 2022). Selain itu, kitosan menghambat metabolisme bakteri dengan mengikat molekul penting seperti protein dan DNA. Pada *S. aureus*, kitosan mengikat peptidoglikan pada dinding sel, sedangkan pada *E. coli*, kitosan merusak membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS), mengarah pada disintegrasi sel. Kombinasi mekanisme ini menjadikan kitosan efektif melawan kedua jenis bakteri tersebut (Putri et al., 2023). Adanya aktivitas senyawa antimikroba seperti antijamur dan antibakteri membuat *edible film* sangat efektif untuk dimanfaatkan sebagai kemasan makanan pada berbagai industri pangan.

Pemanfaatan *edible film* pada industri pangan biasanya dibuat sebagai pembungkus makanan. Salah satu jenis makanan yang dapat diaplikasikan pada *edible film* yaitu wajik yang merupakan makanan khas Sulawesi Selatan. Umumnya, wajik dikemas dengan menggunakan daun pisang kering, plastik, dan kulit jagung. Penggunaan *edible film* sebagai kemasan makanan yang diaplikasikan pada wajik merujuk pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Ramdhani et al. (2022) tentang pembuatan *edible film* berbahan pati kentang dengan pengaplikasian pada dodol. Tujuan dilakukan penelitian tersebut untuk membuat kemasan yang ramah lingkungan serta meningkatkan umur simpan pada dodol.

Berdasarkan uraian di atas dan mempertimbangkan aspek kimia yang memanfaatkan sumber daya alam untuk pengelolaan limbah, penelitian ini mengisolasi sumber daya alam seperti rumput laut menjadi selulosa yang dijadikan sebagai bahan utama pembuatan *edible film* sebagai kemasan makanan yang ramah lingkungan yang bersifat antimikroba. Oleh karena itu, penjelasan mengenai isolasi selulosa menggunakan rumput laut *Sargassum* sp. dan uji kadar lignoselulosa dengan metode van soest, karakterisasi *edible film* sebagai kemasan makanan dan aplikasinya sebagai antimikroba serta uji organoleptik dengan menggunakan metode hedonik dibahas berikut ini.

1.1.1 Isolasi Selulosa dari Rumput Laut *Sargassum* sp. dan Uji Kadar Lignoselulosa dengan Menggunakan Metode Van Soest

Selulosa merupakan salah satu komponen utama dalam dinding sel alga coklat, termasuk *Sargassum* sp., yang memiliki peran penting dalam menjaga struktur dan kekuatan mekanik dinding sel (Afeeza & Dilipan, 2024). *Sargassum* sp. merupakan jenis rumput laut yang melimpah dan berpotensi besar sebagai sumber biomaterial terbarukan (Jumadi et al., 2023). Kandungan polisakarida yang tinggi, terutama selulosa, menjadikannya bahan baku yang potensial untuk berbagai aplikasi berbasis bioteknologi. Namun, proses pemurnian diperlukan untuk memisahkan selulosa dari senyawa-senyawa lain seperti hemiselulosa, lignin, dan pigmen warna alami, sehingga diperoleh selulosa dengan tingkat kemurnian tinggi (Paletta et al., 2025).

Proses isolasi selulosa dari *Sargassum* sp. dilakukan melalui beberapa tahapan utama, yaitu hidrolisis, delignifikasi, dan pemutihan (*bleaching*) (Wang et al., 2025). Hidrolisis menggunakan larutan asam nitrat (HNO_3) bertujuan untuk memecah hemiselulosa menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, sehingga memudahkan pemisahan senyawa non-selulosa dari matriks lignoselulosa (Cui et al., 2024). Proses ini juga berperan dalam melarutkan sebagian lignin yang dapat larut dalam kondisi asam. Setelah hidrolisis, proses delignifikasi dilakukan menggunakan larutan basa, seperti natrium hidroksida (NaOH). Tahap ini bertujuan untuk melarutkan lignin, yaitu polimer kompleks yang bersifat hidrofobik dan tidak larut dalam air, sehingga kandungannya dalam bahan dapat diminimalkan (Zhuo et al., 2024). Langkah terakhir adalah pemutihan menggunakan larutan hidrogen peroksida (H_2O_2), yang berfungsi untuk menghilangkan sisa lignin dan pigmen warna alami yang masih tersisa setelah proses delignifikasi. Proses *bleaching* juga mampu untuk meningkatkan kemurnian dan warna putih dari selulosa tanpa merusak struktur dasar dari selulosa (Altwala & Jabli, 2025).

Berbagai penelitian sebelumnya telah mengkaji proses isolasi selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. dengan menggunakan metode kimia yang meliputi hidrolisis asam, delignifikasi basa, dan pemutihan dengan agen oksidasi. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kadar selulosa yang dihasilkan sangat bergantung pada metode serta kondisi perlakuan yang digunakan, sehingga pengoptimalan proses sangat diperlukan untuk mendapatkan selulosa dengan tingkat kemurnian tinggi. Beberapa hasil penelitian tentang isolasi selulosa rumput laut *Sargassum* sp. dapat dilihat pada Table 1.1.

Tabel 1.1 Penelitian terdahulu mengenai isolasi selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp.

Peneliti	Tahun	Metode Isolasi	Kadar Selulosa (%)	Catatan
Kumari et al.	2020	Hidrolisis H_2SO_4 dan delignifikasi NaOH	27,5	Menggunakan <i>pretreatment</i> asam dilanjutkan dengan delignifikasi alkali.
Rahman et al.	2022	Delignifikasi NaOH dan <i>bleaching</i> H_2O_2	30,2	Selulosa diperoleh dengan tingkat kemurnian tinggi setelah pemutihan.
Ismail et al.	2021	Delignifikasi NaOH dan pemutihan NaClO_2	28,7	Konsentrasi basa dan agen pemutih memengaruhi hasil akhir kadar selulosa.
Martinez et al.	2023	Kombinasi NaOH, H_2O_2 , dan asam oksalat	32	Teknik kombinasi meningkatkan efisiensi penghilangan lignin dan hemiselulosa.
Putri et al.	2020	Hidrolisis HNO_3 dan delignifikasi NaOH	26,8	Kadar selulosa bervariasi tergantung pada kondisi hidrolisis awal.

Tabel 1.1 menunjukkan bahwa metode kombinasi bahan kimia, seperti penggunaan asam kuat, basa, dan agen pemutih, berperan penting dalam meningkatkan efisiensi isolasi selulosa dari *Sargassum* sp.. Penelitian-penelitian ini juga menyoroti pengaruh parameter proses, seperti konsentrasi larutan kimia, suhu, dan waktu perlakuan, terhadap hasil kadar selulosa yang diperoleh. Data ini menjadi dasar untuk pengembangan lebih lanjut dalam mengoptimalkan metode isolasi selulosa yang lebih efektif dan ramah lingkungan.

Untuk mengevaluasi kandungan lignoselulosa pada bahan mentah seperti *Sargassum* sp., metode van soest sering digunakan. Metode ini melibatkan analisis fraksi lignoselulosa yang terdiri atas *Neutral Detergent Fiber* (NDF), *Acid Detergent Fiber* (ADF), dan *Acid Detergent Lignin* (ADL) (Qu et al., 2022). NDF mengukur total serat kasar yang mencakup hemiselulosa, selulosa, dan lignin, sementara ADF digunakan untuk menentukan kandungan selulosa dan lignin setelah hemiselulosa terlarut dalam deterjen asam (Rusdin et al., 2024). ADL mengukur kandungan lignin setelah selulosa dilarutkan dalam asam kuat (Qu et al., 2022). Analisis ini penting untuk menentukan efisiensi proses isolasi dengan membandingkan kandungan lignoselulosa sebelum dan sesudah perlakuan

kimia, sehingga dapat memastikan keberhasilan pemisahan lignin dan hemiselulosa dari matriks selulosa (Rusdin et al., 2024).

1.1.2 Formulasi dan Karakterisasi *Edible film* Berbasis Selulosa Rumput Laut *Sargassum* sp. dengan Fortifikasi Kitosan sebagai Kemasan Makanan yang Ramah Lingkungan

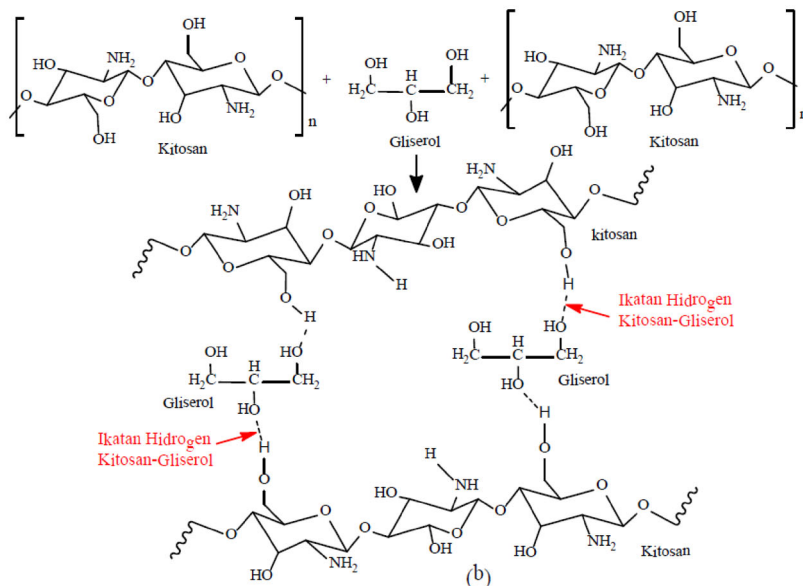
Edible film merupakan lapisan tipis yang dapat dimakan, terbuat dari bahan-bahan alami seperti polisakarida, protein, atau lipid, yang digunakan untuk meningkatkan kualitas, keamanan, dan umur simpan produk pangan (Farahani et al., 2025). Formulasi *edible film* melibatkan pemilihan bahan dasar, plasticizer, dan senyawa tambahan lainnya seperti antimikroba atau antioksidan (Yuan et al., 2022). Penambahan bahan-bahan ini bertujuan untuk meningkatkan karakteristik film, seperti kekuatan mekanik, kemampuan penghalang terhadap uap air, dan aktivitas antimikroba (Dick et al., 2015). Komposisi bahan serta metode pembuatan sangat memengaruhi sifat fisik dan fungsional film (Chen et al., 2025).

Salah satu bahan yang banyak digunakan dalam formulasi *edible film* adalah kitosan, yang diperoleh melalui proses deasetilasi kitin dari limbah perikanan seperti cangkang udang dan kepiting (Chen et al., 2025). Penambahan kitosan dalam formulasi *edible film* dilakukan karena memiliki sifat fungsional yang unggul (Elsherif et al., 2024). Kitosan bersifat antimikroba, yang disebabkan oleh interaksi antara gugus amina bermuatan positif pada kitosan dengan membran mikroorganisme bermuatan negatif, sehingga menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Fang et al., 2025). Selain itu, kitosan memiliki sifat biodegradabilitas yang tinggi, sehingga ramah lingkungan dan dapat terurai secara alami tanpa meninggalkan residu berbahaya (Elsherif et al., 2024).

Kitosan juga memiliki kemampuan sebagai penghalang terhadap uap air dan gas, yang penting untuk memperlambat proses oksidasi dan menjaga kelembapan produk pangan (Fang et al., 2025). Sifat mekanik *edible film*, seperti kuat tarik dan elongasi, juga meningkat dengan adanya kitosan, karena interaksinya dengan bahan pembentuk film lainnya menghasilkan struktur matriks yang lebih kuat dan elastis (Elsherif et al., 2024). Secara kimia, kitosan mudah berinteraksi dengan bahan lain seperti polisakarida atau protein melalui pembentukan ikatan hidrogen dan interaksi elektrostatis, sehingga menghasilkan matriks film yang homogen (Fang et al., 2025).

Gliserol merupakan komponen penting dalam pembuatan *edible film* berbasis kitosan dan selulosa karena berfungsi sebagai plasticizer, yaitu senyawa yang meningkatkan fleksibilitas dan elastisitas film dengan mengurangi kekakuan matriks polimer (Asfaw et al., 2023; Tabatabaei et al., 2022). Tanpa plasticizer, film yang dihasilkan cenderung kaku dan rapuh akibat kuatnya ikatan antarmolekul dalam struktur polimer. Penambahan gliserol memungkinkan terbentuknya ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil pada kitosan dan selulosa,

yang berperan dalam meningkatkan kelenturan film serta meminimalkan risiko retak atau pecah. Adapun reaksi yang terjadi dalam interaksi antara selulosa, kitosan, dan gliserol dapat diamati pada Gambar 1.1.



Gambar 1.1 Interaksi antara Selulosa, Kitosan dan Gliserol
(Zaeni & Hidayat, 2021)

Berdasarkan Gambar 1.1 menunjukkan interaksi antara selulosa, gliserol, dan kitosan melalui pembentukan ikatan hidrogen. Kitosan, sebagai polimer turunan kitin, memiliki gugus amina (-NH₂) dan hidroksil (-OH) yang memungkinkan terbentuknya interaksi dengan gliserol dan selulosa. Gliserol, yang bertindak sebagai plasticizer, memiliki tiga gugus hidroksil yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan kitosan dan selulosa, sehingga meningkatkan fleksibilitas dan homogenitas struktur film yang dihasilkan (Zaeni & Hidayat, 2021). Dalam Gambar 1.1 ini, garis putus-putus menunjukkan ikatan hidrogen antara kitosan dan gliserol, sebagaimana ditandai dalam keterangan berwarna merah. Selain itu, selulosa juga berperan dalam membentuk jaringan polimer yang lebih stabil melalui interaksi serupa dengan kitosan dan gliserol.

Interaksi hidrogen ini sangat penting dalam menentukan sifat mekanik, ketahanan air, dan permeabilitas uap air dari film yang dihasilkan (Yuan et al., 2022). Studi sebelumnya menunjukkan bahwa semakin banyak ikatan hidrogen yang terbentuk, semakin baik kohesi dalam matriks polimer, yang berdampak pada peningkatan sifat mekanik dan stabilitas struktural film biodegradable (Zaeni & Hidayat, 2021).

Penggunaan gliserol harus dikontrol dengan baik meskipun senyawa ini meningkatkan fleksibilitas film (Yuan et al., 2022). Konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan peningkatan kelembaban dan permeabilitas uap air, sehingga menurunkan ketahanan film terhadap air serta mempengaruhi kestabilannya selama penyimpanan (Zaeni & Hidayat, 2021). Optimasi jumlah gliserol dalam formulasi film diperlukan untuk memperoleh keseimbangan antara fleksibilitas dan ketahanan air (Yuan et al., 2022).

Karakterisasi *edible film* dilakukan untuk memastikan kinerja dan kualitasnya sesuai dengan kebutuhan pengemasan pangan. Pengujian ketebalan dilakukan untuk mengetahui keseragaman film, yang dapat memengaruhi sifat mekanik dan kemampuan penghalangnya (Tabatabaei et al., 2022). Uji kelarutan bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan film larut dalam air, terutama dalam aplikasi pada makanan dengan kadar air tinggi. Kuat tarik dan elongasi diuji untuk menilai kekuatan mekanik dan fleksibilitas film menggunakan alat uji tarik sesuai standar ASTM. Laju transmisi uap air (LTUA) diukur untuk mengevaluasi kemampuan film dalam menghalangi perpindahan uap air, yang penting dalam mempertahankan kelembapan produk. Beberapa hasil penelitian tentang karakterisasi *edible film* dapat dilihat pada Table 1.2.

Tabel 1.2 Penelitian terdahulu mengenai karakterisasi *edible film*.

Peneliti	Bahan Utama	Ketebalan (mm)	Kelarutan (%)	Kuat Tarik (MPa)	Elongasi (%)	Laju Transmisi Uap Air (g/m ² ·hari)
Aisyah et al. (2020)	Gelatin dan kitosan	0,07 ± 0,02	68,5 ± 1,2	25,3 ± 2,1	30,4 ± 2,8	10,2 ± 0,8
Putri et al. (2019)	Pati singkong dan kitosan	0,10 ± 0,01	72,1 ± 1,5	20,8 ± 1,6	25,7 ± 1,5	12,5 ± 1,0
Rahman et al. (2021)	Pati jagung dan kitosan	0,08 ± 0,01	75,3 ± 2,0	23,5 ± 1,9	32,8 ± 3,1	11,8 ± 0,9
Dewi et al. (2022)	Gelatin dan karaginan	0,12 ± 0,03	65,4 ± 1,8	22,1 ± 2,3	28,9 ± 2,6	9,7 ± 0,7
Santoso et al. (2023)	Selulosa dari <i>Sargassum</i> sp.	0,09 ± 0,01	70,2 ± 1,4	24,7 ± 2,2	29,5 ± 2,4	11,3 ± 0,6

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi kitosan dengan bahan pembentuk film lainnya memberikan kontribusi signifikan terhadap sifat mekanik dan penghalang film. Kitosan, yang memiliki sifat antimikroba dan kompatibilitas yang baik dengan berbagai bahan, membantu meningkatkan kuat tarik, elongasi, dan sifat penghalang *edible film* (Elsherif et al., 2024). Hal ini menjadikan kitosan sebagai bahan tambahan yang potensial untuk pengembangan kemasan pangan berbasis *edible film*.

Analisis menggunakan Fourier Transform Infrared (FT-IR) dilakukan untuk mengidentifikasi interaksi kimia antara bahan pembentuk film. Spektrum FT-IR memberikan informasi tentang gugus fungsi dan pembentukan ikatan hidrogen yang memengaruhi sifat mekanik dan penghalang film. Analisis permukaan dilakukan menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM) untuk mengamati struktur morfologi film pada tingkat mikroskopis. Observasi ini memberikan informasi tentang distribusi kitosan dalam matriks film serta homogenitas permukaan.

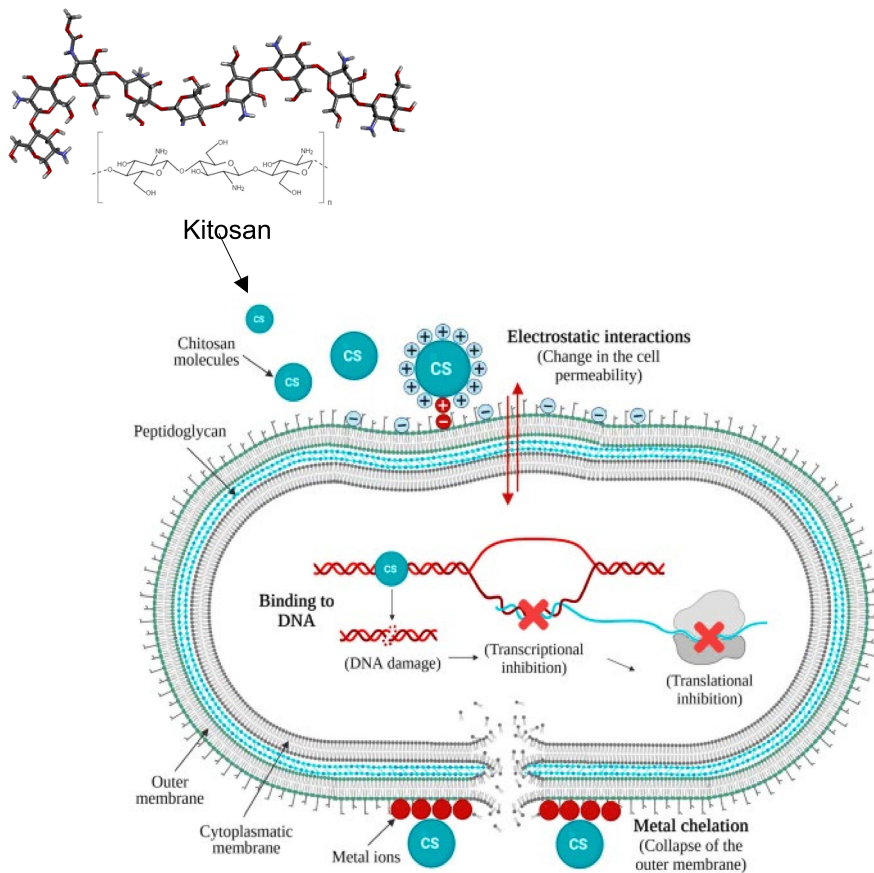
1.1.3 Potensi Aktivitas Antimikroba Terhadap *Edible film* sebagai Kemasan Makanan pada Wajik

Edible film merupakan salah satu inovasi dalam bidang kemasan pangan yang terus berkembang (Pawle et al., 2025). *Edible film* didefinisikan sebagai lapisan tipis yang dapat dimakan dan berfungsi sebagai penghalang fisik antara produk pangan dengan lingkungan sekitarnya (Lindi et al., 2024). Fungsi utama *edible film* adalah melindungi makanan dari kerusakan akibat faktor eksternal seperti mikroorganisme, oksigen, uap air, dan cahaya (Fang et al., 2025). Salah satu tantangan utama dalam pengemasan makanan tradisional seperti wajik adalah mempertahankan kualitas dan memperpanjang umur simpannya, terutama karena kandungan gula dan air dalam wajik yang rentan terhadap pertumbuhan mikroba (Pawle et al., 2025).

Edible film dengan aktivitas antimikroba telah menunjukkan potensi besar dalam melindungi pangan dari kontaminasi mikroba (Lindi et al., 2024). Penambahan senyawa antimikroba ke dalam matriks *edible film* dapat menghambat pertumbuhan bakteri, jamur, dan mikroorganisme lainnya pada permukaan pangan (Pawle et al., 2025). Beberapa senyawa antimikroba yang umum digunakan dalam *edible film* antara lain kitosan, minyak atsiri, dan asam organik. Kitosan merupakan biopolimer yang bersifat antimikroba alami (Fang et al., 2025). Aktivitas antimikroba kitosan berasal dari interaksi gugus amina pada kitosan dengan membran sel mikroba, yang menyebabkan kerusakan sel mikroba (Lindi et al., 2024).

Penambahan kitosan ke dalam *edible film* tidak hanya meningkatkan sifat mekaniknya, tetapi juga memberikan perlindungan terhadap mikroorganisme patogen seperti *E. coli* dan *S. aureus* (Pawle et al., 2025). Kitosan dan turunannya memiliki aktivitas antimikroba yang efektif terhadap bakteri gram-

negatif dan gram-positif, jamur berfilamen, serta ragi, namun menunjukkan tingkat toksisitas yang lebih rendah terhadap sel mamalia (Lindi et al., 2024). Karakteristik ini menjadikan kitosan sebagai bahan yang menarik untuk aplikasi medis, khususnya dalam desain pelapis permukaan dengan sifat antimikroba (Pawle et al., 2025). Meskipun mekanisme kerja kitosan belum sepenuhnya dipahami, terdapat tiga mekanisme utama yang diusulkan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri, yaitu gangguan muatan pada dinding sel, khelasi logam, dan kompleksasi dengan DNA (Teixeira-Santos et al., 2021). Adapun gambaran mengenai mekanisme kerja kitosan terhadap antimikroba dapat dilihat pada Gambar 1.1.



Gambar 1.2 Mekanisme Kitosan sebagai Antimikroba
(Teixeira-Santos et al., 2021)

Berdasarkan Gambar 1.2 mekanisme antimikroba kitosan terhadap mikroorganisme terjadi melalui beberapa tahapan utama, yang dimulai dengan

interaksi elektrostatis antara kitosan bermuatan positif dan membran sel mikroba yang bermuatan negatif. Proses ini menyebabkan gangguan struktur membran, peningkatan permeabilitas, serta kebocoran ion dan komponen intraseluler seperti protein dan nukleotida (Yilmaz Atay, 2020). Kehilangan komponen esensial ini mengganggu keseimbangan osmotik dan metabolisme sel, yang berujung pada kematian mikroorganisme (Teixeira-Santos et al., 2021).

Setelah merusak membran, kitosan dapat menembus sel dan berinteraksi dengan berbagai target intraseluler. Pada bakteri, kitosan berikatan dengan DNA, menghambat transkripsi dan translasi, sehingga sintesis protein esensial terganggu (Yilmaz Atay, 2020). Tanpa adanya protein yang diperlukan untuk pertumbuhan dan metabolisme, sel akan mengalami stres fisiologis dan akhirnya mati (Teixeira-Santos et al., 2021).

Struktur dinding sel *E. coli* terdiri dari lapisan lipopolisakarida (LPS) bermuatan negatif yang berperan dalam interaksi awal dengan kitosan. Proses ini mengganggu permeabilitas membran, yang mengakibatkan kebocoran ion dan komponen esensial seperti protein serta nukleotida (Yilmaz Atay, 2020). Kehilangan komponen intraseluler menyebabkan ketidakseimbangan osmotik dan gangguan metabolisme yang berujung pada kematian bakteri (Teixeira-Santos et al., 2021).

Dinding sel *S. aureus* tersusun atas lapisan peptidoglikan tebal yang memberikan perlindungan lebih dibandingkan *E. coli*. Mekanisme kerja kitosan terhadap bakteri ini melibatkan penetrasi ke dalam sel dan interaksi langsung dengan DNA (Yilmaz Atay, 2020). Pengikatan kitosan pada DNA menghambat transkripsi dan translasi, yang berakibat pada terganggunya sintesis protein esensial. Gangguan dalam sintesis protein menyebabkan terhentinya metabolisme sel dan berujung pada kematian bakteri (Teixeira-Santos et al., 2021).

Dinding sel *A. flavus* mengandung polisakarida utama seperti kitin dan β -glukan yang berperan dalam menjaga stabilitas struktural sel jamur. Interaksi kitosan dengan polisakarida ini menghambat sintesis serta stabilitas dinding sel, yang menyebabkan gangguan pada pembentukan miselium dan proses sporulasi (Yilmaz Atay, 2020). Kitosan juga menembus sel jamur dan berikatan dengan DNA, sehingga menghambat transkripsi genetik yang diperlukan untuk replikasi dan pertumbuhan. Kemampuan kitosan dalam mengkelasi ion logam penting seperti Ca^{2+} dan Mg^{2+} turut berkontribusi terhadap gangguan stabilitas membran sel, yang berujung pada lisis mikroorganisme (Teixeira-Santos et al., 2021).

Efektivitas kitosan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme bergantung pada jenis targetnya. Gangguan permeabilitas membran dan khelasi ion logam menjadi mekanisme utama pada *E. coli*. Penghambatan transkripsi dan translasi protein lebih dominan pada *S. aureus*, sedangkan interaksi dengan dinding sel dan gangguan sintesis kitin menjadi faktor utama dalam penghambatan pertumbuhan *A. flavus*. Kombinasi dari berbagai mekanisme ini

menjadikan kitosan sebagai agen antimikroba alami yang potensial (Yilmaz Atay, 2020).

Aplikasi kitosan sebagai agen antimikroba diterapkan dalam *edible film* untuk kemasan pangan. Wajik, makanan berbasis beras ketan dan gula kelapa atau gula aren, rentan terhadap kontaminasi mikroba akibat kadar gula yang tinggi. *Edible film* berbasis kitosan berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan mikroorganisme, memperpanjang umur simpan, dan meningkatkan keamanan pangan. Aktivitas antimikroba *edible film* efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur seperti *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp., yang sering ditemukan pada makanan dengan kadar gula tinggi. Sifat penghalang *edible film* juga membantu melindungi wajik dari kelembapan berlebih yang dapat mempercepat degradasi produk.

Beberapa parameter karakterisasi penting perlu diperhatikan dalam pengembangan *edible film*, antara lain sifat mekanik, permeabilitas uap air, efektivitas antimikroba, dan biodegradasi. Ketahanan tarik dan elongasi menentukan kemampuan *edible film* dalam melindungi pangan selama penyimpanan. Permeabilitas uap air mempengaruhi kestabilan produk, terutama makanan higroskopis seperti wajik. Efektivitas antimikroba *edible film* diuji terhadap mikroorganisme target menggunakan metode zona hambat atau *agar diffusion method*. Selain itu, *edible film* harus mudah terurai secara alami agar tidak meninggalkan limbah non-biodegradable.

Penggunaan *edible film* dengan aktivitas antimikroba sebagai kemasan pangan pada wajik berpotensi meningkatkan kualitas, keamanan, dan umur simpan produk. Penambahan senyawa antimikroba seperti kitosan, minyak atsiri, dan asam organik memberikan perlindungan efektif terhadap kontaminasi mikroba. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengoptimalkan formulasi *edible film* dengan mempertimbangkan sifat mekanik, kemampuan sebagai penghalang, serta efektivitas antimikroba yang sesuai dengan karakteristik wajik.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. bagaimana karakterisasi *edible film* berbahan dasar selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. dengan fortifikasi kitosan?
2. bagaimana aktivitas antijamur dan antibakteri pada *edible film* berbahan dasar ekstrak selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. dengan fortifikasi kitosan?
3. bagaimana efektivitas penggunaan *edible film* sebagai kemasan pada wajik terhadap pengujian organoleptik?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka tujuan pada penelitian ini yaitu:

1. menentukan karakterisasi *edible film* berbahan dasar selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. dengan fortifikasi kitosan.

2. menentukan aktivitas antijamur dan antibakteri pada *edible film* berbahan dasar ekstrak selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. dengan fortifikasi kitosan.
3. menganalisis efektivitas penggunaan *edible film* sebagai kemasan pada wajik terhadap pengujian organoleptik.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini yaitu:

1. memberikan solusi terhadap limbah kemasan plastik dengan penggunaan kemasan *edible film*.
2. meningkatkan pemanfaatan limbah rumput laut *Sargassum* sp. sebagai produk pangan.
3. meningkatkan mutu kemasan plastik sebagai kemasan fungsional bagi Kesehatan.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah, adapun hipotesis pada penelitian ini yaitu:

1. *edible film* berbahan dasar selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. yang difortifikasi dengan kitosan memiliki karakteristik fisik, mekanik, dan fungsional yang lebih unggul dibandingkan *edible film* tanpa fortifikasi, terutama dalam hal kekuatan tarik, ketahanan air, serta sifat antimikroba.
2. *edible film* yang berbahan dasar ekstrak selulosa dari *Sargassum* sp. dengan fortifikasi kitosan memiliki aktivitas antijamur dan antibakteri yang signifikan, yang dapat menghambat pertumbuhan jamur seperti *A. flavus* dan bakteri seperti *E. coli* dan *S. aureus*.
3. penggunaan *edible film* berbahan dasar ekstrak selulosa dari *Sargassum* sp. dengan fortifikasi kitosan sebagai kemasan pada wajik akan memberikan hasil positif dalam pengujian organoleptik, dengan preferensi terhadap kualitas produk, seperti tekstur, aroma dan warna yang lebih baik dibandingkan dengan kemasan konvensional.

BAB II

TOPIK PENELITIAN I

ISOLASI SELULOSA DARI RUMPUT LAUT *Sargassum* sp. DAN UJI KADAR LIGNOSELULOSA DENGAN MENGGUNAKAN METODE VAN SOEST

2.1 Abstrak

Latar Belakang. Rumput laut merupakan sumber daya alam yang melimpah dan berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam berbagai aplikasi industri. Lignoselulosa dalam rumput laut *Sargassum* sp. memiliki potensi besar sebagai sumber selulosa untuk pengembangan produk bernilai ekonomi tinggi. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi selulosa dari *Sargassum* sp. dan menganalisis kadar lignoselulosa, yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin. **Metode.** Metode penelitian yang digunakan untuk menganalisis kadar lignoselulosa yaitu dengan menggunakan metode van soest. Analisis dilakukan pada sampel *Sargassum* sp. mentah dan hasil isolasi untuk mengukur perubahan kandungan lignoselulosa. **Hasil.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar selulosa, hemiselulosa, dan lignin sebelum isolasi masing-masing sebesar 22,97%, 3,67%, dan 21,39%. Setelah isolasi, kadar selulosa meningkat menjadi 55,16%, sedangkan hemiselulosa dan lignin menurun menjadi 5,82% dan 1,38%. Hasil ini menunjukkan bahwa proses isolasi berhasil meningkatkan kemurnian selulosa dengan mengurangi kadar hemiselulosa dan lignin secara signifikan. **Kesimpulan.** Kesimpulan dari penelitian ini yaitu hasil isolasi selulosa dari *Sargassum* sp. memiliki potensi untuk digunakan dalam pengembangan produk biomaterial yang ramah lingkungan.

2.2 Pendahuluan

Indonesia memiliki kekayaan laut yang sangat melimpah, salah satunya alga atau dikenal sebagai rumput laut (Prita et al., n.d.). Rumput laut tergolong kelompok tumbuhan thallophyta, yaitu tumbuhan yang tidak dapat dibedakan akar, batang dan daunnya (Banu A et al., 2020). Rumput laut dibagi dalam beberapa jenis berdasarkan warna dan pigmen yang dimiliki yaitu rumput laut biru (*Cyanophyta*), rumput laut hijau (*Chlorophyta*), rumput laut merah (*Rhodophyta*) dan rumput laut coklat (*Phaeophyta*) (Raja dan Haji, 2023).

Departemen Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia mencatat produksi rumput laut *Sargassum* sp. pada tahun 2019 dari hasil budidaya mampu mengekspor sekitar 2.082,76 ton (Akrim et al., 2019). Salah satu wilayah di Indonesia khususnya bagian timur yang menghasilkan rumput laut *Sargassum* sp. berada di kawasan Desa Ujung Baji, Kecamatan Sanrobone, Kabupaten Takalar Sulawesi Selatan. Keberadaan rumput laut ini cenderung diabaikan dan dianggap sampah yang mengotori permukaan perairan. Melimpahnya produksi

rumput laut *Sargassum* sp. di Indonesia mendorong peneliti untuk memanfaatkan selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. sebagai upaya mengoptimalkan potensi rumput laut Indonesia khususnya provinsi Sulawesi Selatan.

Rumput laut *Sargassum* sp. mengandung lebih dari 30% selulosa (Rahmi et al., 2020). Selulosa yang dihasilkan oleh *Sargassum* sp. merupakan polisakarida rantai linear yang banyak digunakan dalam berbagai industri, seperti industri kertas, film fotografi, sinar-X, plastik *biodegradable*, dan membran untuk keperluan industri lainnya (Raja dan Haji, 2023). Selulosa yang berasal dari *Sargassum* sp. memiliki sifat mudah terurai di alam dan merupakan sumber terbarukan (Mohd Fauziee et al., 2021).

Pemanfaatan selulosa dari rumput laut, khususnya jenis *Sargassum* semakin berkembang di berbagai bidang industri (Vignesh et al., 2024). Hal ini mendorong peneliti untuk melakukan isolasi selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. Proses isolasi selulosa ini melibatkan beberapa tahap, yaitu hidrolisis, delignifikasi, dan bleaching (Bachmid, 2018). Hidrolisis dilakukan untuk memisahkan lignoselulosa, yang terdiri dari lignin dan selulosa. Tahap delignifikasi menggunakan campuran NaOH 2% dan Na₂SO₃ 2% bertujuan untuk memisahkan lignin dari selulosa (Jumadi et al., 2023). Sedangkan *bleaching* bertujuan untuk memutihkan dan juga melarutkan sisa senyawa lignin yang dapat menyebabkan perubahan warna (Mohd Fauziee et al., 2021).

Pengukuran kadar selulosa dari hasil isolasi memerlukan penerapan metode yang valid dan akurat. Salah satu metode yang umum digunakan untuk analisis dan penentuan kadar lignoselulosa adalah metode van soest (Van Soest et al., 1991). Metode ini dirancang untuk menganalisis komposisi serat kasar pada bahan tanaman, termasuk selulosa, lignin dan hemiselulosa (Liu et al., 2023). Oleh karena itu, penerapan metode van soest memberikan kontribusi yang signifikan dalam menganalisis kadar lignoselulosa, terutama dalam isolasi selulosa dari bahan seperti rumput laut *Sargassum* sp.

2.3 Metode

2.3.1 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi rumput laut *Sargassum* sp., HNO₃ 3.5%, NaOH 2%, Na₂SO₃ 2%, H₂O₂ 10%, larutan ADF, larutan NDF, alkohol, H₂SO₄ 72% dan aquades. Semua bahan ini digunakan dalam berbagai tahap dalam proses isolasi selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. dan uji kadar lignoselulosa dengan menggunakan metode van soest.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini mencakup stirer untuk homogenisasi, gelas kimia sebagai wadah penyimpanan sampel, thermometer untuk mengukur suhu pada proses hidrolisis dan delignifikasi, alat ukur pH untuk memastikan pH larutan, spektrofotometer FT-IR SHIMADZU yang berfungsi untuk mendeteksi gugus fungsi. Semua alat ini bekerja secara sinergis untuk

mendukung berbagai tahap dalam penelitian, mulai dari isolasi selulosa hingga penentuan kadar lignoselulosa dengan menggunakan metode van soest.

2.3.2 Pengambilan Sampel

Sampel rumput laut *Sargassum* sp. diambil di perairan Desa Ujung Baji Kecamatan Sanrobone Kabupaten Takalar Sulawesi Selatan. Rumput laut *Sargassum* sp. diambil pada musim hujan.

2.3.3 Preparasi Rumput Laut *Sargassum* sp.

Proses isolasi selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. dimulai dari tahap preparasi dengan mencuci rumput laut *Sargassum* sp. sampai bersih lalu dikeringkan di bawah terik matahari, kemudian dihaluskan dan diayak dengan ukuran 60 mesh hingga terbentuk serbuk rumput laut *Sargassum* sp.

2.3.4 Isolasi Selulosa dari Rumput Laut *Sargassum* sp (Rahmi et al., 2020)

Serbuk rumput laut yang diperoleh dihidrolisis dengan menggunakan HNO_3 3,5% lalu dipanaskan dengan suhu 120°C kemudian dinetralkan hingga terbentuk endapan. Hasil endapan yang terbentuk didelignifikasi dengan pelarut NaOH 2% dengan perbandingan 1:10 dengan suhu 120°C selama 1 jam dengan menggunakan autoklaf. Endapan yang terbentuk dilakukan proses pemutihan menggunakan H_2O_2 10% lalu dipanaskan kemudian dinetralkan dengan akuades, hasil yang diperoleh kemudian dikeringkan dan dikarakterisasi dengan FTIR.

2.3.5 Penentuan Kadar Lignoselulosa dengan Metode Van Soes (Liu et al., 2023)

Uji kadar lignoselulosa dilakukan menggunakan metode van soest, yang mencakup beberapa tahapan, yaitu penentuan kadar ADF (*Acid Detergent Fiber*), NDF (*Neutral Detergent Fiber*), hemiselulosa, lignin, abu tak larut, serta kadar selulosa.

2.3.5.1 Penentuan Kadar *Acid Detergen Fiber* (ADF)

Sampel seberat 0,4 g (a) ditimbang dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berkapasitas 250 mL, kemudian ditambahkan 40 mL larutan ADF. Campuran dalam Erlenmeyer tersebut ditutup rapat dan dipanaskan dalam air mendidih selama 1 jam dengan pengocokan sesekali. Setelah pemanasan, campuran disaring menggunakan sintered glass no.1 yang telah diketahui beratnya (b), dengan bantuan pompa vakum. Residu yang diperoleh dicuci dengan 100 mL aquades mendidih dan 50 mL alkohol. Residu yang telah dicuci dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 8 jam. Setelah proses pengeringan, residu

didinginkan dalam desikator selama 30 menit sebelum dilakukan penimbangan (c). Perhitungan kadar ADF dijelaskan pada persamaan (1).

$$\text{Kadar ADF (\%)} = \frac{c - b \text{ (g)}}{a \text{ (g)}} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

a = Berat Sampel (g)

b = Berat Sintered glass kosong (g)

c = Berat Sintered glass kosong + residu penyaring setelah dioven

(Qu et al., 2022)

2.3.5.2 Penentuan Kadar *Neutral Detergen Fiber* (NDF)

Sampel seberat 0,2 g (a) ditimbang dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berkapasitas 250 mL, kemudian ditambahkan 30 mL larutan NDF. Campuran dalam Erlenmeyer ditutup rapat dan dipanaskan dalam air mendidih selama 1 jam dengan pengocokan sesekali. Setelah proses pemanasan, campuran disaring menggunakan sintered glass no.1 yang telah diketahui beratnya (b), dengan bantuan pompa vakum. Residu yang diperoleh dicuci dengan 100 mL aquades mendidih hingga busa hilang, kemudian dilanjutkan dengan pencucian menggunakan 50 mL alkohol. Residu yang telah dicuci dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 8 jam. Residu yang telah dikeringkan didinginkan dalam desikator selama 30 menit sebelum dilakukan penimbangan (c). Perhitungan kadar NDF dan hemiselulosa dijelaskan pada persamaan (2) dan (3).

$$\text{Kadar NDF (\%)} = \frac{c - b \text{ (g)}}{a \text{ (g)}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{Kadar Hemiselulosa (\%)} = \% \text{ NDF} - \% \text{ ADF} \quad (3)$$

Keterangan:

a = Berat Sampel (g)

b = Berat Sintered glass kosong (g)

c = Berat Sintered glass kosong + residu penyaring setelah dioven

(Qu et al., 2022)

2.3.5.3 Penentuan Kadar Lignin dan Selulosa

Sintered glass yang berisi residu ADF (c) ditempatkan di atas petridisk dan ditambahkan 20 mL H₂SO₄ 72%. Campuran diaduk secara berkala untuk memastikan bahwa sampel terbasahi secara sempurna dengan H₂SO₄, kemudian didiamkan selama 2 jam. Setelah itu, campuran dihisap menggunakan pompa vakum sambil dibilas dengan air panas hingga bersih. Padatan yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam desikator dan ditimbang (d). Padatan tersebut

kemudian dipanaskan dalam tanur pada suhu 500°C selama 2 jam, didinginkan sebagian, lalu dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit sebelum dilakukan penimbangan (e). Perhitungan kadar lignin, abu yang tidak larut, dan selulosa dijelaskan pada persamaan (4), (5), dan (6).

$$\text{Kadar Lignin (\%)} = \frac{d - e \text{ (g)}}{a \text{ (g)}} \times 100\% \quad (4)$$

$$\text{Kadar Abu yang Tidak Larut (\%)} = \frac{e \text{ (g)}}{a \text{ (g)}} \times 100\% \quad (5)$$

$$\text{Kadar Selulosa (\%)} = \% \text{ ADF} - \% \text{ Lignin} - \% \text{ Abu yang tidak larut} \quad (6)$$

Keterangan:

a = Berat Sampel (g)

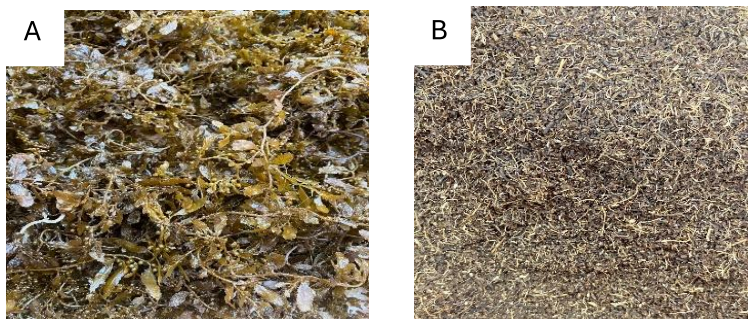
d = Berat *sintered glass* + sampel setelah dioven dan desikator (g)

e = Berat *sintered glass* + sampel setelah ditanur (g)

(Liu et al., 2023)

2.4 Hasil Isolasi Selulosa dari Rumput Laut *Sargassum* sp.

Rumput laut *Sargassum* sp. memiliki kandungan selulosa sebesar 30% (Rahmi et al., 2020). Proses isolasi selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. dimulai dengan tahapan preparasi, di mana rumput laut dipotong kecil dan dijemur hingga kering. Tahap ini bertujuan untuk menyamakan ukuran sampel dan meningkatkan luas permukaan yang akan berpengaruh pada efisiensi penyerapan selama proses analisis. Bahri, (2014) menyatakan bahwa semakin kecil ukuran sampel, semakin besar jumlah senyawa yang dapat terekstrak, sehingga kadar selulosa yang dihasilkan menjadi lebih tinggi. Setelah proses pengeringan, sampel rumput laut *Sargassum* sp. digiling menjadi serbuk. Adapun gambar sebelum dan setelah digiling dapat dilihat pada Gambar 2.1.



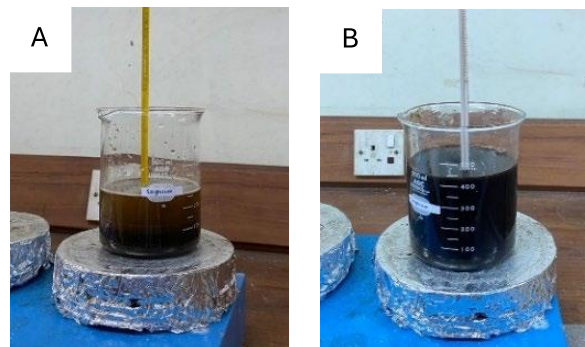
Gambar 2.1 a) Rumput Laut *Sargassum* sp. sebelum digiling; b) Rumput Laut *Sargassum* sp. setelah digiling

Rumput laut *Sargassum* sp. yang telah digiling (Gambar 2.1 bagian b) kemudian dianalisis untuk menentukan kadar lignoselulosanya. Hasil analisis menunjukkan kandungan selulosa sebesar 22,97%. Hasil lengkap uji kadar lignoselulosa menggunakan metode van soest dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Hasil Analisis Uji Kadar Lignoselulosa dengan Metode van soest

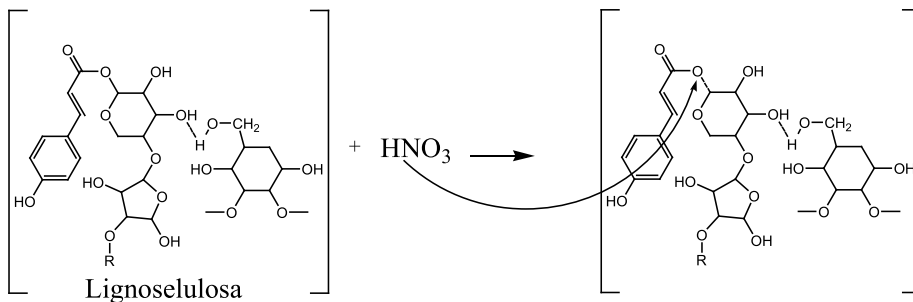
Sampel	Selulosa (%)	Hemiselulosa (%)	Lignin (%)
Serbuk <i>Sargassum</i> sp.	22.97	3.67	21.39

Berdasarkan Tabel 2.1, serbuk rumput laut *Sargassum* sp. mengandung selulosa sebesar 22,97%, hemiselulosa 3,67%, dan lignin 21,39%. Kandungan selulosa yang cukup tinggi pada *Sargassum* sp. menjadikannya berpotensi sebagai sumber bahan baku untuk isolasi selulosa. Proses isolasi selulosa dari *Sargassum* sp. dilakukan melalui beberapa tahapan. Tahap pertama yaitu hidrolisis menggunakan HNO_3 3,5%, yang bertujuan untuk menghasilkan lignoselulosa, yaitu campuran lignin dan selulosa. Tahap berikutnya adalah delignifikasi menggunakan NaOH 2% dan Na_2SO_3 2%, yang berfungsi untuk memisahkan lignin dari selulosa. Proses delignifikasi menghasilkan larutan berwarna hijau kehitaman, seperti yang ditampilkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Hidrolisis dan Delignifikasi pada Isolasi Selulosa dari Rumput Laut *Sargassum* sp.

Proses hidrolisis menghasilkan larutan berwarna coklat. Warna coklat yang muncul selama proses hidrolisis biomassa, seperti rumput laut *Sargassum* sp., terutama disebabkan oleh degradasi komponen non-selulosa, seperti hemiselulosa. Adapun reaksi yang terjadi pada hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 2.3.

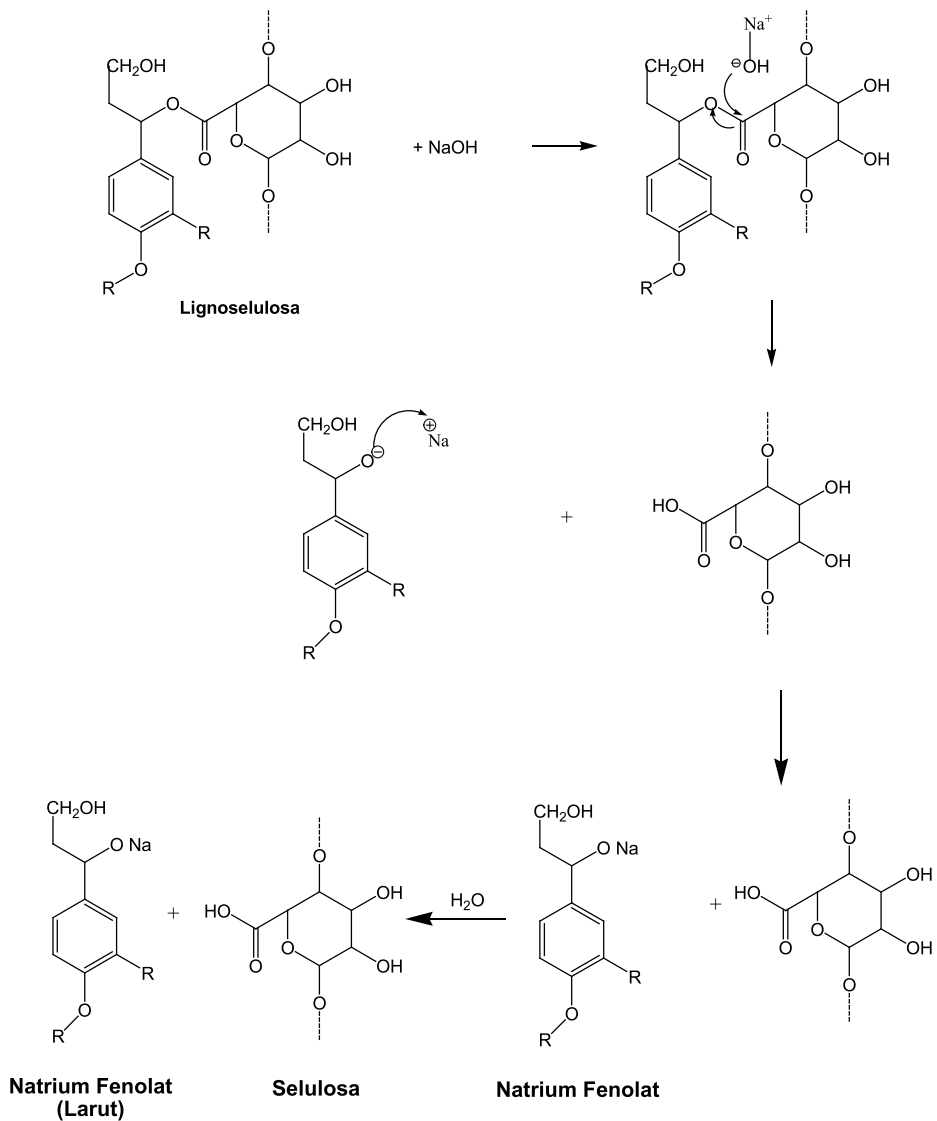


Gambar 2.3 Reaksi Hidrolisis dengan Menggunakan HNO_3

Reaksi hidrolisis lignoselulosa menggunakan asam nitrat (HNO_3) melibatkan dua mekanisme utama, yaitu hidrolisis ikatan glikosidik pada selulosa dan hemiselulosa serta oksidasi lignin. Dalam mekanisme hidrolisis, ion H^+ dari HNO_3 berinteraksi dengan molekul air, membentuk ion hidronium (H_3O^+) yang menyerang ikatan glikosidik pada selulosa dan hemiselulosa. Serangan ini menghasilkan pemutusan ikatan C-O pada rantai polisakarida, membentuk monomer-monomer sederhana seperti glukosa dan xilosa. Proton yang dilepaskan akan terus berinteraksi dengan ikatan glikosidik lainnya, sehingga proses hidrolisis terjadi secara berulang hingga seluruh molekul selulosa terpecah menjadi gula sederhana.

HNO_3 juga berperan dalam oksidasi lignin, yang terlihat dalam perubahan struktur senyawa aromatik pada Gambar 2.3. Gugus fenolik dan rantai samping lignin mengalami oksidasi, menghasilkan gugus karbonil dan karboksil yang meningkatkan kelarutan lignin dalam larutan asam. Oksidasi ini menyebabkan fragmentasi lignin menjadi komponen yang lebih kecil, memfasilitasi pemisahan lignin dari fraksi selulosa dan hemiselulosa. Dengan demikian, HNO_3 tidak hanya memutus ikatan polisakarida melalui hidrolisis, tetapi juga mengubah struktur kimia lignin, memungkinkan fraksi lignoselulosa mengalami degradasi lebih lanjut.

Proses delignifikasi diperlukan untuk memperoleh selulosa murni, dengan tujuan melarutkan lignin yang tersisa setelah tahapan hidrolisis. Proses ini menggunakan larutan NaOH karena larutan ini dapat merusak struktur lignin pada bagian kristalin dan amorf. Proses ini menghasilkan larutan berwarna hijau kehitaman, seperti yang terlihat pada Gambar 2.2, yang disebabkan oleh reaksi antara lignin terlarut dan produk degradasi yang terbentuk selama delignifikasi. Mekanisme reaksi yang terjadi pada proses delignifikasi dapat dilihat pada Gambar 2.4.

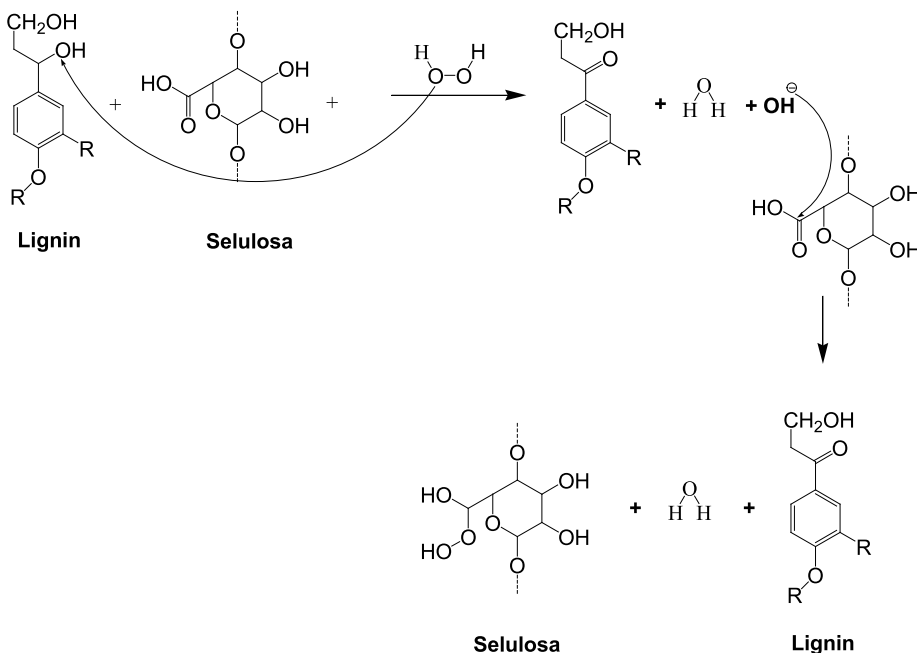


Gambar 2.4 Mekanisme Reaksi Delignifikasi dengan NaOH
(Safaria et al., 2013)

Mekanisme reaksi delignifikasi pada lignoselulosa yang dapat dilihat pada Gambar 2.4, bahwa dalam proses ini, NaOH akan berinteraksi dan merusak ikatan antara lignin dan selulosa. Ion Na^+ akan berikatan dengan lignin membentuk natrium fenolat yang bersifat polar yang mudah larut dengan air pada saat pencucian Safaria et al. (2013). Lignin yang terlarut ditandai dengan warna hitam yang disebut lindi hitam (black liquor).

Campuran kemudian disaring untuk memisahkan selulosa dari lignin. Selulosa yang tersaring kemudian dicuci menggunakan aquades hingga pH netral. Pencucian bertujuan untuk menetralkan pH dan juga menghilangkan sisa-sisa garam fenolat yang masih menempel pada selulosa, karena garam fenolat yang bersifat polar sehingga dapat larut dalam aquades. Pengecekan pH dengan memakai filtrat hasil penyaringan dengan menggunakan pH meter hingga netral. Selulosa kemudian dikeringkan untuk menghilangkan kadar airnya.

Proses *bleaching* (pemutihan) dengan H_2O_2 10% dan dicuci dengan aquades lalu dikeringkan sehingga diperoleh selulosa berwarna putih. Proses *bleaching* dengan hidrogen peroksida (H_2O_2) bertujuan untuk menghilangkan zat pengotor, seperti lignin, pigmen, dan senyawa fenolik yang masih menempel pada serat selulosa. Adapun mekanisme reaksi yang terjadi pada *bleaching* dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Mekanisme Reaksi *Bleaching* dengan menggunakan H_2O_2

Secara kimia, H_2O_2 dalam kondisi alkali akan terurai menjadi ion perhidroksil (HOO^-), yang berperan sebagai agen oksidasi utama dalam proses pemutihan. Ion ini menyerang ikatan kromofor dalam pigmen dan senyawa warna lainnya, memutus atau mengubah struktur ikatan rangkap terkonjugasi sehingga senyawa tersebut kehilangan sifat penyerapannya terhadap cahaya tampak, menghasilkan efek pemutihan pada selulosa. Selain itu, reaksi oksidasi ini juga

dapat mendegradasi residu lignin atau senyawa organik lainnya yang dapat mempengaruhi kemurnian dan warna selulosa. Adapun gambar dari hasil *bleaching* (pemutihan) dengan menggunakan H_2O_2 10% dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Hasil *bleaching* selulosa dengan H_2O_2

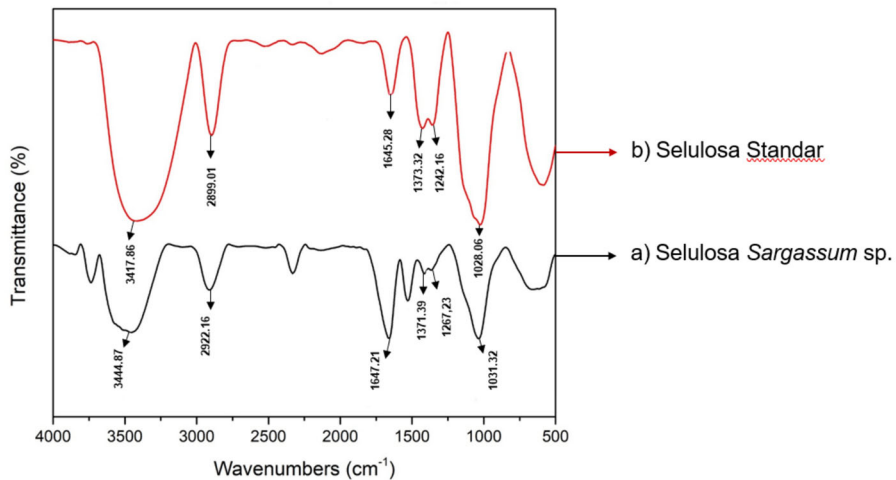
Serangkaian tahap isolasi ini bertujuan untuk mendapatkan tingkat kemurnian selulosa yang tinggi. Rumput laut *Sargassum* sp. yang telah diisolasi kandungan kemudian diuji kadar lignoselulosanya dengan menggunakan metode van soest. Metode van soest adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengukur kandungan serat dan komponen lignoselulosa dalam bahan tanaman (Liu et al., 2023). Metode ini dikembangkan oleh Peter J. Van Soest dan biasanya digunakan untuk analisis serat makanan dan pakan ternak (Van Soest et al., 1991). Kemudian dilakukan perhitungan komposisi selulosa, lignin dan hemiselulosa. Hasil analisis kandungan lignoselulosa dari isolat selulosa rumput laut *Sargassum* sp. dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Nilai Rata-rata Kandungan Selulosa dari Rumput Laut *Sargassum* sp.

Komposisi	Serbuk <i>Sargassum</i> sp. (%)	Serbuk Selulosa <i>Sargassum</i> sp. (%)
Selulosa	22.97	55.16
Hemiselulosa	3.67	5.82
Lignin	21.39	1.38

Berdasarkan dari hasil yang diperoleh pada Tabel 2.2 dapat dilihat bahwa hasil isolasi selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. mengalami peningkatan kadar selulosa dan hemiselulosa serta penurunan kadar lignin yang disebabkan pada proses delignifikasi menggunakan NaOH 2%. Hasil ini menunjukkan bahwa kadar selulosa dari *Sargassum* sp. yang diperoleh memiliki tingkat kemurnian yang lebih rendah dibandingkan penelitian sebelumnya tentang isolasi selulosa dari *Sargassum* sp. sebesar 30% (Rahmi et al., 2020).

Selulosa yang diisolasi dari rumput laut *Sargassum* sp. diidentifikasi gugus fungsinya menggunakan spektrofotometer FT-IR untuk menentukan serapan khas dan gugus fungsi yang terdapat dalam sampel. Hasil analisis profil spektra selulosa yang dihasilkan disajikan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 a) Perbandingan spektrum FTIR selulosa standar; b) Perbandingan spektrum FTIR selulosa *Sargassum* sp.

Berdasarkan Gambar 2.7 dapat dilihat bahwa spektrum FTIR selulosa standar dan selulosa dari *Sargassum* sp. menunjukkan pola serupa, mencerminkan kesamaan struktur dasar dari kedua sampel tersebut. Hasil analisis yang lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Analisis Gugus Fungsional Selulosa Standar dan Selulosa dari *Sargassum* sp.

Selulosa Standar	Selulosa <i>Sargassum</i> sp.	Rentang Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Gugus Fungsi
3417.86	3444.87	3200–3600	Hidroksil (O-H)
2899.01	2922.16	2800–3000	Alifatik (C-H)
1645.28	1647.21	1600–1750	Karbonil (C=O)
1373.32	1371.39	1350–1470	Alifatik (C-H)
1242.16	1267,23	1000–1300	C-O (Polisakarida)
1028.06	1031.92	1000–1150	C-O-C (Eter)

Berdasarkan Tabel 2.3, Spektrum FTIR dari selulosa yang diekstraksi dari *Sargassum* sp. menunjukkan beberapa puncak signifikan jika dibandingkan dengan spektrum selulosa standar. Gugus hidroksil (O-H), yang terdeteksi pada

bilangan gelombang 3417.86 cm^{-1} untuk selulosa standar dan 3444.87 cm^{-1} untuk selulosa *Sargassum* sp., merupakan ciri khas dari ikatan hidrogen dalam selulosa. Gugus alifatik (C-H) juga muncul pada bilangan gelombang yang hampir sama, yaitu 2899.01 cm^{-1} untuk selulosa standar dan 2922.16 cm^{-1} untuk selulosa *Sargassum* sp., menunjukkan keberadaan rantai polimer alifatik pada kedua bahan. Selain itu, gugus karbonil (C=O), yang dapat berasal dari air terikat atau pengotor, terlihat pada bilangan gelombang 1645.28 cm^{-1} dan 1647.21 cm^{-1} untuk masing-masing sampel. Gugus C-O dan C-O-C, yang merupakan ciri khas polisakarida pada selulosa, juga ditemukan pada bilangan gelombang sekitar 1028.06 cm^{-1} hingga 1031.92 cm^{-1} pada kedua spektrum.

2.5 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah isolasi selulosa dari rumput laut *Sargassum* sp. berhasil dilakukan melalui tahapan hidrolisis, delignifikasi, dan bleaching. Keberhasilan dari proses isolasi dilihat dari meningkatnya jumlah kadar selulosa yang diperoleh setelah proses isolasi. Penentuan kadar selulosa sebelum dan setelah isolasi dilakukan dengan metode van soest. Hasil isolasi menunjukkan peningkatan kadar selulosa dari 22,97% menjadi 55,16% dan hemiselulosa dari 3,67% menjadi 5,82%, serta penurunan kadar lignin dari 21,39% menjadi 1,38%, yang diakibatkan oleh proses delignifikasi menggunakan NaOH 2%.

2.6 Daftar Pustaka

- Akrim, D., Ddirawan, G., Rauf, B. A., Studi Perpajakan, P., & Bosowa, P. (2019). *Perkembangan Budidaya Rumput Laut Dalam Meningkatkan Perekonomian Masyarakat Pesisir Di Indonesia*.
- Antonisamy, A. J., & Rajendran, K. (2024). Comparative Study On The Extraction Methods, Characterization, And Bioactivity Of Crude Fucoidan, A Polysaccharide Derived From *Sargassum Illicifolium*. *Biochemical Engineering Journal*, 209, 109398. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2024.109398>
- Bahri, S. (2014). Optimasi Sintesis Karboksimetil Selulosa Dari Tongkol Jagung Manis (*Zea Mays L Saccharata*) Optimization Synthesis Corboxymethyl Cellulose Of Sweet Corn Cob (*Zea Mays L Saccharata*). *Online Jurnal Of Natural Science*, 3(2), 70–78.
- Banu A, T., Ramani P, S., & Murugan, A. (2020). Effect Of Seaweed Coating On Quality Characteristics And Shelf Life Of Tomato (*Lycopersicon Esculentum* Mill). *Food Science And Human Wellness*, 9(2), 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.03.002>

- Doh, H., Dunno, K. D., & Whiteside, W. S. (2020). Cellulose Nanocrystal Effects On The Biodegradability With Alginate And Crude Seaweed Extract Nanocomposite Films. *Food Bioscience*, 38, 100795. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100795>
- Elizalde-Mata, A., Trejo-Caballero, M. E., Yáñez-Jiménez, F., Bahena, D., Esparza, R., López-Miranda, J. L., & Estevez, M. (2024). Assessment Of Caribbean *Sargassum* Species For Nanocellulose Foams Production: An Effective And Environmentally Friendly Material To Water-Emerging Pollutants Removal. *Separation And Purification Technology*, 341, 126627. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2024.126627>
- Jumadi, O., Annisi, A. D., Djawad, Y. A., Bourgougnon, N., Amaliah, N. A., Asmawati, A., Manguntungi, A. B., & Inubushi, K. (2023). Brown Algae (*Sargassum* Sp) Extract Prepared By Indigenous Microbe Fermentation Enhanced Tomato Germination Parameters. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 47, 102601. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102601>
- Liu, W., Xu, L., Sun, J., Cheng, H., Chen, Z., Zhou, H., Yan, B., & Wang, Y. (2023). The Patterns Of Marine Microbial Communities In Composts With High Lignocellulose Content. *Chemical Engineering Journal*, 468. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.143649>
- Mohd Fauzjee, N. A., Chang, L. S., Wan Mustapha, W. A., Md Nor, A. R., & Lim, S. J. (2021). Functional Polysaccharides Of Fucoidan, Laminaran And Alginate From Malaysian Brown Seaweeds (*Sargassum Polycystum*, *Turbinaria Ornata* And *Padina Boryana*). *International Journal Of Biological Macromolecules*, 167, 1135–1145. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.067>
- Prita, A. W., Bayu Mangkurat, R. S., Mahardika, A., Ilmu Kelautan, D., Perikanan Dan Ilmu Kelautan, F., Dipogoro, U., & Soedarto, J. (N.D.). Kota Jakarta Pusat, 10340, Indonesia 3 Program Studi Biologi, Fakultas Biologi. In *Jl. Dr. Soeparno No.63. Purwokerto* (Vol. 53122, Issue 8).
- Qu, Y., Gandam, P. K., Latha Chinta, M., Gandham, A. P., Prem, N., Pabbathi, P., Konakanchi, S., Bhavanam, A., Atchuta, S. R., Raju Baadhe, R., & Kant Bhatia, R. (2022). A New Insight into the Composition and Physical Characteristics of Corncob-Substantiating Its Potential for Tailored Biorefinery Objectives. <https://doi.org/10.3390/fermentation>
- Rahmi, D., Marpaung, M. T., Aulia, R. D., Putri, S. E., Aidha, N. N., & Widjajanti, R. (2020). Ekstraksi Dan Karakterisasi Mikroselulosa Dari Rumpun Laut Coklat *Sargassum* Sp. Sebagai Bahan Penguat Bioplastik Film. *Jurnal Kimia Dan Kemasan*, 42(2), 57. <https://doi.org/10.24817/Jkk.V42i2.6401>

- Raja, U. M., & Haji, A. (2023). *Potensi Budidaya Dan Olahan Rumput Laut Di Indonesia*. <https://www.researchgate.net/publication/370842561>
- Safaria, S., Idiawati, N., Anita Zaharah, T., & Hadari Nawawi, J. H. (2013). *Efektivitas Campuran Enzim Selulase Dari Aspergillus Niger Dan Trichoderma Reesei Dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa*. 2(1), 46–51.
- Souhoka, F. A., & Latupeirissa, J. (2018). Sintesis Dan Karakterisasi Selulosa Asetat (Ca). *Indo. J. Chem. Res.*, 5(2), 58–62. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2018.5-Fen>
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods For Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, And Nonstarch Polysaccharides In Relation To Animal Nutrition. *Journal Of Dairy Science*, 74(10), 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Vignesh, N. S., Kiruthika, M., Pothiyaraj, G., Ashokkumar, B., Uma Bharathi, K. S., Kandasamy, R., Shanmugam, M., Singh, J. K., & Varalakshmi, P. (2024). Uncovering The Nutraceutical And Biorefinery Applications Of Two Different Marine Macroalgae *Sargassum Polycystum* and *Rosenvingeia Intricata*. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 60, 103274. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103274>