

EKSTRAKSI KITOSAN DARI CANGKANG RAJUNGAN PADA LAMA DAN PENGULANGAN PERENDAMAN YANG BERBEDA

CHITOSAN EXTRACTION OF CRAB SHELL ON DIFFERENT TIME AND REPETITION SOAKING

Djaenudin^{1,2}, Emil Budianto², Endang Saepudin², Muhamad Nasir¹

¹Loka Penelitian Teknologi Bersih, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia

²Departemen Kimia, FMIPA, Universitas Indonesia

Korespondensi: 301070djaenudin@gmail.com

ABSTRACT

Research on making chitosan from small crab shells has been done by several researchers before. This study aims to determine the time priority and repetition of immersion in NaOH solution to increase the value of the degree of deacetylation of chitosan. Previously, chitin extracted from crab shells through two cups, namely deproteinization and demineralization. The process of deacetylation of chitin was done by varying the immersion time in the NaOH solution (2, 3, and 4) hours also repeated soaking 3, 4, and 5 times. The deacetylation process used 50% (w/v) NaOH solution involving chitin against 1:20 (w/v) NaOH solution at 120°C. The chitosan obtained was analyzed a functional group using FTIR and analyzed the degree of deacetylation (DD) using the titration method. Chitin obtained as much as 12,4% from small crab shell flour. The greatest (best) deacetylation degree of chitosan was obtained during the 4 hours deacetylation process and the number of deacetylation repetitions 5 times with DD of 44,26% and the yield of chitosan 83%. The length of soaking time in NaOH solution was the most determining factor for the value of the deacetylation degree of chitosan produced.

Keywords: chitin, chitosan, deacetylation degree

ABSTRAK

Penelitian mengenai pembuatan kitosan dari cangkang rajungan telah dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh waktu dan pengulangan perendaman dalam larutan NaOH terhadap kenaikan nilai derajat deasetilasi kitosan. Sebelumnya dilakukan ekstraksi kitin dari cangkang rajungan melalui dua tahap, yaitu deproteinasi dan demineralisasi. Proses deasetilasi terhadap kitin dilakukan dengan variasi waktu perendaman dalam larutan NaOH (2, 3, dan 4) jam serta dilakukan pengulangan perendaman 3, 4, dan 5 kali. Proses deasetilasi menggunakan larutan NaOH 50% (b/v) dengan perbandingan kitin terhadap larutan NaOH sebesar 1:20 (b/v) pada suhu 120°C. Kitosan yang diperoleh kemudian dianalisis gugus fungsi menggunakan FTIR dan dianalisis Derajat Deasetilasi (DD) dengan metode titrasi. Kitin yang diperoleh sebanyak 12,4% dari tepung cangkang rajungan. Derajat Deasetilasi kitosan terbesar (terbaik) didapatkan pada waktu proses deasetilasi selama 4 jam dan jumlah pengulangan deasetilasi sebanyak 5 kali dengan DD sebesar 44,26% dan rendemen kitosan 83%. Lamanya waktu perendaman dalam larutan NaOH merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap nilai derajat deasetilasi kitosan yang dihasilkan.

Kata kunci: derajat deasetilasi, kitin, kitosan

PENDAHULUAN

Negara Indonesia merupakan negara yang memiliki potensi sebagai penghasil kitin secara berlimpah, dimana kitin tersebut dihasilkan dari hewan bercangkang invertebrata laut berkulit keras atau biasa disebut dengan *crustacea*. Salah satu hewan tersebut adalah rajungan. Rajungan merupakan hewan invertebrata laut berkulit keras (*crustacea*) yang memiliki nilai ekonomis cukup tinggi dan menjadi komoditas penting bagi negara Indonesia khususnya dalam sektor perikanan. Dalam industri rajungan biasanya industri hanya melakukan pengambilan daging rajungan saja dan membuang cangkang rajungan. Hasil samping pengolahan daging rajungan ialah berupa 57% limbah cangkang (kulit dan kepala) (Hastuti *et al.* 2012). Limbah ini belum dimanfaatkan secara baik dan berdaya guna, bahkan sebagian besar merupakan buangan yang dapat mencemari lingkungan (Rochima 2007).

Pemanfaatan limbah cangkang rajungan dapat mengurangi potensi cemaran lingkungan dan dapat membuat nilai tambah bagi limbah cangkang rajungan tersebut. Limbah cangkang rajungan masih mengandung senyawa kimia cukup banyak, diantaranya protein 30-40%, mineral (CaCO_3) 30-50%, dan kitin 20-30% (Amalia 2018). Cangkang rajungan mengandung kitin yang berpotensi untuk dikembangkan, dimana kitin tersebut dapat diolah kembali menjadi kitosan. Kitin merupakan polimer berantai lurus tersusun atas residu N-asetil glukosamina melalui ikatan β -(1, 4). Kitin dapat diubah menjadi kitosan melalui proses deasetilasi menggunakan basa kuat. Perlakuan ini mengakibatkan terlepasnya ikatan N-asetil, sehingga mengubah satu N-asetil glukosamin menjadi glukosamin (Tobing *et al.* 2011). Kitin yang disintesis menjadi kitosan dengan cara merubah gugus asetamida ($-\text{NHCOCH}_3$) pada kitin menjadi gugus amina ($-\text{NH}_2$) (Terbojevich dan Muzzarelli 2000). Reaksi penghilangan gugus asetil pada kitin disebut transformasi kitin menjadi kitosan. Transformasi kitin menjadi kitosan digunakan basa kuat konsentrasi tinggi (Bastaman 1989). Kitosan mempunyai sifat spesifik antara lain sebagai bahan bioaktif, biokompatibel, pengkelat, anti bakteri, dan dapat terbiodegradasi (Ramadhan 2010). Kitosan dapat bermanfaat dalam aplikasi yang cukup luas,

yaitu sebagai pengawet hasil perikanan dan penstabil warna produk pangan, sebagai flokulan dan membantu proses *reverse osmosis* dalam penjernihan air, aditif untuk produk agrokimia dan pengawet benih (Muzzarelli *et al.* 1997; Shahidi 1999; Ibrahim *et al.* 2009; Yuliusman dan Adelina 2010; Tanasale *et al.* 2011; Kurniasih *et al.* 2012; Widwastuti *et al.* 2013; Sabarudin *et al.* 2013; Ali *et al.* 2013; Rismiarti *et al.* 2013; Trisnawati *et al.* 2013; Darjito *et al.* 2014). Kualitas kitosan yang baik dipengaruhi oleh derajat deasetilasinya (Weska *et al.* 2007; Kurniasih dan Kartika 2011; Vani dan Stanley 2013; Bahri *et al.* 2015; Dompeipen *et al.* 2016).

Berikut ini beberapa hasil penelitian pembuatan kitosan. Deasetilasi kitin menggunakan NaOH 70% dengan perbandingan 1:20 (b/v) dan direfluks pada suhu 100°C selama 9, 16, dan 24 jam. Kitosan yang diperoleh berupa serbuk berwarna putih dengan persentase antara 29,25-46,25%. Nilai DD tertinggi 87,96% pada konsentrasi basa 70% ketika reaksi dikerjakan selama 24 jam (Sukma *et al.* 2014). Hasil penelitian lain deasetilasi kitin menggunakan NaOH 60% dengan perbandingan 1:15 (b/v) pada temperatur 120°C dan variasi waktu reaksi 1 x 3 jam, 2 x 3 jam, dan 3 x 3 jam. Hasil deasetilasi dianalisis menggunakan FTIR untuk menentukan derajat deasetilasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat deasetilasi meningkat seiring dengan peningkatan penambahan NaOH yaitu dengan 1 kali penambahan NaOH dalam waktu 3 jam menghasilkan derajat deasetilasi 79%, 2 kali penambahan NaOH dalam waktu 6 jam menghasilkan derajat deasetilasi 85,9%, dan 3 kali penambahan NaOH dalam waktu 9 jam menghasilkan derajat deasetilasi sebesar 89,95% (Bahri *et al.* 2015). Hasil penelitian lainnya, deasetilasi kitin menjadi kitosan dilakukan dengan NaOH 60%, perbandingan 1:20 (b/v) dan direaksikan dalam ekstraktor pada suhu $80-100^\circ\text{C}$ selama 1 jam. Kualitas kitosan yang dihasilkan larut sempurna dengan asam asetat 2%, rendemen 63%, dan derajat deasetilasi 83,25% (Dompeipen *et al.* 2016).

Tujuan penelitian ini adalah menentukan pengaruh waktu perendaman dalam larutan NaOH dan jumlah pengulangan perendaman dalam larutan NaOH pada proses deasetilasi guna menghasilkan kitosan dengan kualitas yang baik

METODE PENELITIAN

Preparasi bahan

Limbah cangkang rajungan diperoleh dari LSM POKMASWAS MINA CITRA LESTARI Kecamatan Gunung Jati Kabupaten Cirebon, dibawa ke laboratorium LPTB-LIPI dengan cara dikemas dalam *cool box*. Selanjutnya cangkang rajungan dibersihkan terlebih dahulu dari sisa kotoran yang masih menempel pada cangkang, setelah itu cangkang rajungan dikeringkan di bawah sinar matahari selama 2 hari.

Ekstraksi kitin

Cangkang yang telah dibersihkan dihaluskan menggunakan mortar dan blender kemudian diayak menggunakan *laboratory test Sieve (Retsch)* dengan ukuran saringan No. 200 mesh. Serbuk cangkang rajungan 200 g diekstraksi kitin yang didahului proses deproteinasi menggunakan NaOH 0,3 M dengan perbandingan 1:15 (b/v) selama 1 jam pada suhu 80°C. Proses ekstraksi dilakukan 3 kali. Hasil deproteinasi disaring dan residu dicuci dengan akuades sampai pH netral dan dikeringkan, kemudian dilanjutkan proses demineralisasi menggunakan HCl 0,55 M dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 1 jam kondisi suhu ruang serta dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali (Suhardi 1993). Hasil demineralisasi disaring dan residu dicuci dengan akuades hingga pH netral dan dikeringkan. Kitin yang dihasilkan diproses kembali untuk dijadikan kitosan. Kitin yang didapatkan dianalisis gugus fungsi dan morfologi menggunakan spektrofotometri FTIR dan SEM.

Deasetilasi

Kitin yang telah diperoleh dilanjutkan dengan proses deasetilasi menggunakan NaOH 50% dengan perbandingan 1:20 (b/v) pada suhu 120°C. Proses deasetilasi dilakukan dengan variasi lama perendaman

2, 3, dan 4 jam serta dilakukan variasi jumlah pengulangan 3, 4, dan 5 kali, sehingga dilakukan 9 percobaan dengan percobaan seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Hasil deasetilasi kemudian disaring dan residu dicuci dengan akuades hingga pH netral dan dikeringkan. Masing-masing kitosan yang didapatkan dianalisis gugus fungsi dan bentuknya menggunakan FTIR dan SEM, serta diukur derajat deasetilasi menggunakan metode titrasi. Kitosan tersebut mula-mula dilarutkan dalam HCl encer. Setelah kitosan larut, kemudian dititrasi menggunakan NaOH 0,1 M. Setiap penambahan 0,5 mL NaOH kemudian diukur pH larutan dan dibuat grafik volume NaOH (sebagai sumbu x) terhadap pH (sebagai sumbu y). Di dalam grafik tersebut didapatkan dua titik belok (*two inflection*) dimana titik pertama (V1) adalah titik penetralan HCl sedangkan titik yang kedua (V2) merupakan titik ion amonium dari kitosan. Nilai derajat deasetilasi selanjutnya ditentukan menggunakan persamaan berikut ini (Gupta dan Jabrail 2006).

$$DD = \frac{203 Q}{1 + 42 Q}$$

Q didefinisikan dalam persamaan berikut, V1 dan V2 (mL) adalah selisih volume titrasi antara dua titik infleksi, m (g) adalah massa sampel kitosan, dan N adalah normalitas larutan NaOH yang digunakan dalam titrasi.

$$Q = N \frac{V2 - V1}{m}$$

Rancangan percobaan dan analisis data

Percobaan dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap faktorial. Datanya diolah menggunakan *Response Surface Methodology (RSM)* melalui *software Minitab*. Percobaan dilakukan 3 kali ulangan. Data disajikan dalam tabel dan gambar.

Tabel 1. Variasi percobaan proses deasetilasi kitin

		Waktu Deasetilasi (jam)		
		2	3	4
Pengulangan (Kali)	3	D1	D2	D3
	4	D4	D5	D6
	5	D7	D8	D9

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi kitin

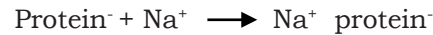
Proses ekstraksi kitin dilakukan menggunakan tepung rajungan yang telah dibuat sebanyak 200 gram. Ekstraksi kitin dilakukan melalui 2 tahap, yaitu proses penghilangan protein (deproteinasi) dan dilanjutkan proses penghilangan mineral (demineralisasi).

Hasil pada tahap deproteinasi

Proses deproteinasi merupakan proses penghilangan protein dari cangkang rajungan. Prinsip proses deproteinasi adalah melepaskan ikatan-ikatan antara protein dan kitin. Proses deproteinasi dilakukan dengan perlakuan menggunakan larutan NaOH panas dalam waktu relatif lama dimana dengan perlakuan tersebut protein akan terlepas dan membentuk natrium proteinat yang larut (Suhardi 1993). Kandungan protein dalam cangkang akan berikatan secara kovalen dengan kitin tetapi terdapat juga protein yang berikatan secara fisik yaitu protein dari sisa-sisa daging yang menempel pada matriks cangkang yang jumlahnya bervariasi (Suhardi 1993). Pada proses deproteinasi, filtrat yang dihasilkan memiliki warna yang berbeda dalam setiap tahap pengulangannya dan memiliki massa 195 g (dari 200 g tepung cangkang rajungan). Warna yang dihasilkan dalam pengulangan pertama memiliki warna yang lebih pekat sedangkan pengulangan kedua dan ketiga warna semakin berkurang seperti ditunjukkan Gambar 1.

Hal ini menunjukkan bahwa kadar protein setelah pengurangan tahap deproteinasi terus berkurang dan ditandai dengan perubahan warna. Hilangnya kandungan protein ditandai dengan berkurangnya intensitas warna larutan menjadi lebih bening (tidak berwarna) pada filtrat di akhir perlakuan (Abdou *et al.* 2008; Rhazi *et al.* 2000; Tolaimate *et al.* 2003). Kadar protein cangkang rajungan hasil percobaan sebanyak 2,5%.

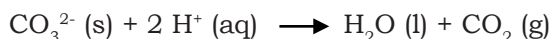
Larutan NaOH dalam air akan terionisasi menjadi kation Na^+ dan anion OH^- . Kation Na^+ bereaksi dengan protein. Kation Na^+ dari larutan NaOH akan mengikat ujung rantai protein yang bermuatan negatif sehingga mengendap. Protein yang telah terekstrak oleh NaOH adalah dalam bentuk Na-proteinat.



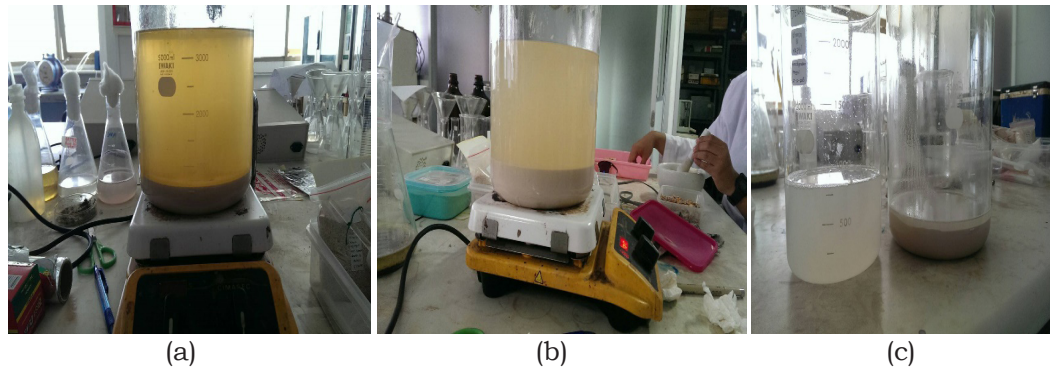
Hasil pada tahap demineralisasi

Proses demineralisasi berfungsi untuk menghilangkan kandungan mineral yang terdapat di dalam cangkang rajungan. Sebagian besar kandungan mineral yang terdapat pada limbah cangkang rajungan berupa kalsium karbonat, dan sebagian kecil berupa kalsium fosfat. Keberadaan kedua jenis mineral tersebut sangat dipengaruhi oleh habitat tempat hidupnya (Rochima 2007). Kalsium karbonat lebih mudah dipisahkan dibandingkan protein dikarenakan garam-garam anorganik hanya terikat secara fisik (Knorr 1984).

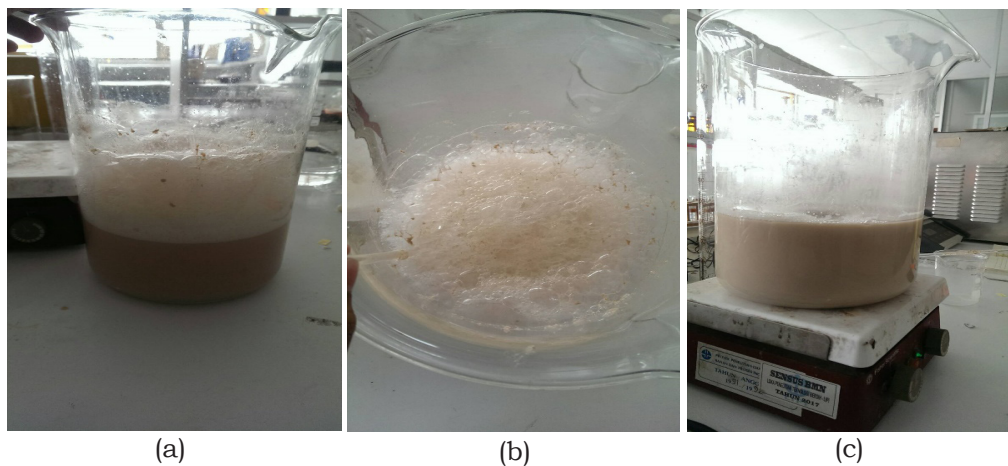
Demineralisasi pada umumnya dilakukan dengan larutan HCl atau asam lain seperti H_2SO_4 pada kondisi tertentu (Johnson dan Peniston 1982), akan tetapi larutan HCl lebih efektif sebesar 10% dibandingkan larutan H_2SO_4 (Knorr 1984). Proses pengulangan dibutuhkan karena proses pengulangan (*successive steps*) dinilai jauh lebih efektif dalam melarutkan mineral dibandingkan *continuous process* (Tolaimate *et al.* 2003). Selama proses demineralisasi, senyawa kalsium akan bereaksi dengan asam klorida yang larut dalam air (Bastaman 1989). Protein, lemak, fosfor, magnesium, dan besi turut terbuang dalam proses ini. Reaksi yang terjadi dari proses demineralisasi dengan terbentuknya buih sebagai berikut (Tolaimate *et al.* 2003):



Filtrat sisa proses deproteinasi sebanyak 195 g diproses demineralisasi menghasilkan 24,76 g kitin (kadar mineral 85,12%). Dalam setiap pengulangan proses demineralisasi, buih yang terbentuk semakin berkurang, hal ini menjadi penanda bahwa setiap pengulangan kandungan mineral semakin berkurang seperti ditunjukkan Gambar 2. Berkurangnya gas CO_2 menjadi indikator penting hilangnya mineral (Abdou *et al.* 2008). Filtrat dicuci hingga pH netral. Proses pencucian dilakukan untuk mencegah terjadinya kerusakan (pemutusan rantai) selama pengeringan yang disebabkan oleh berdifusinya asam dalam kisi-kisi kristal atau berdisosiasinya asam dengan asam amino bebas dan residu protein (Johnson dan Peniston 1982).



Gambar 1. Proses deproteinasi. (a) Tahap 1, (b) Tahap 2, dan (c) Tahap 3



Gambar 2. (a) Pembentukan buih, (b) Tampak atas, (c) Buih yang terbentuk sudah mulai berkurang

Karakterisasi kitin

Kitin yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi atau diidentifikasi gugus fungsi menggunakan FTIR. Spektra FTIR kitin ditunjukkan pada Gambar 3. Bilangan gelombang dan prediksi gugus yang terdapat pada kitin disajikan pada Tabel 2.

Karakteristik pita untuk kitin *P. pelagicus* diamati pada 3433 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi OH yang melebar; $3255,71\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi ulur N-H (NHCOCH_3 , amida II); $2890,07\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya uluran C-H alifatik; $1620,94$ menunjukkan tekukan N-H; $1552,77\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan tekukan N-H (NHCOCH_3 , amida I); $1376,55\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi tekukan C-H dan tekukan O-H; $1154,04$, $1112,59$ dan $1070,74\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi uluran C-O, uluran C-N, dan uluran C-C.

Serapan di sekitar bilangan gelombang 3433 cm^{-1} yang cukup lebar terjadi akibat adanya tumpang tindih antara serapan $-\text{NH}_2$ dan $-\text{OH}$ (Purnawan *et al.* 2009). Gugus amina memiliki serapan yang

lebih kecil dibandingkan gugus hidroksida yang melebar. Hal ini dikarenakan amina memiliki ikatan hidrogen yang lebih lemah dan sebagian karena ikatan N-H kurang polar (Supratman 2010).

Pengaruh variasi lama perendaman dalam larutan NaOH dan jumlah pengulangan perendaman dalam proses deasetilasi

Ekstraksi kitosan dilakukan dengan menggunakan bahan kitin sebanyak 2 g. Pembuatan kitosan dilakukan dengan cara merendamnya dalam larutan NaOH pekat (50%). Jumlah kitosan yang dihasilkan berdasarkan perlakuan yang diberikan disajikan pada Gambar 4.

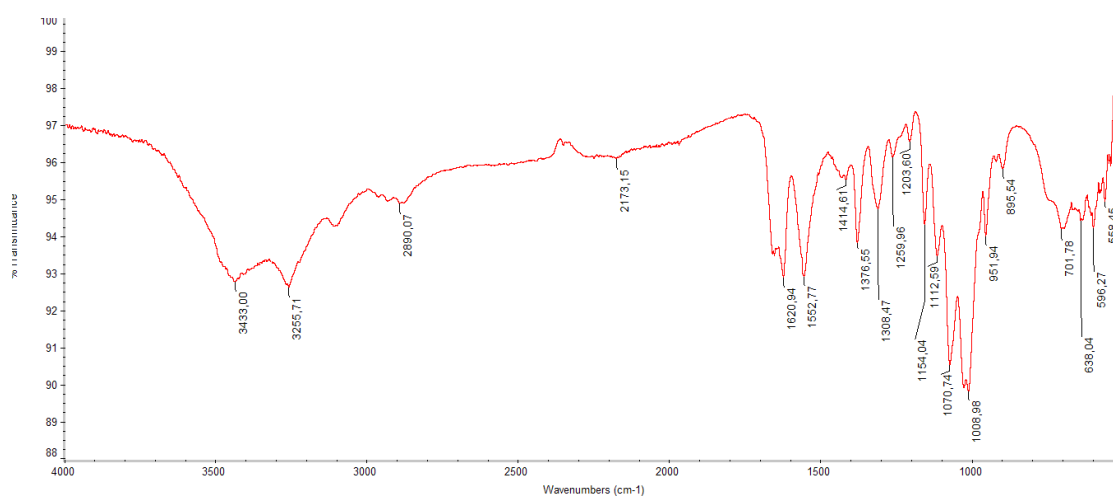
Gambar 4 (b) menunjukkan bahwa jumlah kitosan tertinggi sebesar 1,66 g (83%) diperoleh pada kombinasi perlakuan waktu deasetilasi 2 jam 3 kali pengulangan, sedangkan jumlah kitosan terendah sebesar 0,55 g (27,5%) diperoleh pada variasi percobaan waktu deasetilasi 4 jam 5 kali pengulangan. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu proses deasetilasi

maka semakin rendah jumlah kitosan yang dihasilkan. Hal ini terjadi karena pada waktu deasetilasi yang paling lama, jumlah asetil yang dikeluarkan dari kitin semakin banyak.

Kitin yang didapatkan kemudian dilakukan proses deasetilasi menggunakan variasi waktu perendaman dalam larutan NaOH dan jumlah pengulangan perendaman. Proses deasetilasi merupakan proses penghilangan gugus asetil pada kitin menjadi amina. Deasetilasi menggunakan larutan NaOH dengan konsentrasi 50%. Konsentrasi NaOH akan mempengaruhi laju deasetilasi. Semakin tinggi konsentrasi

NaOH yang digunakan, laju deasetilasi akan semakin cepat. Hal ini disebabkan gugus fungsional amino ($-NH_3^+$) yang mensubstitusi gugus asetil kitin dalam sistem larutan semakin aktif, maka semakin sempurna proses deasetilasi (Arluis 1991).

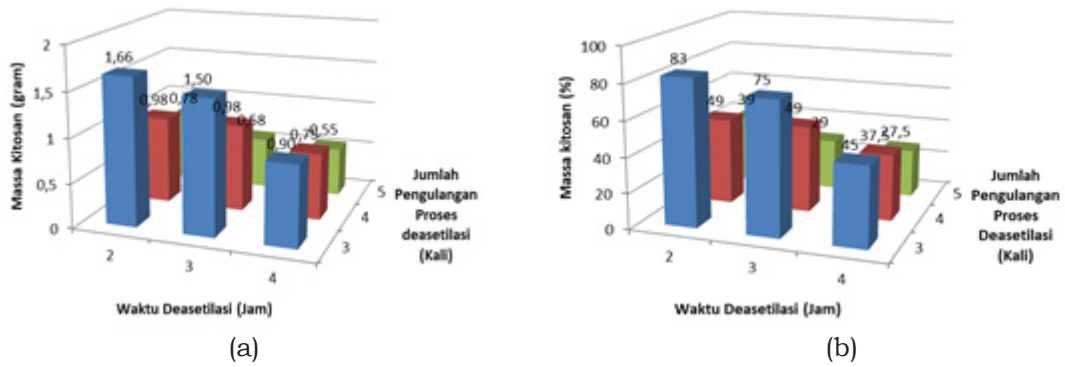
Deasetilasi akan berlangsung mulai dari permukaan kitin, lalu memasuki wilayah amorf dari kitin dan secara bertahap deasetilasi terjadi sampai ke wilayah kristalin kitin (Chang *et al.* 1997). Gambar 5 berikut merupakan hasil FTIR kitosan yang telah diperoleh pada variasi percobaan 4 jam perendaman dan 5 kali pengulangan.



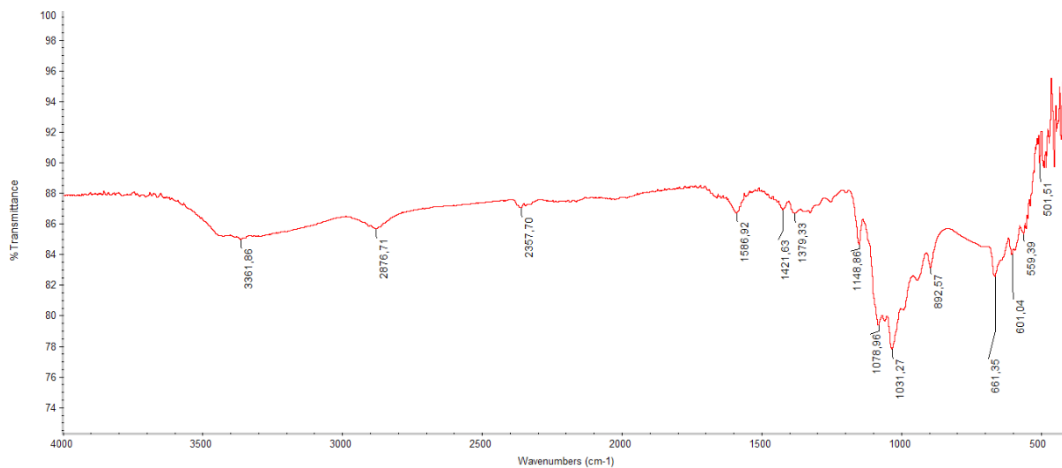
Gambar 3. Spektra FTIR kitin

Tabel 2. Bilangan gelombang dan gugus yang terdapat pada kitin

Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Prediksi Gugus (Supratman 2010)
3433	Uluran O-H dan uluran N-H
3255,71	Uluran C-H
2890,07	Regangan C-H alifatik
1620,94	Uluran C=O, uluran C=N, uluran C=C, dan tekukan N-H
1552,77	Tekukan N-H
1376,55	C-H alkil
1308,47	Tekukan O-H
1154,04	Uluran C-O, Uluran C-N, dan Uluran C-C
1112,59	Uluran C-O, Uluran C-N, dan Uluran C-C
1070,74	Uluran C-O, Uluran C-N, dan Uluran C-C



Gambar 4. Jumlah kitosan yang dihasilkan, (a) Massa kitosan, (b) Persen berat kitosan



Gambar 5. Spektra FTIR kitosan dengan variasi 4 jam proses deasetilasi dan 5 kali pengulangan proses deasetilasi

Perbedaan yang terjadi setelah tahap deasetilasi pada kitin adalah tidak munculnya gugus C=O pada 1680-1660 cm⁻¹ dan munculnya serapan pada 900-750 cm⁻¹ dalam spektrum kitosan yang menunjukkan *wagging* dan *twisting* NH₂ (Puspawati dan Simpen 2010). Karakteristik kitosan *P. pelagicus* diamati pada bilangan gelombang 3361,86cm⁻¹ yang menunjukkan vibrasi O-H; adanya serapan di 2876,71 cm⁻¹ menunjukkan vibrasi ulur dari gugus C-H; tidak munculnya gugus C=O pada 1680-1660 cm⁻¹ menunjukkan berkurangnya gugus C=O amida; munculnya serapan di 892,57 cm⁻¹ menunjukkan adanya *wagging* dan *twisting* NH₂ [8] ; 1148,86, 1078,96, dan 1031,27 cm⁻¹ menunjukkan vibrasi C-O-C. Panjang gelombang 1154,04, 1112,59, dan 1070,74 cm⁻¹ yang menunjukkan vibrasi uluran C-O, uluran C-N, dan uluran C-C hilang.

Pada spektrum kitosan *P. pelagicus* tidak terbentuk serapan pada bilangan gelombang 3433 dan 3255,71 cm⁻¹ serta semakin melebarnya puncak 3361,86 cm⁻¹

1. Hal ini menunjukkan bahwa gugus N-H (NHCOCH₃, amida II) telah berkurang atau hilang dan terjadi tumpang tindih serapan akibat gugus asetil yang terdeasetilasi membentuk amina (-NH₂). Gugus asetil yang tersubstitusi menjadi gugus amina semakin banyak maka kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen akan semakin besar (Purnawan *et al.* 2009).

Puncak serapan sekitar 1620,94 dan 1552,77 cm⁻¹ pada kitin yang semula *doublet* menjadi puncak *singlet* pada kitosan di 1586,92 cm⁻¹ dengan hilangnya puncak kecil pada serapan 1620,94 cm⁻¹. Perubahan *doublet* menjadi *singlet* disebabkan hilangnya salah satu tipe ikatan hidrogen karena banyaknya gugus asetil yang hilang tersubstitusi menjadi amina (Purnawan *et al.* 2009). Hal ini menyebabkan keteraturan polimer maupun antar unit polimer menurun sehingga salah satu tipe ikatan hidrogen lemah dan hilang.

Banyaknya gugus asetil yang terdeasetilasi menjadi gugus amina pada kitosan ditunjukkan dengan semakin

rendahnya intensitas puncak serapan gugus C=O (NHCOCH₃, amida I). Semakin rendahnya intensitas puncak serapan gugus C=O maka semakin tinggi pula derajat deasetilasi kitosan (Purnawan *et al.* 2009). Selain itu, semakin banyak gugus asetil yang lepas menyebabkan terjadinya pergeseran ke arah bilangan gelombang yang lebih kecil pada serapan gugus C=O (NHCOCH₃, amida I) menuju ke arah serapan (-NH₂, amina). Pergeseran menuju bilangan gelombang yang lebih kecil disebabkan oleh hilangnya C=O dan terbentuknya N-H (-NH₂). Ikatan C=O dari gugus asetil memiliki kekuatan yang lebih besar dibandingkan kekuatan ikatan N-H dari gugus amina (Purnawan *et al.* 2009). Berdasarkan hukum Hooke yang ditunjukkan oleh persamaan berikut ini, besarnya kekuatan ikatan berbanding lurus dengan energi vibrasi dan bilangan gelombang. Sehingga bergesernya 1620,94 cm⁻¹ pada kitin ke arah 1586,92 cm⁻¹ pada spektrum kitosan menunjukkan bahwa telah terjadi proses deasetilasi kitin.

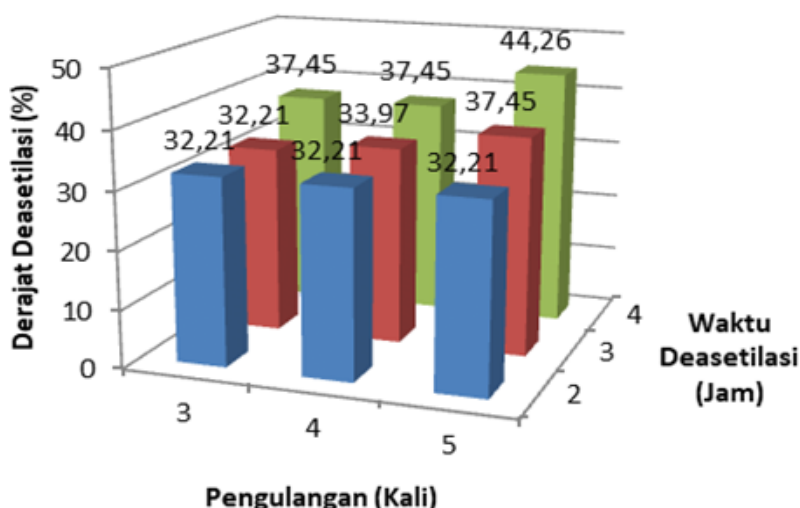
$$v = \frac{1}{2\pi c} \left[\frac{f}{m_1 m_2 (m_1 + m_2)} \right]^{1/2}$$

dengan v adalah frekuensi spasial (cm⁻¹), c adalah kecepatan cahaya dalam ruang hampa, f adalah tetapan gaya ikatan, m_1 dan m_2 masing-masing massa dari atom 1 dan 2 yang saling berikatan.

Selain itu, puncak serapan 1552,77

cm⁻¹ yang menunjukkan gugus N-H (NHCOCH₃, amida II) pada kitin *P. pelagicus* bergeser ke bilangan gelombang 1586,92 cm⁻¹ (-NH₂, amina) pada kitosan *P. pelagicus*. Hal ini dikarenakan adanya kekuatan ikatan N-H (-NH₂) lebih besar dibandingkan kekuatan N-H (NHCOCH₃). Dalam gugus amida, struktur molekul lebih ruah sehingga menyebabkan halangan sterik lebih besar. Efek sterik ini dapat dikurangi jika jarak ikatan diperpanjang sehingga ikatan N-H amida lebih panjang daripada N-H amina yang menyebabkan energi vibrasi yang dibutuhkan lebih kecil daripada energi vibrasi N-H amida (Purnawan *et al.* 2009).

Kitosan yang didapatkan dari setiap variasi percobaan kemudian dilakukan pengujian derajat deasetilasi menggunakan metode titrasi. Derajat deasetilasi penting diketahui dikarenakan berhubungan erat dengan kualitas kitosan. Semakin tinggi derajat deasetilasi, maka semakin baik kualitas kitosan tersebut. Perhitungan derajat deasetilasi dimulai dengan kitosan dilarutkan dalam HCl 0,1 M. Setelah kitosan larut, kemudian dititrasi menggunakan NaOH 0,1 M. Setiap penambahan 0,5 mL NaOH kemudian diukur pH dan dibuat dalam bentuk grafik dimana jumlah mL NaOH sebagai sumbu X sedangkan perubahan pH sebagai sumbu Y. Hasil data derajat deasetilasi yang diukur menggunakan metode titrasi menunjukkan nilai yang berbeda. Derajat deasetilasi dapat dilihat melalui Gambar 6.



Gambar 6. Derajat deasetilasi kitosan

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	5	128,479	25,696	14,54	0,026
Linear	2	108,801	54,400	30,78	0,010
Waktu deasetilasi (Jam)	1	84,600	84,600	47,86	0,006
Pengulangan (kali)	1	24,200	24,200	13,69	0,034
Square	2	8,085	4,042	2,29	0,249
Waktu deasetilasi (Jam)*Waktu deasetilasi (Jam)	1	4,042	4,042	2,29	0,228
Pengulangan (kali)*Pengulangan (kali)	1	4,042	4,042	2,29	0,228
2-Way Interaction	1	11,594	11,594	6,56	0,083
Waktu deasetilasi (Jam)*Pengulangan (kali)	1	11,594	11,594	6,56	0,083
Error	3	5,303	1,768		
Total	8	133,782			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1,32948	96,04%	89,43%	52,80%

Hasil analisis menggunakan *software* Minitab 17 metode *response surface* menunjukkan bahwa nilai *P-value* pada percobaan untuk mengetahui waktu perendaman terhadap derajat deasetilasi sebesar 0,006, serta jumlah pengulangan perendaman terhadap derajat deasetilasi sebesar 0,034. Kedua nilai *P-value* tersebut lebih kecil dari nilai α sebesar 0,05, yang berarti bahwa waktu perendaman dalam larutan NaOH serta jumlah pengulangan perendaman sangat berpengaruh terhadap nilai derajat deasetilasi. Semakin lama waktu perendaman, maka nilai derajat deasetilasi yang dihasilkan semakin tinggi. Semakin banyak jumlah pengulangan perendaman maka nilai derajat derajat deasetilasi juga meningkat. Persamaan matematika polinomial sebagai hasil pengolahan data menggunakan metode *response surfacea* diperoleh sebagai berikut:

$$Y = 70,3 - 11,59 X_1 - 14,47 X_2 + 1,422 X_1^2 + 1,422 X_2^2 + 1,702 X_1 \cdot X_2$$

Keterangan :

- Y : Derajat Deasetilasi (%)
 X1 : Waktu deasetilasi (Jam)
 X2 : Pengulangan (kali)

Dengan nilai *R-sq* = 96,04% yang berarti bahwa model persamaan matematika tersebut sangat mewakili data percobaan.

Nilai derajat deasetilasi terendah yaitu dengan variasi waktu perendaman 2 jam dan pengulangan 3, 4, dan 5 kali sebesar 32,21% dan nilai derajat deasetilasi tertinggi dihasilkan oleh variasi lama perendaman selama 4 jam pengulangan 5 kali sebesar 44,26%. Derajat deasetilasi

dipengaruhi oleh konsentrasi NaOH dan lama perendaman dalam NaOH yang mengakibatkan terjadinya depolimerisasi yang memutuskan ikatan antara gugus karboksil dengan atom hidrogen (Suhardi 1993).

Metode titrasi memiliki deviasi yang tinggi. Sulitnya menghasilkan kitosan dengan derajat deasetilasi tinggi diduga karena kitin secara alami berbentuk kristalin yang mengandung rantai-rantai polimer kitin berkerapatan sangat tinggi, yang satu sama lain terikat dengan ikatan hidrogen yang sangat kuat, sehingga menghalangi enzim berpenetrasi mencapai substrat spesifiknya (Rochima 2007).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Derajat deasetilasi tertinggi sebesar 44,26% dihasilkan pada variasi waktu 4 jam dan 5 kali pengulangan proses deasetilasi dengan rendemen kitosan 83% (dari kitin). Peningkatan waktu perendaman dan jumlah pengulangan proses deasetilasi akan meningkatkan nilai derajat deasetilasi kitosan.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka untuk meningkatkan derajat deasetilasi kitosan disarankan meningkatkan waktu perendaman dan jumlah pengulangan. Disarankan juga dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memvariasikan konsentrasi NaOH.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini khususnya kepada Kemenristekdikti atas bantuan biaya yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdou ES, Nagy KSA, Elsabee MZ. 2008. Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from Local Sources. *Bioresource Technology*. 99: 1359-1367.
- Ali M, Mulyasuryani A, Sabarudin A. 2013. Adsorption of Cadmium By Silica Chitosan. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*. 2(2): 62-66.
- Amalia NA. 2018. Pemanfaatan Cangkang Rajungan sebagai Koagulan untuk Penjernih Air. Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indoneisa, Yogyakarta.
- Arlius. 1991. Mempelajari Ekstraksi Kitosan dari Kulit Udang dan Pemanfaatannya sebagai Bahan Koagulasi Protein Limbah Pengolahan Pindang Tongkol (*Euthynnus affinis*) [Tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, IPB.
- Bahri S, Rahim EA, Syarifuddin. 2015. Derajat Deasetilasi Kitosan dari Cangkang Kerang Darah dengan Penambahan NaOH secara Bertahap. *Jurnal Riset Kimia*. 1(1): 36-42.
- Bastaman S. 1989. Studies on Degradation and Extraction of Chitin and Chitosan from Prawn Shells [Disertation]. *Dept Mechanical Manufacturing, Aeronautical and Chemical Engineering. Queen's Univ. Belfast*.
- Chang KLB, Tsai G, Lee J, Fu W. 1997. Heterogenous N-deacetylation of Chitin in Alkaline Solution. *Carbohydr Res*. 303: 327-332.
- Darjito D, Purwonugroho D, Ningsih R. 2014. The Adsorption of Cr (VI) Using Chitosan-Alumina Adsorbent. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*. 3 (2).
- Dompeipen EJ, Kaimudin M, Dewa RP. 2016. Isolasi Kitin dan Kitosan dari Kulit Udang. *Majalah BIAM*. 12(1): 32-38.
- Gupta KC, Jabrail FH. 2006. Effects of Degree of Deacetylation and Crosslinking on Physical Characteristics, Swelling, and Release Behavior of Chitosan Microspheres. *Carbohydr Polym*. 66: 43-54.
- Ibrahim B, Suptijah P, Prantommy. 2009. Pemanfaatan Kitosan pada Pengolahan Limbah Cair Industri Perikanan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*. XII(2): 154-166.
- Johnson EL, Peniston QP. 1982. Utilization of Shellfish Waste for Chitin and Chitosan Production. In *Chemistry & Biochemistry of Marine Food Products*; Martin RE, Flick GJ, Hebard CE, Ward DR, Eds. *AVI Publishing Co.: Westport, CT, USA*. Chapter 19: 415.
- Knorr D. 1984. Use of Chitinous Polymers in Food: A Challenge for Food Research and Development. *Food Technology (USA)*. 38(1): 92-97.
- Kurniasih D, Atikah A, Sulistyarti H. 2012. The Coated-Wire Ion Selective Electrode (CWISE) of Chromate Using PVC-Membrane Based on Chitosan as A Carrier. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*. 1(1): 33-40.
- Kurniasih M, Kartika D. 2011. Sintesis dan Karakterisasi Fisika-Kimia Kitosan. *Jurnal Inovasi*. 5(1): 42-48.
- Muzzarelli RAA, Rochetti R, Stanic V, Weckx M. 1997. Methods for the Determination of the Degree of Acetylation of Chitin and Chitosan. Di dalam: Muzzarelli RAA, Peter MG (eds.). *Chitin Handbook*. Grottamare: European Chitin Soc.
- Purnawan C, Aprilita NH, Kartini I, Sugiharto E. 2009. Kajian Parameter Deasetilasi Kitin dari Cangkang Udang Berdasarkan Karakter Spektra Infra Merah (IR). *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*. 499-513.
- Puspawati NM, Simpen IN. 2010. Optimasi Deasetilasi Khitin dari Kulit Udang dan Cangkang Kepiting Limbah Restoran Seafood menjadi Khitosan melalui Variasi Konsentrasi NaOH. *Jurnal Kimia*. 4(1) : 79-90.
- Ramadhan LOAN, Wahyuningrum D, Radiman CL, Suendo V. 2010. Deasetilasi Kitin Secara Bertahap dan Pengaruhnya terhadap Derajat Deasetilasi Massa Molekul Kitosan. *Jurnal Kimia Indonesia*. 5(1): 17-21.
- Rhazi M, Desbrieres J, Tolaimate A, Alagui A, Vottero P. 2000. Investigation

- of Different Natural Sources of Chitin: Influence of the Source and Deacetylation Process on the Physicochemical Characteristics of Chitosan. *Polym Int.* 49(4): 337-344.
- Rismiarti Z, Atikah A, Sulistyarti H. 2013. Construction and Characterization of Coated Wire Oxalate Ion Selective Electrode Based on Chitosan. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research.* 3(1) : 19-26.
- Rochima E. 2007. Karakterisasi Kitin dan Kitosan Asal Limbah Rajungan Cirebon Jawa Barat. *Buletin Teknologi Hasil Perairan.* X (1): 9 – 22.
- Sabarudin A, Motomizu S. 2013. Functionalization of Chitosan with 3, 4, 5 Trihydroxy Benzoic Acid Moiety for The Uptake of Chromium Species. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research.* 2(1): 48-54.
- Shahidi F, Arachchi JKV, Jeon YJ. 1999. Food Applications of Chitin and Chitosans. *Trends in Food Science and Technology.* 10(2): 37–51.
- Sukma S, Lusiana SE, Masruri, Suratmo. 2014. Kitosan dari Rajungan Lokal *Portunus pelagicus* Asal Probolinggo, Indonesia. *Kimia Student Journal.* 2(2): 506-512.
- Hastuti S, Arifin S, Hidayati D. 2012. Pemanfaatan Limbah Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*) sebagai Perisa Makanan Alami. *Agrointek.* 6(2): 88 – 96.
- Suhardi. 1993. Kitin dan Kitosan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Supratman U. 2010. Elusidasi Struktur Senyawa Organik. Widya Padjadjaran. Bandung.
- Tanasale MFJDP, Killay A, Laratmase MS. 2011. Kitosan dari Limbah Kulit Kepiting Rajungan (*Portunus sanguinolentus L.*) sebagai Adsorben Zat Warna Biru Metilena. *Jurnal Natur Indonesia.* 14(2): 165-171.
- Terbojevich M, Muzzarelli RAA. 2000. Chitosan. University of Ancona.
- Tobing MTL, Prasetya NBA, Khabibi. 2011. Peningkatan Derajat Deasetilasi Kitosan dari Cangkang Rajungan dengan Variasi Konsentrasi NaOH dan Lama Perendaman. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi.* 14(3): 83-88.
- Tolaimate A, Desbrieres J, Rhazi M, Alagui A. 2003. Contribution of The Preparation of Chitin and Chitosan with Controlled Physic-Chemical Properties. *Polymer.* 44(26): 7939-7952.
- Trisnawati E, Andesti D, Saleh A. 2013. Pembuatan Kitosan dari Limbah Cangkang Kepiting sebagai Bahan Pengawet Buah Duku dengan Variasi Lama Pengawetan. *Jurnal Teknik Kimia.* 19(2): 17-26.
- Vani R, Stanley SA. 2013. Studies on the Extraction of Chitin and Chitosan from Different Aquatic Organisms. *Advanced BioTech.* 12(12): 12-15.
- Weska RF, Moura JM, Batista LM, Rizzi J, Pinto LAA. 2007. Optimization of Deacetylation in the Production of Chitosan from Shrimp Wastes: Use of Response Surface Methodology. *Journal of Food Engineering.* 80(3): 749-753.
- Widwiasuti H, Mulyasuryani A, Sabarudin A. 2013. Extraction of Pb²⁺ using Silica from Rice Husks Ash (RHA)–Chitosan as Solid Phase. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research.* 2(1): 42-47.
- Yuliusman, Adelina PW. 2010. Pemanfaatan Kitosan dari Cangkang Rajungan pada Proses Adsorpsi Logam Nikel dari Larutan NiSO₄. *Prosiding Seminar Rekayasa Kimia dan Proses.* ISSN 1411-4216: 1 – 7.