

**OPTIMASI DEASETILASI KHITIN DARI KULIT UDANG DAN CANGKANG KEPITING
LIMBAH RESTORAN *SEAFOOD* MENJADI KHITOSAN MELALUI
VARIASI KONSENTRASI NaOH**

N. M. Puspawati dan I N. Simpen

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

ABSTRAK

Khitin hasil pengolahan kulit udang dan cangkang kepiting limbah restoran *seafood*, dapat ditransformasikan menjadi khitosan melalui proses deasetilasi menggunakan NaOH konsentrasi tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kondisi optimum proses deasetilasi khitin sehingga mendapatkan khitosan dengan rendemen dan derajat deasetilasi yang tinggi, dengan memvariasikan konsentrasi NaOH pada suhu konstan 120°C dan waktu reaksi 4 jam. Konsentrasi NaOH yang digunakan adalah 50, 55, dan 60%, Semua khitosan yang diperoleh dihitung rendemennya dan dikarakterisasi menggunakan FTIR. Derajat deasetilasi khitosan ditentukan dengan menggunakan data dari spektra FTIR.

Hasil penelitian menunjukkan, kondisi optimum untuk deasetilasi khitin dari kulit udang pada suhu 120°C selama 4 jam, dicapai dengan menggunakan NaOH 60%. yang menghasilkan khitosan dengan rendemen dan derajat deasetilasi tertinggi yaitu 54,90% dan 88,04% berurutan. Untuk proses deasetilasi khitin dari cangkang kepiting dengan kondisi yang sama, menghasilkan khitosan dengan rendemen sebesar 62,76% dan derajat deasetilasi sebesar 88,53%. Semua khitosan yang diperoleh, baik itu dari kulit udang maupun cangkang kepiting larut dalam asam asetat 2%.

Kata Kunci : deasetilasi, kulit udang, cangkang kepiting, khitin, khitosan

ABSTRACT

Chitin resulted from treatment of shrimp and crab shells wasted of *seafood* restaurant, can be transformed into chitosan through deacetylation process using concentrated NaOH. This research aims to investigate the optimum condition of the deacetylation process to achieve a high yield and deacetylation degree of chitosan by varying the concentration of NaOH while temperature and length of reaction are made constant at 120°C for 4 hours. The concentration of NaOH used in this research was 50; 55; and 60%, respectively. All chitosan obtained were purified and characterized by FTIR. The deacetylation degree of chitosan was calculated based on FTIR spectra data.

The result found, the optimum condition for deacetylation of chitin from shrimp shells at 120°C for 4 hours, was achieved using NaOH 60%, giving a high yield of 54.90% and deacetylation degree of 88.04%.. Using the same condition as for deacetylation chitin from shrimp, chitosan obtained from crab shells gave a better yield which was 62.76 %, and the deacetylation degree of 88.53%. Both chitosans obtained from shrimp and crab shells solubled in a 2% acetic acid solution.

Keywords : deacetylation, shrimp shells, crab shells, chitin, chitosan

PENDAHULUAN

Kulit udang dan cangkang kepiting limbah *seafood* merupakan sumber potensial pembuatan khitin dan khitosan, yaitu biopolimer yang secara komersil berpotensi dalam berbagai bidang industri. Manfaat khitin dan khitosan di berbagai bidang industri moderen cukup banyak, diantaranya dalam industri farmasi, biokimia, bioteknologi, biomedikal, pangan, gizi, kertas, tekstil, pertanian, kosmetik, membran dan kesehatan. Disamping itu, khitin dan khitosan serta turunannya mempunyai sifat sebagai bahan pengemulsi koagulasi dan penebal emulsi (Marganov, 2003).

Kulit udang mengandung protein 25-40%, kalsium karbonat 45-50%, dan khitin 15-20%, tetapi besarnya kandungan komponen tersebut tergantung pada jenis udang dan tempat hidupnya. Cangkang kepiting mengandung protein 15,60-23,90%, kalsium karbonat 53,70-78,40%, dan khitin 18,70-32,20% yang juga tergantung pada jenis kepiting dan tempat hidupnya (Marganov, 2003).

Secara kimiawi khitin merupakan polimer β -(1,4)-2-asetamida-2-dioksi-D-glukosa yang tidak dapat dicerna oleh mamalia. Khitin tidak larut dalam air sehingga penggunaannya terbatas. Namun dengan modifikasi struktur kimianya maka akan diperoleh senyawa turunan khitin yang mempunyai sifat kimia yang lebih baik. Salah satu turunan khitin adalah khitosan, suatu senyawa yang mempunyai rumus kimia poli β -(1,4)-2-amino-2-dioksi-D-glukosa yang dapat dihasilkan dari proses hidrolisis khitin menggunakan basa kuat (proses deasetilasi) (Srijanto dan Imam, 2005). Perbedaan khitin dan khitosan terletak pada kandungan nitrogennya. Bila kandungan total nitrogennya kurang dari 7%, maka polimer tersebut adalah khitin dan apabila kandungan total nitrogennya lebih dari 7% maka disebut khitosan (Krissetiana, 2004).

Penelitian tentang cara pengolahan dan pemanfaatan kulit udang telah banyak dilakukan. Menurut Prasetyo (2004), derajat deasetilasi khitosan ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu konsentrasi NaOH, suhu dan lama proses deasetilasinya (Prasetyo, 2004). Hasil penelitian dari Departemen Kelautan dan Perikanan RI terhadap produksi khitosan menyatakan bahwa

berdasarkan data viskositas, kelarutan, dan derajat deasetilasi menunjukkan perlakuan pada suhu 60°C diperoleh hasil khitosan yang lebih baik daripada suhu 70°C, konsentrasi NaOH 60% relatif lebih baik dari konsentrasi 50%, sementara lama deasetilasi 72 jam relatif lebih baik dari 48 jam (Anonim, 2003). Peneliti lainnya, Srijanto dan Imam (2005) mempelajari pengaruh suhu reaksi terhadap derajat deasetilasi khitosan, dimana dengan naiknya suhu reaksi, maka derajat deasetilasi khitosan yang diperoleh juga meningkat. Hasil penelitiannya menunjukkan pada suhu 140, 130, dan 100°C diperoleh derajat deasetilasi khitosan berturut-turut sebesar 83,26; 82,66; dan 74,29% dengan menggunakan basa kuat dan lama reaksi 4 jam (Srijanto dan Imam, 2005). Hasil penelitian Alamsyah *et al.* (2007) menunjukkan proses deasetilasi yang dilakukan dengan menggunakan NaOH 50% pada suhu 140°C selama 4 jam diperoleh khitosan larut air dengan derajat deasetilasi sebesar 70%. Alamsyah juga meneliti tentang pengaruh urutan proses isolasi khitin, hasilnya tahap demineralisasi-deproteinasi menghasilkan rendemen khitin dan derajat deasetilasi yang lebih baik dibandingkan dengan proses deproteinasi-demineralisasi (Alamsyah *et al.*, 2007).

Hasil penelitian Larita menunjukkan bahwa proses deasetilasi khitin yang dilakukan dengan menggunakan NaOH 60%, suhu 120-140°C serta lama reaksi 90 menit diperoleh khitosan dengan derajat deasetilasi hanya sebesar 56,52% (Larita, 2006). Weska dan Moura melaporkan kondisi optimum yang didapatkan untuk reaksi deasetilasi khitin yaitu pada konsentrasi NaOH 48%, suhu 130°C dan lama reaksi 90 menit menghasilkan khitosan dengan derajat deasetilasi 90% (Weska dan Moura, 2006). Erna melaporkan, dengan kondisi reaksi yang sama dengan penelitian Weska dan Moura yaitu NaOH 48%, suhu 130°C dan lama reaksi 90 menit menghasilkan khitosan dengan derajat deasetilasi yang jauh lebih kecil yaitu berturut-turut 60,63; 63,31; dan 60,31% untuk cangkang kepiting, kulit udang windu dan kulit udang manis. Hal ini mungkin disebabkan karena kandungan mineral pada kulit udang dan cangkang kepiting yang berbeda. Penelitian Weska dan Moura dilakukan di Jepang

sedangkan penelitian Erna dilakukan di Bali, Erna juga melaporkan dari proses demineralisasi cangkang kepiting dengan HCl 1,5 M tanpa pemanasan, rendemen khitin yang diperoleh hanya 9,54%, sedangkan dalam pustaka, khitin yang diperoleh dari cangkang kepiting sebesar 18,70-32,30% (Ernawati, 2008).

Mengingat khitin dan khitosan hasil pengolahan kulit udang dan cangkang kepiting memiliki nilai ekonomis yang tinggi, maka sangatlah penting untuk mengolah kulit udang dan cangkang kepiting limbah restoran *seafood* menjadi khitin dan khitosan. Dari hasil penelitian Larita (2006) dan Ernawati (2008), disimpulkan bahwa derajat deasetilasi dari khitosan dan rendemen khitin yang diperoleh dari cangkang kepiting perlu ditingkatkan. Untuk meningkatkan derajat deasetilasi khitosan, maka pada penelitian ini akan dilakukan optimasi reaksi deasetilasi khitin dengan cara memvariasikan konsentrasi NaOH sedangkan suhu dan waktu reaksi dibuat konstan.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit udang dan cangkang kepiting yang merupakan limbah dari restoran *seafood* di Jimbaran, asam klorida pekat (HCl 37%) (p.a), natrium hidroksida (NaOH), aseton (p.a), etanol (p.a), asam asetat (CH₃COOH), kupri sulfat anhidrat (CuSO₄), kalium iodida (KI), iodium (I₂), asam sulfat (H₂SO₄), perak nitrat (AgNO₃), dan akuades.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas, diantaranya adalah gelas ukur, erlenmeyer, pipet ukur, pipet volume, labu ukur, gelas beaker, corong, dan labu pemanas, ayakan ukuran 0,25 mm, oven, desikator, kertas saring, termometer, pH meter, bola hisap, neraca analitik, penangas minyak, hot plate, dan alat sentrifugasi. Peralatan instrumen yang digunakan adalah spektrofotometer fourier transform inframerah (FTIR) Shimadzyu.

Cara Kerja

Penyiapan sampel

Kulit udang yang diambil dari limbah restoran *seafood* di Jimbaran, direbus, kemudian dicuci dengan air agar kotoran yang melekat hilang, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 110-120°C selama kurang lebih satu jam. Setelah kering kemudian digiling dan diayak menggunakan ayakan 0,25 mm sehingga diperoleh serbuk dengan ukuran partikel yang lebih kecil dari 0,25 mm. Hasil ayakan digunakan sebagai sampel. Langkah yang sama dilakukan untuk cangkang kepiting.

Ekstraksi khitin dari kulit udang

a. Penghilangan mineral (demineralisasi)

Sebanyak 150 g serbuk kulit udang ditambahkan dengan 2,250 L HCl 1,5 M dengan perbandingan 1:15 (b/v) antara sampel dengan pelarut. Campuran dipanaskan pada suhu 70-80°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan pada 50 rpm kemudian disaring. Padatan yang diperoleh dicuci dengan akuades untuk menghilangkan HCl yang tersisa. Filtrat terakhir yang diperoleh diuji dengan larutan AgNO₃, bila sudah tidak terbentuk endapan putih maka sisa ion Cl yang terkandung sudah hilang. Selanjutnya padatan dikeringkan pada oven dengan temperatur 70°C selama 24 jam sehingga diperoleh serbuk kulit udang tanpa mineral yang kemudian didinginkan dalam desikator. Langkah demineralisasi dari kulit udang ini diulang sebanyak dua kali, yang satu digunakan pada tahap optimasi konsentrasi NaOH dan yang satu lagi digunakan pada tahap optimasi suhu pada proses deasetilasi (Weska dan Moura, 2006).

b. Penghilangan protein (deproteinasi)

Masing-masing serbuk kulit udang kering sebanyak 56,4402 g (sampel A) dan 57,3912 g (sampel B) yang telah hilang mineralnya (dari tahap a), dimasukkan ke dalam gelas beaker 1 L dan ditambahkan larutan NaOH 3,5% masing-masing sebanyak 564,50 mL untuk sampel A dan 574,00 mL untuk sampel B dengan perbandingan 1:10 (b/v) antara sampel dengan pelarut. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 65-70°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan pada 50 rpm. Selanjutnya padatan disaring dan didinginkan sehingga

diperoleh khitin, yang kemudian dicuci dengan akuades sampai pH netral. Filtrat yang diperoleh diuji dengan pereaksi biuret, bila filtrat berubah menjadi biru berarti protein yang terkandung sudah hilang. Khitin yang sudah dicuci ditambahkan etanol 70% untuk melarutkan khitosan terlarut sebanyak 100 mL dan dilanjutkan dengan penyaringan, pencucian kembali dengan akuades panas dan aseton untuk menghilangkan warna sebanyak dua kali masing-masing 100 mL, lalu dikeringkan pada suhu 80°C selama 24 jam kemudian didinginkan dalam desikator (Weska dan Moura, 2006). Adanya khitin dapat dideteksi dengan reaksi warna Van Wesslink. Pada cara ini, khitin direaksikan dengan larutan I₂-KI 1% yang memberikan warna coklat, kemudian jika ditambahkan H₂SO₄ 1 M berubah menjadi violet, ini menunjukkan reaksi positif adanya khitin (Marganov, 2003). Khitin yang diperoleh masing-masing dihitung rendemennya, yaitu masing-masing sebesar 53,4210 g untuk khitin A dan 52,0903 g untuk khitin B, lalu dikarakterisasi dengan FTIR kemudian ditentukan derajat deasetilasinya.

Optimasi deasetilasi khitin menjadi khitosan

Untuk menentukan kondisi optimum proses deasetilasi khitin menjadi khitosan, akan dilakukan variasi konsentrasi NaOH sedangkan suhu dan waktu reaksi dibuat konstan yaitu 120°C selama 4 jam.

Penentuan konsentrasi optimum NaOH, pada suhu dan waktu reaksi yang konstan

Khitin A yang diperoleh dari tahap 3.4.2 (b) sebanyak 51,1500 g (setelah sebagian digunakan untuk dikarakterisasi dengan FTIR), dibagi menjadi tiga bagian dengan berat yang sama yaitu masing-masing 17,0500 g, kemudian dideasetilasi dengan menambahkan NaOH pekat dengan konsentrasi 50, 55, dan 60% pada tiap bagian khitin sebanyak 341,00 mL dengan perbandingan 1:20 (b/v) antara khitin dengan pelarut. Campuran diaduk dan dipanaskan pada suhu 120°C selama 4 jam. Larutan dipisahkan dan disaring melalui kertas saring *wollfram*, kemudian larutan dititrasi dengan HCl 7 N untuk mengendapkan kembali khitosan, lalu disentrifugasi pada 2000 rpm selama 5 menit

untuk memisahkan khitosan, kemudian endapan dipisahkan. Padatan dikeringkan pada 80°C selama 24 jam. Khitosan kemudian ditimbang hingga diperoleh berat konstan. Khitosan yang diperoleh kemudian dimurnikan (sesuai dengan prosedur 3.4.6), lalu dihitung rendemennya kemudian dikarakterisasi dengan FTIR untuk ditentukan derajat deasetilasinya. Konsentrasi NaOH yang menunjukkan derajat deasetilasi khitosan yang tertinggi selanjutnya digunakan pada proses penentuan suhu optimum.

Ekstraksi khitin dari cangkang kepiting

a. Penghilangan mineral (demineralisasi)

Proses demineralisasi khitin dari cangkang kepiting sama dengan proses demineralisasi kulit udang (3.4.2-a), namun hanya dilakukan satu kali tanpa pengulangan, karena sampel awal yang dibutuhkan hanya 100 g.

b. Penghilangan protein (deproteinasi)

Sebanyak 24,7552 g serbuk kepiting kering bebas mineral dimasukkan ke dalam gelas beaker 1 L dan ditambahkan larutan NaOH 3,5% sebanyak 247,50 mL dengan perbandingan 1:10 (b/v) antara sampel dengan pelarut. Proses selanjutnya sama dengan proses deproteinasi khitin dari kulit udang (3.4.2-b). Khitin yang diperoleh dihitung rendemennya, yaitu sebesar 20,9072 g, lalu dikarakterisasi dengan FTIR kemudian ditentukan derajat deasetilasinya.

Deasetilasi khitin dari cangkang kepiting menjadi khitosan menggunakan kondisi optimum

Prosedur kerja untuk reaksi deasetilasi khitin dari serbuk cangkang kepiting sama seperti pada kulit udang. Khitin dari cangkang kepiting sebanyak 17,9072 g (setelah sebagian digunakan untuk dikarakterisasi dengan FTIR), dideasetilasi dengan menggunakan kondisi reaksi optimum (konsentrasi NaOH) yang diperoleh pada proses optimasi deasetilasi khitin dari kulit udang (prosedur diatas).

Pemurnian khitosan

Khitosan dilarutkan dalam NaOH dengan konsentrasi yang sesuai dengan yang digunakan dalam tahap deasetilasi, kemudian larutan dipisahkan lalu dinetralkan dengan HCl 7

N sampai pH 7,0 untuk mengendapkan kembali khitosan, kemudian disentrifugasi pada 2000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan khitosan murni, lalu supernatan dipisahkan dan endapan yang diperoleh dicuci dengan akuades, filtrat yang diperoleh diuji dengan larutan AgNO₃, bila sudah tidak terbentuk endapan putih maka sisa ion Cl yang terkandung sudah hilang. Kemudian padatan dikeringkan pada suhu 80°C selama 24 jam. Untuk menguji kemurniannya, maka khitosan yang telah kering dilarutkan dalam larutan asam asetat 2% dengan perbandingan 1:100 (b/v) antara khitosan dengan pelarut. Khitosan dikatakan mempunyai kemurnian yang tinggi bila larut dalam larutan asam asetat 2% tersebut (Mukherjee, 2001).

Karakterisasi khitin dan khitosan

Khitin dan khitosan yang diperoleh dari kulit udang dan cangkang kepiting

dikarakterisasi dengan spektrofotometer fourier transform inframerah (FTIR).

Penentuan derajat deasetilasi

Derajat deasetilasi ditentukan untuk mengetahui seberapa besar khitin yang sudah berubah menjadi khitosan. Derajat deasetilasi khitin dan khitosan ditentukan berdasarkan rumus :

$$DD = 100 - [\{ (A_{1654,6} / A_{3441,2}) \times 100 \} / 1,33]$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Khitin dari Kulit Udang dan Cangkang Kepiting

Hasil perhitungan rendemen serta pengamatan terhadap tekstur senyawa khitin yang dihasilkan dari kedua sampel ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen dan tekstur senyawa khitin

| Sampel awal | Berat sampel (g) | Khitin yang diperoleh (g) | Rendemen khitin (%) | Tekstur khitin |
|--------------------|-------------------------|----------------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Kulit udang | 300,0000 | 105,5113 | 35,17 | Serbuk putih krem |
| Cangkang kepiting | 100,0000 | 20,9072 | 20,91 | Serbuk putih krem |

Isolasi khitin dari kulit udang menghasilkan rendemen di atas 20%, ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Matheis dkk. (2006), yaitu rendemen khitin dari kulit udang sebesar 35,61%, sementara rendemen khitin yang diperoleh dari cangkang kepiting sebesar 20,91%, ini sesuai dengan literatur dimana kepiting mengandung khitin sebesar 18,70-32,90% (Marganov, 2003).

Rendemen khitin dari cangkang kepiting lebih sedikit dibandingkan kulit udang, oleh karena kandungan mineral cangkang kepiting 53,70-78,40% lebih besar dibandingkan dengan kandungan mineral kulit udang 45-50% (Marganov, 2003). Terjadinya proses pemisahan mineral ditunjukkan dengan terbentuknya gas CO₂ berupa gelembung udara pada saat larutan HCl ditambahkan ke dalam sampel (Hendry, 2008). Cangkang kepiting mengandung lebih banyak mineral, ditunjukkan dengan

terbentuknya banyak sekali gelembung udara pada saat penambahan HCl ke dalam sampel, sehingga penambahan HCl dilakukan secara bertahap agar sampel tidak meluap. Sedangkan pada kulit udang, gelembung udara yang terbentuk relatif lebih sedikit. Reaksi yang terjadi adalah :



Pada penelitian Ernawati, rendemen khitin yang diperoleh hanya sebesar 9,54% (Ernawati, 2008). Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada proses demineralisasi menggunakan HCl 1,5 M tidak disertai dengan pemanasan dan proses hanya 1 jam. Sementara pada penelitian ini, demineralisasi dilakukan dengan menggunakan HCl 1,5 M selama 4 jam pada suhu 70-80°C, ini membuktikan bahwa suhu dan waktu reaksi sangat berpengaruh

terhadap rendemen khitin yang diperoleh. Faktor lain yang berpengaruh terhadap jumlah rendemen khitin adalah urutan tahap pembuatan khitin, isolasi khitin dilakukan melalui dua tahap, yaitu proses demineralisasi dan deproteinasi. Pada penelitian Ernawati (2008), isolasi khitin dilakukan melalui tahap deproteinasi dilanjutkan dengan tahap demineralisasi. Pada penelitian ini, tahap demineralisasi dilakukan terlebih dahulu kemudian dilanjutkan dengan tahap deproteinasi. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Alamsyah yang menyatakan bahwa isolasi khitin melalui tahap demineralisasi-deproteinasi menghasilkan rendemen yang lebih banyak dibandingkan dengan tahap isolasi khitin melalui tahap deproteinasi- demineralisasi (Alamsyah, ET AL.,

2007). Ini dikarenakan mineral membentuk *shield* (pelindung) yang keras pada kulit udang dan cangkang kepiting, pada umumnya mineral lebih keras dibandingkan protein, sehingga dengan menghilangkan mineral terlebih dahulu, pada tahap deproteinasi basa dapat lebih optimal menghilangkan protein, karena pelindung yang terbuat dari mineral telah hilang.

Khitin yang diperoleh dari hasil isolasi kulit udang dan cangkang kepiting dianalisis dengan spektrofotometer FTIR untuk mengetahui gugus fungsi utama yang ada pada khitin serta membandingkannya dengan spektra khitin literatur. Hasil analisis spektra FTIR ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis gugus fungsi khitin dari kulit udang dan cangkang kepiting hasil isolasi

| Gugus fungsi | Bilangan gelombang (cm^{-1}) | | |
|-----------------|---|-------------------------|-------------------------------|
| | Khitin literatur | Khitin dari kulit udang | Khitin dari cangkang kepiting |
| OH | 3448 | 3448,72 | 3448,72 |
| N-H ulur | 3300-3250 | 3263,56 | 3271,27 |
| C-H ulur | 2891,1 | 2885,51 | 2895,51 |
| C=O ulur | 1680-1660 | 1662,14 | 1662,31 |
| N-H bengkakan | 1560-1530 | 1558,48 | 1558,48 |
| CH ₃ | 1419,5 | 1419,61 | 1419,61 |
| C-O-C | 1072,3 | 1072,42 | 1072,42 |
| N-H kibasan | 750-650 | 694,37 | 693,51 |

Hasil isolasi khitin dari kulit udang dan cangkang kepiting dikarakterisasi gugus fungsinya dengan FTIR. Spektra FTIR untuk khitin kulit udang dan cangkang kepiting memperlihatkan pola serapan yang muncul pada panjang gelombang yang sama yaitu 3448,72 cm^{-1} menunjukkan vibrasi OH yang melebar. Vibrasi ulur N-H pada 3263,56 cm^{-1} (tajam) pada kulit udang, sedangkan pada cangkang kepiting vibrasi ulur N-H pada 3271,27 cm^{-1} (tajam). Serapan lainnya yaitu pada 2885,51 cm^{-1} pada kulit udang dan 2895,51 cm^{-1} pada cangkang kepiting merupakan uluran C-H alifatik yang menyatu pada pita uluran OH sama seperti uluran N-H. Vibrasi ulur C=O pada 1662,14 cm^{-1} pada kulit udang dan 1662,31 cm^{-1} pada cangkang kepiting, sedangkan untuk vibrasi tekuk N-H muncul pada bilangan gelombang 1558,48 cm^{-1} baik pada kulit udang maupun

cangkang kepiting. Serapan CH₃ dari khitin kulit udang dan cangkang kepiting pada 1419,61 cm^{-1} . Adanya serapan pada 1072,42 cm^{-1} pada khitin kulit udang dan cangkang kepiting menunjukkan vibrasi C-O-C dalam cincin khitin dan memunculkan banyak puncak karena hidroksida dari khitin mengandung ikatan tunggal C=O. Vibrasi kibasan N-H pada 694,37 cm^{-1} pada kulit udang dan 693,51 cm^{-1} pada cangkang kepiting.

Pada proses pembuatan khitin, ada sebagian khitin yang sudah berubah menjadi khitosan sehingga khitin yang diperoleh tidak murni senyawa khitin, akan tetapi sudah tercampur bersama khitosan. Hal ini dapat diketahui dari derajat deasetilasi khitin. Berdasarkan perhitungan Domszy dan Roberts, derajat deasetilasi (DD) khitin dari kulit udang sebesar 30,12% sementara derajat deasetilasi khitin dari cangkang kepiting sebesar 27,44%.

Hasil ini sesuai dengan Bastaman, bahwa khitin adalah suatu polimer N-asetil glukosamin yang sedikit terdeasetilasi yaitu lebih besar dari 25% dan lebih kecil dari 70% (Bastaman, 1989). Derajat deasetilasi khitin dari kulit udang dan cangkang kepiting, ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Derajat deasetilasi khitin

| Sampel | Derajat deasetilasi khitin (%) |
|-------------------|--------------------------------|
| Kulit udang | 30,12 |
| Cangkang kepiting | 27,44 |

Optimasi Deasetilasi Khitin menjadi Khitosan

Optimasi konsentrasi NaOH pada suhu dan waktu reaksi yang konstan

Khitin hasil deproteinasi dibagi menjadi tiga bagian dengan berat yang sama, kemudian

dideasetilasi dengan menambahkan NaOH pekat konsentrasi 50, 55, dan 60% pada tiap bagian khitin dengan perbandingan 1:20 (b/v) antara khitin dengan pelarut. Campuran diaduk dan dipanaskan pada suhu 120°C selama 4 jam. Kondisi ini digunakan karena struktur sel-sel khitin yang tebal dan kuatnya ikatan hidrogen intramolekul antara atom hidrogen pada gugus amin dan atom oksigen pada gugus karbonil. Proses deasetilasi dalam basa kuat panas menyebabkan hilangnya gugus asetil pada khitin melalui pemutusan ikatan antara karbon pada gugus asetil dengan nitrogen pada gugus amin. Setelah tahap deasetilasi selesai dilanjutkan dengan proses pemurnian hingga menjadi serbuk khitosan murni yang dapat diaplikasikan lebih luas dalam berbagai bidang.

Hasil perhitungan rendemen, derajat deasetilasi, serta pengamatan terhadap tekstur khitosan murni yang dihasilkan dari variasi konsentrasi NaOH pada proses deasetilasi ditampilkan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Rendemen, derajat deasetilasi, dan tekstur senyawa khitosan dari kulit udang hasil optimasi konsentrasi NaOH pada proses deasetilasi

| Asal sampel | Berat sampel (g) | Khitosan yang diperoleh (g) | Rendemen khitosan (%) | Derajat deasetilasi khitosan (%) | Tekstur khitosan |
|-------------------------------------|------------------|-----------------------------|-----------------------|----------------------------------|-------------------|
| Khitin A ₁ (NaOH 50%) | 17,0500 | 8,5936 | 50,40 | 74,66 | Serbuk putih krem |
| Khitin A ₂ (NaOH 55%) | 17,0500 | 8,6306 | 50,62 | 77,25 | Serbuk putih krem |
| Khitin A ₃ (NaOH 60%) | 17,0500 | 9,3609 | 54,90 | 88,04 | Serbuk putih krem |

Hasil optimasi deasetilasi khitin menjadi khitosan dari kulit udang berdasarkan variasi konsentrasi NaOH, menunjukkan bahwa pada khitin dari kulit udang A₃ yang menggunakan konsentrasi NaOH 60% menghasilkan rendemen dan derajat deasetilasi khitosan yang paling tinggi yaitu berturut-turut sebesar 54,90 dan 88,04%. Pada khitin dari kulit udang A₁ dan A₂ rendemen dan derajat deasetilasi yang dihasilkan lebih rendah yaitu berturut-turut 50,40 dan 74,66% serta 50,62 dan 77,25%. Hal ini menunjukkan bahwa pada proses deasetilasi menggunakan suhu konstan 120°C, konsentrasi NaOH 60% lebih efektif dibandingkan dengan

konsentrasi 50 dan 55%. Pada penggunaan NaOH 60%, gugus asetil dapat lebih banyak dihilangkan melalui pemutusan ikatan antara karbon pada gugus asetil dengan nitrogen pada gugus amin dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah. Hal ini membuktikan bahwa semakin besar konsentrasi zat-zat yang bereaksi, makin cepat reaksinya berlangsung, ini berarti, semakin besar konsentrasi semakin banyak zat-zat yang bereaksi, karena semakin besar kemungkinan terjadinya tumbukan, dengan demikian semakin besar pula kemungkinan terjadinya reaksi (Habibi, 2008).

Semakin banyak gugus asetil yang dapat dihilangkan maka semakin tinggi nilai derajat deasetilasinya. Menurut Revol dan Marchessault (1997), khitosan dengan derajat deasetilasi 70-90% dinamakan khitosan pasaran. Menurut Tomasetti dan Ilari (1995), kualitas khitosan ditentukan berdasarkan derajat deasetilasinya, sehingga dapat dibagi menjadi empat kriteria yaitu lebih kecil dari 80%, antara 80-85%, antara 85-90% dan di atas 90% (Ernawati, 2008).

Salah satu cara pengujian kemurnian khitosan adalah dengan cara melarutkannya dalam larutan asam asetat 2% dengan perbandingan 1:100 (b/v) antara khitosan dengan pelarut. Ketiga khitosan diuji kemurniannya dan

hasilnya adalah ketiga khitosan larut sempurna dalam larutan asam asetat 2%, hal ini menunjukkan bahwa khitosan telah murni atau kelarutannya dalam air sebesar 98% (Mukherjee, 2001).

Khitosan kulit udang yang diperoleh dari proses optimasi deasetilasi khitin dengan variasi konsentrasi NaOH dianalisis dengan FTIR untuk mengetahui apakah khitin telah mengalami transformasi menjadi khitosan, yaitu dapat dilihat dari gugus fungsi utamanya serta membandingkannya dengan spektra khitosan dari literatur. Hasil analisis spektra FTIR ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisis gugus fungsi khitosan dari kulit udang hasil optimasi konsentrasi NaOH pada proses deasetilasi

| Gugus fungsi | Bilangan gelombang (cm ⁻¹) | | | |
|--|--|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | Khitosan literatur | Khitosan A ₁ (NaOH 50%) | Khitosan A ₂ (NaOH 55%) | Khitosan A ₃ (NaOH 60%) |
| OH | 3450,0 | 3455,58 | 3449,72 | 3450,72 |
| N-H ulur | 3335,0 | 3334,79 | 3335,04 | 3337,21 |
| C-H ulur | 2891,1 | 2904,09 | 2894,09 | 2902,80 |
| NH ₂ guntingan, N-H bengkakan | 1655,0 | 1657,33 | 1653,64 | 1655,64 |
| CH ₃ | 1419,5 | 1419,89 | 1419,31 | 1419,18 |
| C-O-C | 1072,3 | 1070,14 | 1077,85 | 1072,42 |
| NH ₂ kibasan dan pelintiran | 850,0 - 750,0 | 820,52 | 810,32 | 824,11 |
| N-H kibasan | 715,0 | 715,37 | 714,83 | 715,24 |

Spektra FTIR memperlihatkan pola serapan yang muncul pada khitosan kulit udang A₁, A₂, dan A₃ berturut-turut 3455,58; 3449,72; dan 3450,72 cm⁻¹ menunjukkan vibrasi OH. Vibrasi ulur N-H pada 3334,79; 3335,04; dan 3337,21 cm⁻¹ (tajam). Serapan lainnya yaitu pada 2904,09; 2894,09; dan 2902,80 cm⁻¹ merupakan vibrasi ulur dari gugus C-H metilen. Vibrasi guntingan NH₂ dan bengkakan N-H pada 1657,33; 1653,64; dan 1655,64 cm⁻¹. Serapan CH₃ pada khitosan muncul pada 1419,89; 1419,31; dan 1419,18 cm⁻¹. Adanya serapan pada 1070,14; 1077,85; dan 1072,42 cm⁻¹ pada khitosan kulit udang menunjukkan vibrasi gugus C-O-C. Vibrasi kibasan N-H muncul pada 715,37; 714,83; dan 715,24 cm⁻¹. Perbedaan yang terjadi setelah tahap deasetilasi adalah tidak munculnya gugus C=O pada 1680-1660 cm⁻¹

yang menandakan hilang atau telah berkurangnya gugus C=O pada khitosan, serta munculnya serapan pada 820,52; 810,32; dan 824,11 cm⁻¹ yang merupakan vibrasi dari gugus kibasan dan pelintiran NH₂.

Deasetilasi Khitin menjadi Khitosan dari Cangkang Kepiting menggunakan Kondisi Optimum

Khitin hasil deproteinasi (dari tahap sebelumnya) dideasetilasi dengan menambahkan NaOH pekat dengan konsentrasi optimum 60% (yang didapat untuk kulit udang) dengan perbandingan 1:20 (b/v) antara khitin dengan pelarut. Campuran diaduk dan dipanaskan pada suhu 120°C selama 4 jam. Setelah proses

deasetilasi selesai, dilanjutkan dengan proses pemurnian hingga menjadi serbuk khitosan murni.

Hasil perhitungan terhadap rendemen, derajat deasetilasi, dan pengamatan terhadap

tekstur khitosan murni yang dihasilkan dari penggunaan kondisi konsentrasi NaOH optimum pada 120°C selama 4 jam disajikan dalam Tabel 6.

Tabel 6. Rendemen, derajat deasetilasi, dan tekstur senyawa khitosan dari cangkang kepiting

| Sampel | Berat sampel (g) | Khitosan yang diperoleh (g) | Rendemen khitosan (%) | Derajat deasetilasi khitosan (%) | Tekstur khitosan |
|-------------------------------|------------------|-----------------------------|-----------------------|----------------------------------|-------------------|
| Khitin dari cangkang kepiting | 17,9072 | 11,2386 | 62,76 | 88,53 | Serbuk putih krem |

Hasil optimasi deasetilasi khitin menjadi khitosan dari cangkang kepiting menggunakan konsentrasi NaOH optimum 60% pada suhu 120°C selama 4 jam menghasilkan rendemen dan derajat deasetilasi khitosan yang tinggi, yaitu berturut-turut 62,76 dan 88,53%. Hasil ini dikatakan baik karena memiliki rendemen diatas 50% dan derajat deasetilasi di atas 80%. Dibandingkan dengan khitosan dari kulit udang hasil optimasi (khitosan udang A₃), khitosan dari cangkang kepiting sedikit lebih besar rendemen maupun derajat deasetilasinya. Khitosan dari cangkang kepiting setelah diuji kemurniannya

dan hasilnya adalah khitosan dari cangkang kepiting larut sempurna dalam larutan asam asetat 2%, hal ini dikategorikan bahwa khitosan telah murni atau kelarutannya dalam air sebesar 98% (Mukherjee, 2001).

Khitosan cangkang kepiting dianalisis dengan spektrofotometer FTIR untuk mengetahui apakah khitin telah mengalami transformasi menjadi khitosan, yaitu dapat dilihat dari gugus fungsi utamanya serta membandingkannya dengan spektra khitosan literatur. Hasil analisis spektra FTIR ditampilkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil analisis gugus fungsi khitosan dari cangkang kepiting menggunakan kondisi optimum pada proses deasetilasi

| Gugus fungsi | Bilangan gelombang (cm ⁻¹) | |
|--|--|----------------------------|
| | Khitosan literatur | Khitosan cangkang kepiting |
| OH | 3450,0 | 3450,03 |
| N-H ulur | 3335,0 | 3334,89 |
| C-H ulur | 2891,1 | 2895,51 |
| NH ₂ guntingan, N-H bengkakan | 1655,0 | 1655,07 |
| CH ₃ | 1419,5 | 1420,33 |
| C-O-C | 1072,3 | 1077,85 |
| NH ₂ kibasana dan pelintiran | 850,0 - 750,0 | 854,97 |
| N-H kibasana | 715,0 | 716,03 |

Spektra FTIR memperlihatkan pola serapan yang muncul pada khitosan dari cangkang kepiting 3450,03 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi OH, sementara vibrasi ulur N-H

muncul pada 3334,89 cm⁻¹ (tajam) pada khitosan cangkang kepiting. Serapan lainnya yaitu pada 2895,51 cm⁻¹ merupakan vibrasi ulur dari gugus C-H metilen. Vibrasi guntingan NH₂ dan

bengkokan N-H pada 1655,07 cm^{-1} . Serapan CH_3 pada khitosan muncul pada 1420,33 cm^{-1} . Adanya serapan pada 1077,85 cm^{-1} pada khitosan cangkang kepiting menunjukkan vibrasi gugus C-O-C. Vibrasi kibanan N-H muncul pada 716,03 cm^{-1} . Perbedaan yang terjadi setelah tahap deasetilasi adalah tidak munculnya gugus C=O pada 1680-1660 cm^{-1} yang menandakan hilang atau telah berkurangnya gugus C=O pada khitosan, serta munculnya serapan pada 854,97 cm^{-1} pada khitosan cangkang kepiting yang merupakan vibrasi dari gugus kibanan dan pelintiran NH_2 .

Semua khitosan yang diperoleh dari hasil optimasi deasetilasi khitin dari kulit udang maupun cangkang kepiting memiliki rendemen diatas 50% dan derajat deasetilasi mulai dari yang terkecil 74,66% sampai yang terbesar 88,53%. Produk khitosan pasaran umumnya memiliki derajat deasetilasi antara 70-90%. Berdasarkan besar derajat deasetilasinya, khitosan hasil isolasi pada penelitian ini sudah memenuhi standar khitosan industrial.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Konsentrasi NaOH 60% merupakan konsentrasi optimum pada proses deasetilasi khitin dari kulit udang pada suhu 120°C selama 4 jam, yang menghasilkan khitosan dengan rendemen dan derajat deasetilasi yang paling besar yaitu, 54,90% dan 88,04% berurutan. Dengan menggunakan kondisi yang sama, proses deasetilasi khitin menjadi khitosan dari cangkang kepiting memberikan rendemen yang lebih baik yaitu sebesar 62,76% dengan derajat deasetilasi sebesar 88,53%.
2. Semua khitosan yang diperoleh dalam penelitian ini larut sempurna dalam larutan asam asetat 2% dengan perbandingan 1:100 (b/v) antara khitosan dengan pelarut, yang menunjukkan bahwa khitosan tersebut murni atau memiliki kelarutan dalam air sebesar 98%

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat beberapa hal menarik untuk diteliti lebih lanjut, antara lain :

1. Perlu dilakukan penelitian guna mempelajari pengaruh temperature dan waktu deasetilasi untuk meningkatkan rendemen dan derajat deasetilasi khitosan.
2. Perlu dilakukan penelitian tentang sifat fisik maupun sifat kimia khitosan hasil isolasi agar dapat dibandingkan dengan khitosan industrial yang memenuhi standar mutu nasional maupun internasional.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Bapak Dr. I Wayan Budiarsa Suyasa, M.Si., Ibu Dra. Emmy Sahara, M.Sc.(Hons), Ibu Rustini, S.Si., M.Si, atas masukan dan sarannya serta buat Widya Rani Hayuningtyas, S.Si. sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamsyah, Rizal, *et al.*, 2007, Pengolahan Khitosan Larut dalam Air dari Kulit Udang sebagai Bahan Baku Industri, <http://www.bbia.go.id/ringkasan.pdf>., 15 Desember 2007
- Anonim, 2002, Crab Printout, http://www.enchantedlearning/crab_printout. 27 November 2007
- Anonim, 2002, Shrimp Printout, http://www.enchantedlearning/shrimp_printout. 27 November 2007
- Anonim, 2007, Anatomi Kepiting, http://www.wikipedia.org/wiki/anatomi_kepiting., 27 November 2007
- Anonim, 2003, Riset Bioteknologi (Produksi Khitosan dan Derivatnya), <http://www.dkpri.co.id/riset/304-320>., 19 Januari 2008
- Anonim, 30 Nov. 2008, Laju Reaksi, http://www.wikipedia.org/wiki/laju_reaksi., 2 Maret 2009
- Anonim, 2007, Product Bannawac Bioline Chitin and Chitosan

- <http://www.bioline.co.th/en/product/glucosamine.php>., 8 juli 2008
- Bastaman, S., 1989, Studies on Degradation and Extaction of Chitin and Chitosan from Prawn Shelis, *Journal of Aeronautical and Chemical Engineering*, 2 (10) : 188-297
- Darmono, 1991, *Budi Daya Udang Panesius*, Kanesus, Yogyakarta
- Erkus, Apr. 17, 2003, Menggali Biopolimer Kelautan Indonesia, <http://www.cakrawala.com>., 27 November 2007
- Ernawati, Pt, 2008, Transformasi Khitin menjadi Khitosan dari Limbah Kulit Udang dan Cangkang Kepiting serta Aplikasinya sebagai Biomaterial Antibakteri dan Potensinya sebagai Antikanker, *Skripsi*, Universitas Udayana, Jimbaran
- Fessenden, R.J. and Fessenden, J.S., 1994, *Organic Chemistry*, 3th ed., a.b. Pudjatmaka, A.H., Erlangga, Jakarta
- Giwangkara S, EG., 2008, Spektrofotometer Infra Merah Transformasi Fourier (FTIR), http://id.wikipedia.org/wiki/Spektrofotometer_FTIR, 26 Februari 2008
- Habibi, Muhammad, 5 Jun. 2008, Kecepatan Reaksi, http://www.blogger/ilmu_pengetahuan_alam., 2 Maret 2009
- Hamsina, Noor, A., dan Budi, P., 2002, Optimalisasi Proses Ekstraksi Khitin dari Cangkang Kepiting dan Uji Kualitatif, *Journal Marina Chimica Acta*, 2(2) : 1-3
- Hendry, Jhon, 2008, Teknik Deproteinasi Kulit Rajungan (*Portunus pelagious*) secara Enzimatik dengan menggunakan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* untuk Pembuatan Polimer Kitin dan Deasetilasinya, <http://www.fmipa.unila.ac.id/prosiding2008>., 30 April 2009
- Krissetiana, Henny, Mei. 31, 2004, Khitin dan Khitosan dari Limbah Udang, <http://www.suaramerdeka.com/harian/ragam4htm>., 27 November 2007
- Kusumawati, Yuli, Jan. 26, 2006, Mengenal Lebih Dekat Kitosan, <http://www.pikiranrakyat.com>., 27 November 2007
- Larita, Kadek, 2006, Transformasi Khitin menjadi Khitosan serta Kemampuan Adsorpsinya terhadap Ion Pb(II) dalam Larutan, *Skripsi*, Universitas Udayana, Jimbaran
- Marganov, 2003, Potensi Limbah Udang sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium, dan Tembaga) di Perairan, http://rudyc.topcities.com/pp5702_71034/marganof.htm., 15 Desember 2007
- Matheis, T., Amos Killay., Meny, S., 2006, Khitosan dari Limbah Kulit Udang Windu (*Panaeus monodon*) sebagai Adsorben Fenol, *Journal Alchemy*, 5 (1) : 23-30
- Mukherjee, Debi P., Sept. 30, 2001, Method for Producing Chitin or Chitosan, <http://www.freepatentsonline.com/6310188.htm>., 7 Januari 2009
- Pasaribu, Nuraida, 2004, Berbagai Ragam Pemanfaatan Polimer, <http://www.fmipa.usu.ac.id/digital-library>, 15 Oktober 2008
- Prasetyo, Kurnia Wiji, Jul. 15, 2004, Pemanfaatan Limbah Cangkang Udang, <http://www.kompas.com>, 1 Desember 2007
- Reece, C., dan Mitchell, 2003, *Biologi*, Edisi kelima-jilid 2, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Rochima, Emma, 2007, Karakterisasi Khitin dan Khitosan dari Limbah Kepiting Cirebon Jawa Barat, <http://www.fmipa.unpad.ac.id/prosiding2007>. 10 April 2008
- Sastrohamidjojo, H., 1990, *Spektroskopi Inframerah*, Liberty, Yogyakarta
- Srijanto, B., dan Paryanto, I., Feb. 11, 2005, Pengaruh Suhu pada Pembuatan Khitosan Secara Kimiawi, <http://www.faperta.ugm.ac.id/semnaskan/abstrak/prosiding2005/abstrak/bidang.thp.php>., 27 November 2007
- Stuart, Barbara, 2003, *Infrared Spectroscopy : Fundamentals and Applications*, Wiley, Chichester, UK
- Sukardjo, 1985, *Kimia Fisika*, PT. Bina Aksara, Jakarta

- Tamveer, A. K., Peh, Kok Khiang., dan Ching, Hung Seng., 2002, Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan: The Influence of Analytical Methods, *Journal Pharmaceut Sci.*, 5(3) : 205-212
- Vogel, 1985, *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*, Edisi kelima, PT. Kalman Media Pusaka, Jakarta
- Weska, R. F., dan Moura, J. M., 2006, Optimazion of Deasetylation in the Production of Chitosan from Shrimp Waste, *Journal Food Engineering*, 80 : 749-753
- Yurnaliza, Apr. 8, 2002, Senyawa Khitin dan Kajian Aktivitas Enzim Mikrobial Pendegradasinya, <http://www.fmipa.usu.ac.id/digital-library>, 14 Oktober 2007