

Karakterisasi Biopolimer Kitosan Hasil Deasetilasi Limbah Kepiting Rajungan (*Portunus Sanginolentus*) Menggunakan NaBH_4 Dalam NaOH
Characterization of Chitosan Biopolymers as Result of Deacetylation of Rajungan Crab Waste (*Portunus sanginolentus*) using NaBH_4 in NaOH

Nurani Hasanela*, Matheis F.J.D.P. Tanasale, Helna Tehubijuluw

Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
 Pattimura University, Kampus Poka, Jl. Ir. M. Putuhena, Ambon-Indonesia 97134

*Corresponding Author: hasanela.nurani@yahoo.co.id

Received: 2019-12-12

Received in revised: 2020-2-1

Accepted: 2020-5-20

Available online: 2020-5-31

Abstract

*The chitosan isolation from crab waste (*Portunus sanginolentus*) has been carried out. Chitin production is carried out by the de-proteination, demineralization and depigmentation processes. Chitosan biopolymer is produced from chitin through de-acetylation method using base solution (NaOH) and the addition of NaBH_4 which aims to increase the degree of de-acetylation (DD) of chitosan. The results of 25 g of chitin obtained chitosan amounted to 16.67 g (66.68%). Chitin and Chitosan were identified by a Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectrophotometer.*

Keywords: Chitin, chitosan, de-proteination, de-mineralization, de-pigmentation.

Abstrak (Indonesian)

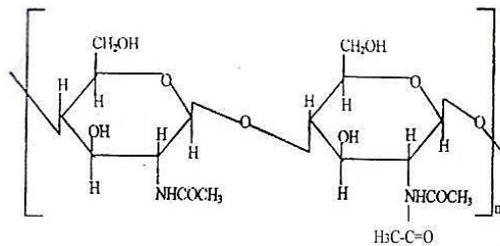
Telah dilakukan isolasi kitosan dari limbah kepiting rajungan (*Portunus sanginolentus*). Produksi kitin dilakukan dengan proses deproteinasi, demineralisasi dan proses depigmentasi. Biopolimer kitosan dihasilkan dari kitin melalui metode deasetilasi menggunakan larutan basa (NaOH) dan penambahan NaBH_4 yang bertujuan untuk menaikkan derajat deasetilasi (DD) dari kitosan. Dari hasil 25 g kitin diperoleh kitosan sebesar 16,67 g (66,68%). Kitin dan Kitosan diidentifikasi dengan spektrofotometer fourier transform infrared (FT-IR).

Kata Kunci: Kitin, kitosan, de-proteinasi, de-mineralisasi, de-pigmentasi.

PENDAHULUAN

Selain ikan yang merupakan salah satu sumber protein bernilai tinggi, banyak juga dari golongan *Crustacea* yang dijadikan andalan komoditi ekspor produk perikanan. Salah satu golongan *Crustacea* yang paling digemari dan melimpah adalah kepiting rajungan (*Portunus sanginolentus*). Rajungan merupakan jenis kepiting yang paling terkenal diantara kepiting lainnya. Kepiting rajungan yang akan diekspor diproses terlebih dahulu. Pada proses ini, daging rajungan dipisahkan dari cangkangnya, sehingga cangkang yang dihasilkan akan menjadi limbah. Hasil limbah dari cangkang kepiting rajungan ini, jika tidak dikelola dengan baik maka akan mencemari ekosistem laut (Adriana dkk., 2001). Pemanfaatan limbah cangkang kepiting rajungan dapat memiliki nilai guna salah satunya yaitu dijadikan produk kitosan (Sartika dkk., 2016).

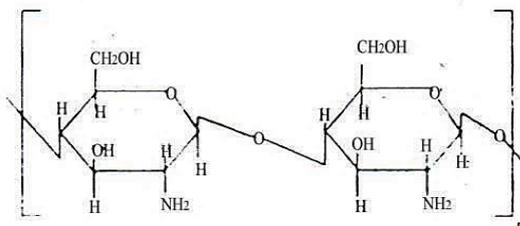
Kitin adalah polisakarida kedua terbanyak di alam setelah selulosa. Kitin disamakan dengan selulosa dengan gugus hidroksil pada posisi C-2 digantikan dengan satu gugus asetamida (Kumar, 2000; Ali-komi, 2016). Kitin dapat ditemukan dalam struktur seluler jamur, bakteri, serangga, arakhnida, krustasea, nematoda, dan invertebrata lainnya seperti annelida, muloska, cumi dan hemichordata (Ramírez dkk., 2010; Agustina dkk., 2015; Teli dan Sheikh 2012). Kitin dapat didegradasi dengan enzim kitinase. Seperti halnya selulosa, fungsi alami kitin juga sebagai struktur polisakarida. Oleh karena kitin mempunyai sifat kristalinitas tinggi, maka kitin tidak larut dalam pelarut air, dan pelarut organik (Sartika dkk., 2016). Kitin tidak beracun dan mempunyai berat molekul (BM) sekitar $1,2 \times 10^6$ g/mol (Purwatiningsih dkk.,1993). Struktur monomer kitin dapat ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur monomer kitin (Kumar, 2000).

Melalui proses deasetilasi, kitin dapat dijadikan kitosan. Kitosan adalah modifikasi dari senyawa polimer karbohidrat yang berasal kitin yang banyak terdapat dalam kulit luar hewan *Crustacea* seperti udang dan kepiting. Kitosan hasil deasetilasi dapat digunakan sebagai zat penyerap logam-logam berat dan zat-zat pencemar lainnya yang terdapat dalam air (Adriana dkk., 2001).

Pada proses deasetilasi kitin menghasilkan kitosan, digunakan larutan basa NaOH dan NaBH_4 . Penggunaan NaBH_4 ini akan berpengaruh pada berat molekul (BM) dan derajat deasetilasi (DD). Penambahan NaBH_4 pada waktu deasetilasi menghasilkan kitosan dengan BM dan DD yang besar. Hal ini disebabkan karena kondisi terbaik dari preparasi kitosan didapat dengan menggunakan suatu larutan NaOH dan NaBH_4 yang berfungsi sebagai reduktor yang menyumbangkan H^+ pada proses reaksi deasetilasi menjadi kitosan (Beaulieu, 2006).



Gambar 2. Struktur monomer kitosan

Kitosan merupakan produk dari proses deasetilasi kitin melalui reaksi kimia dengan menggunakan enzim kitin deasetilase. Unit penyusun kitosan merupakan disakarida (1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glukosa yang saling berikatan β . Seperti halnya polisakarida lain, kitosan memiliki kerangka gula, tetapi dengan sifat yang unik karena polimer ini memiliki gugus amina bermuatan positif (Kumar dkk., 2000). Struktur monomer kitosan dapat ditunjukkan pada Gambar 2.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis Spectronik 20⁺ series, spektrofotometer FT-IR (Perkin Elmer) 1600 series, viskometer Ostwald, timbangan analitik, corong pisah, pipet vakum, pipet volum, oven (Memert), termometer, penyaring Buchner, *hot plate*, ayakan ukuran 40 mesh. Bahan-bahan yang digunakan yaitu limbah cangkang kepiting rajungan, NaOH p.a (E. Merck), HCl p.a (E. Merck), H_2SO_4 p.a (E. Merck), $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ p.a (E. Merck) dan NaBH_4 p.a (E. Merck).

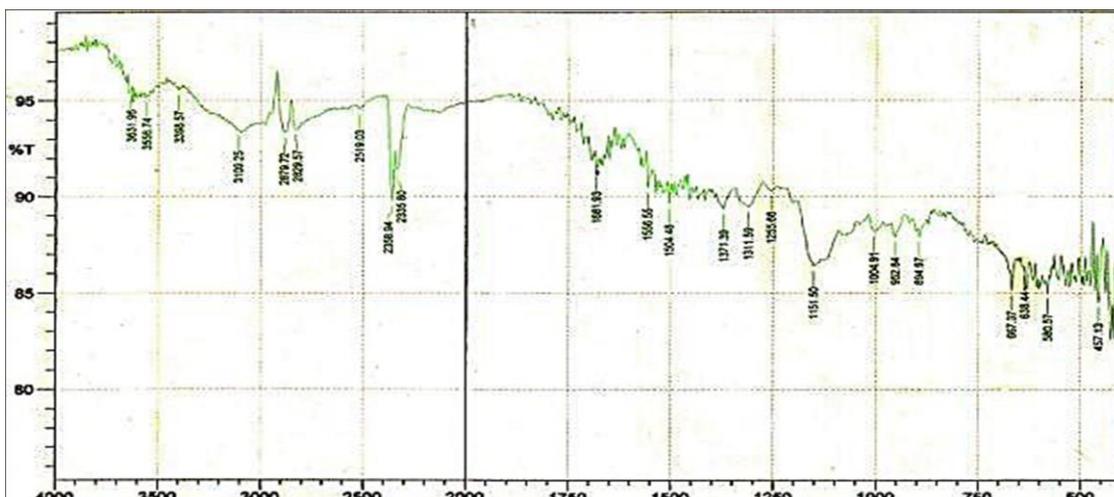
Prosedurkerja

Isolasi kitin dari limbah cangkang kepiting rajungan

Tahap deproteinasi dimulai dengan penimbangan 400 g limbah cangkang kepiting rajungan yang sudah dihaluskan ditambah 100 g/L NaOH, kemudian dibiarkan pada suhu kamar selama 3 hari selanjutnya disaring dengan kertas saring, residu yang dihasilkan dicuci dan dikeringkan pada suhu 40 °C. Dalam tahap demineralisasi residu hasil deproteinasi ditambahkan 172 mL HCl 1 N, kemudian ditambahkan 2 L H_2O kemudian dipanaskan pada suhu 40 °C selama 3 jam selanjutnya disaring dengan kertas saring. Residu yang dihasilkan dicuci dan dikeringkan pada suhu 40 °C. Tahap depigmentasi diakhiri dengan residu hasil depigmentasi ditambahkan 500 mL H_2O dan 50 mL H_2SO_4 kemudian dilakukan pemutihan dengan penambahan $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 100 g/L kemudian dicuci dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40 °C. Kitin yang dihasilkan dikarakterisasi dengan spektrofotometer FT-IR.

Deasetilasi kitin menghasilkan biopolimer kitosan

Sebanyak 25 g kitin yang dihasilkan ditambahkan 150 g/L NaOH kemudian dipanaskan pada suhu 110 °C selama 2 jam, selanjutnya disaring dan dicuci kemudian dikeringkan. Kitosan yang dihasilkan dikarakterisasi dengan spektrofotometer FT-IR dan berat molekul dengan viskometer Ostwald. Sebanyak 25 g kitin yang dihasilkan ditambahkan 150 g/L NaOH dan 0,75 g/L NaBH_4 kemudian dipanaskan pada suhu 110 °C selama 2 jam, selanjutnya disaring dan dicuci kemudian dikeringkan. Kitosan yang dihasilkan dikarakterisasi dengan spektrofotometer FT-IR dan berat molekul dengan viskometer Ostwald.



Gambar 3. Spektrum FT-IR kitin hasil isolasi

Sebanyak 25 g kitin yang dihasilkan ditambahkan 150 g/L NaOH kemudian dipanaskan pada suhu 110 °C selama 2 jam, selanjutnya disaring dan dicuci kemudian dikeringkan. Proses ini dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan. Kitosan yang dihasilkan dikarakterisasi dengan spektrofotometer FT-IR dan berat molekul dengan viskometer Ostwald.

Sebanyak 25 g kitin yang dihasilkan ditambahkan 150 g/L NaOH dan 0,75 g/L NaBH₄ kemudian dipanaskan pada suhu 110 °C selama 2 jam, selanjutnya disaring dan dicuci kemudian dikeringkan. Proses ini dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan. Kitosan yang dihasilkan dikarakterisasi dengan spektrofotometer FT-IR dan berat molekul dengan viskometer Ostwald.

Penentuan bobot molekul kitosan dengan metode viskometri

Larutan berisi 0,001 g kitosan dalam 100 mL HCl 0,02 M disiapkan kemudian dibuat 100 mL larutan kitosan dengan masing-masing konsentrasi: 0,001%, 0,002%, 0,003%, 0,004%, 0,005%. Selanjutnya 5 mL dari masing-masing larutan kitosan dipipet ke dalam viskometer yang kering, bersih dan yang telah dipasang dalam penangas air dengan suhu tetap dijaga 30 ± 0,1 °C. Waktu alir diukur dan dilakukan dengan 2 x pengulangan.

Penentuan derajat deasetilasi (DD) dengan metode UV-Vis (Liu dkk., 2006)

Sebanyak 4 mg kitosan hasil deasetilasi yang dihasilkan, dipisahkan pada masing-masing K1, K2,

K3 dan K4. Kemudian dilarutkan dengan HCl 0,1 M dan dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 201 nm. Derajat deasetilasi ditentukan dengan menggunakan persamaan 1 dan 2. Untuk berat molekul kitosan dihitung dengan menggunakan persamaan 3.

$$DA = \frac{161,14V - 0,0128M}{3,361M - 42,14V} \quad (1)$$

$$DD = (1-DA)100\% \quad (2)$$

$$[\eta] = KM^a \text{ atau } \log [\eta] = \log K + a \log M \quad (3)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi kitin dari limbah kepiting rajungan.

Proses isolasi kitin dari limbah kepiting rajungan (*Portunus sanguinolentus*) diperoleh melalui tiga tahap yaitu tahap penghilangan protein (deproteinasi), pada tahap ini secara visual terjadi perubahan warna pada serbuk cangkang kepiting rajungan yang awalnya berwarna kecoklatan menjadi kuning kecoklatan. Selanjutnya tahap penghilangan mineral (deminalisasi) ditandai dengan perubahan warna menjadi putih kecoklatan.

Tahap terakhir yaitu penghilangan zat warna (depigmentasi) warna yang terbentuk lebih putih. Dari hasil isolasi kitin, dapat diketahui komponen-komponen kimia yang terkandung dalam limbah kepiting rajungan (*Portunus sanguinolentus*) yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komponen dalam limbah kepiting rajungan

Kandungan	Bobot (g)	%
Protein	26,67	6,66
Mineral	220,11	58,95
Zat warna	27,31	17,82
Kitin	125,91	16,57

Hasil isolasi kitin yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi gugus fungsinya dengan menggunakan spektrofotometer FT-IR, yang diperlihatkan pada Gambar 3. Spektra FT-IR kitin memperlihatkan beberapa pola serapan antara lain serapan yang muncul pada $3109,25\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan dari gugus hidroksil, serapan pada $1681,55\text{ cm}^{-1}$ adalah vibrasi *bending* -N-H . Menurut Kusumaningsih dkk.,2004 serapan yang merupakan ciri khas dari kitin yaitu gugus -N-H dalam -NH-CO- (gugus amina yang terasetilasi). Gugus metil (CH_3) muncul pada daerah $1311,59 - 1371,39\text{ cm}^{-1}$. Serapan gugus amina kitin pada $3100,00 - 1371,39\text{ cm}^{-1}$, serapan $2829,57 - 2879,72\text{ cm}^{-1}$ dari vibrasi *stretching* -CH alifatik yang menyatu dengan pita serapan ulur -OH . Adanya pita serapan pada $1004,51 - 1255,66\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi -C-O dari cincin kitin sedangkan serapan -CH_2 muncul pada 1450 cm^{-1} .

Tabel 2. Daerah serapan gugus fungsi hasil analisa FT-IR dari kitin hasil isolasi

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm^{-1})
OH	3109,25
CH alifatik	2829,57-2879,72
C=O	1681,93
CH ₂	1450
CH ₃	1311,59-1371,39
C-O	1004,91-1255,66
N-H (stretching)	3100,00-3631,96
N-H (binding)	1556,55

Proses deasetilasi kitin menghasilkan kitosan.

Transformasi kitin menjadi kitosan dilakukan dengan proses penghilangan gugus asetil dari kitin menjadi amina pada kitosan yang dikenal dengan proses deasetilasi. Pada penelitian ini, proses deasetilasi dilakukan dengan cara hidrolisis gugus asetoamida oleh basa kuat NaOH 0% dan NaBH_4 pada suhu $110\text{ }^\circ\text{C}$. Kondisi ini digunakan karena struktur sel-sel kitin kuat. Menurut Chang dkk. (1997) tingkat deasetilasi meningkat dengan meningkatnya

suhu atau konsentrasi NaOH. Kitosan hasil deasetilasi kitin dapat ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kitosan hasil deasetilasi kitin

Kitosan yang diperoleh dari proses deasetilasi kitin sebesar $16,67\text{ g}$ ($66,68\%$) selanjutnya dianalisis gugus fungsinya dengan menggunakan spektrofotometer FT-IR. Hasil karakterisasi FT-IR kitosan tidak berbeda jauh dengan kitin. Perbedaan yang terjadi setelah proses deasetilasi adalah pergeseran spektrum serapan kitin pada gugus C=O pada daerah $1681,93\text{ cm}^{-1}$ yang muncul sebagai pita serapan baru pada daerah $1691,57\text{ cm}^{-1}$ dan pita serapan N-H dalam bidang CO-N-H pada $1556,55\text{ cm}^{-1}$ muncul pada spektrum kitosan pada serapan $1583,56\text{ cm}^{-1}$. Masih adanya serapan gugus karbonil pada daerah $1691,57\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan sampel belum sepenuhnya terdeasetilasi. Hal ini disebabkan karena proses deasetilasi yang dilakukan belum mencapai waktu dan suhu maksimum. Menurut Ramadhan dkk., (2010) proses deasetilasi kitin secara bertahap dengan peningkatan waktu dan suhu dapat meningkatkan derajat deasetilasi karena faktor morfologi rantai kitin pada gugus asetamidanya semakin berkurang. Hasil spektrum FT-IR kitosan dapat dianalisa gugus fungsinya seperti yang ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Beberapa daerah serapan gugus fungsi hasil analisa FT-IR kitosan

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm^{-1})
OH	3039,81
CH alifatik	2823,79-2997,38
C=O	1691,57
CH ₂	1413,82-1483,26
C-O	1151,50-1294,24
CH ₃	1325,1
N-H (binding)	1583,56

Derajat deasetilasi berdasarkan metode UV-Vis.

Kitosan hasil deasetilasi dari kitin isolasi dibagi menjadi 4 sampel yaitu K1, K2, K3, dan K4 untuk masing-masing sampel dilarutkan dengan HCl $0,1\text{ M}$.

Kemudian hasil sampel kitosan diuji absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis. Penentuan DD pada studi ini diperoleh sebesar 93,99% terdapat pada sampel K4. Perbedaan besarnya derajat deasetilasi ini disebabkan karena pada proses deasetilasi kitin menjadi kitosan, dilakukan dengan penambahan NaBH_4 dan dilakukan dua kali pengulangan. Oleh karena itu kondisi terbaik dari karakterisasi kitosan didapat dengan menggunakan suatu larutan NaBH_4 dalam NaOH yang berfungsi sebagai reduktor dalam menyumbangkan H^+ pada proses reaksi deasetilasi menjadi kitosan (Rinaudo, 2006, Mohammed dkk., 2013; Gyliene dkk., 2003). Perbedaan kitin dan kitosan terletak pada besarnya derajat deasetilasi. Kitosan memiliki derajat deasetilasi antara 70-100% (Kusumaningsih dkk., 2004; Khan, 2002). Rendamen dari hasil penelitian ini, menunjukkan sudah hampir sepenuhnya merupakan kitosan. Derajat deasetilasi dari kitosan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Derajat deasetilasi dari kitosan hasil isolasi

Kitosan	Derajat deasetilasi (%)
K1	93,02
K2	92,05
K3	93,15
K4	93,99

Tabel 5. Bobot molekul kitosan hasil isolasi dari limbah cangkang kepiting rajungan

Kitosan	Berat molekul (g/mol)
K1	$3,9 \times 10^6$
K2	$4,3 \times 10^6$
K3	$3,44 \times 10^6$
K4	$3,47 \times 10^6$

Bobot molekul (BM) kitosan

Selain DD salah satu karakteristik kitosan yang paling penting adalah BM. Pada penelitian ini, berat molekul terbaik diperoleh pada K4 sebesar $3,47 \times 10^6$. Hal ini disebabkan karena adanya penambahan NaBH_4 dan dua kali pengulangan pada deasetilasi kitin menjadi kitosan. Bobot molekul kitosan dapat ditentukan dengan menggunakan metode viskositas dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, menunjukkan bahwa penambahan 0,75 g NaBH_4 dalam 25 g kitin menghasilkan kitosan yang memiliki derajat

deasetilasi sebesar 93,99% dengan nilai bobot molekul yaitu $3,47 \times 10^6$ g/mol.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriana, A. A. Mudjijati., Selvy Elvira dan Vera Setijawati., 2001. Adsorpsi Co(VI) dengan Adsorban Kitosan, *J. Kimia Lingkungan*, 3, 31-36.
- Agustina, S., Swantara, I.M.D., dan Suartha, I.N., 2015. Isolasi Kitin, Karakterisasi Dan Sintesis Kitosan Dari Kulit Udang, *J. Kimia* 9 (2), 271-278.
- Ali-Komi, D.E., and Hamblin, M. R., 2016. Chitin and Chitosan: Production and Application of Versatile Biomedical Nanomaterials, *Int. J. Adv. Res. (Indore)*., 4(3): 411-427.
- Chang K.L.B., Tsai G., Lee J., and Fu W.R., 1997. Heterogeneous N-deacetylation of Chitin In Alkaline Solution, *Carbohydr. Res.*, 303, 327-332.
- Mohammed, M.H. Peter A.W., Olga T., 2013. Extraction of Chitin From Prawn Shells and Conversion To Low Molecular Mass Chitosan, *Food Hydrocolloids*, 31(2),166-171.
- Gyliene, O., Razmute, I., Tarozoute, R. and Nivinskiene, O., 2003. Chemical Composition and Sorption Properties of Chitosan Produced From Fly Larva Shells, *Chemija (Vilnius)*, T. 14 Nr. 3. 121-127
- Khan, T.A., Peh, K.K., and Ching, H.S., 2002. Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan: The Influence of Analytical Methods, *Pharmaceut Sci*, 205-212.
- Kumar, M.N.V.R, 2000. A review on Chitin and Chitosan Applications, *Reactive and Func. Poly*, 46 : 1-27
- Kusumaningsih, T., Suryanti,V dan Permana, W., 2004. Karakterisasi Kitosan Hasil Deasetilasi Kitin dari Cangkang Kerang Hijau (*Mytilus viridis linneaus*), *Alchemy*, 3, 63-71
- Liu, D., Wei, Y., Yoa, P., Y and Jiang, L., 2006. Determination of The Degree of The Acetylation of Chitosan By Uv Spectrofotometry Using Dual Standards, *Carbohydrate Research*, 341, 782-785.
- Ramadhan, L.O.A.N., Wahyuningrum, D., Suendo, V., Radiman, L.C., dan Ahmad, L.O., 2010. Deasetilasi Kitin secara Bertahap dan Pengaruhnya terhadap Derajat Deasetilasi serta Massa Molekul Kitosan, *J. Kimia Indo*. 5 (1), 17-21.

- Rinaudo, M., 2006. Chitin and Chitosan: Properties and Applications, *Progress in Poly. Sci.*, 31(7), 603-632.
- Sarni, 2017. Toksisitas Oligomer Kitosan Derajat Deasetilasi Rendah Enzimatis Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), *Indo. J. Chem. Res.*, 4(2), 373-377.
- Sartika, I. D., Alamsjah, M., Amin., Sugijanto, N.E. N., 2016. Isolasi dan Karakterisasi Kitosan dari Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*), *J. Biosains*, 18(2), 1-15.
- Tanasale, M. F.J.D.P., Telussa, I., Sekewael, S. J., 2016. Ekstraksi Dan Karakterisasi Kitosan Dari Kulit Udang Windu (*Penaeus monodon*) Serta Proses Depolimerisasi Kitosan Dengan Hidrogen Peroksida Berdasarkan Variasi Suhu Pemanasan, *Indo. J. Chem. Res.*, 3(2), 308-318.
- Tanasale, M. F.J.D.P., Bandjar, A., Sewit, N., 2018. Isolasi Kitosan Dari Tudung Jamur Merang (*Vollvariella Volvaceae*) Dan Aplikasinya Sebagai Absorben Logam Timbal (Pb), *Indo. J. Chem. Res.*, 6(1), 44-50.
- Teli, M.D., Sheikh, J., 2012. Extraction of Chitosan from Shrimp Shells Waste and Application In Antibacterial Finishing of Bamboo Rayon, *Inter. J. Biological Macromolecules*, 50(5), 1195-1200.