

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

LAPORAN PENELITIAN

**PENGARUH JENIS DAN KONSENTRASI BASA TERHADAP
DERAJAT DEASETILASI KITIN DARI
LIMBAH KULIT UDANG**



Oleh:

Dra. Minda Azhar, M.Si

UNIVERSITAS NEGERI PADANG	
TANGGAL	: 20-1-2010
DISUSUN OLEH	: Hd
KELOMPOK	: KI
NO. PERJANJIAN	: 37/Hd/2010-P.1(1)
NO. DAFTAR	: 574.192 Azh p.1

Penelitian ini dibiayai oleh :
Dana DIPA UNP Tahun Anggaran 2009
Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian
No : 490/H35/KU/DIPA/2009
Tanggal 02 April 2009

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG**

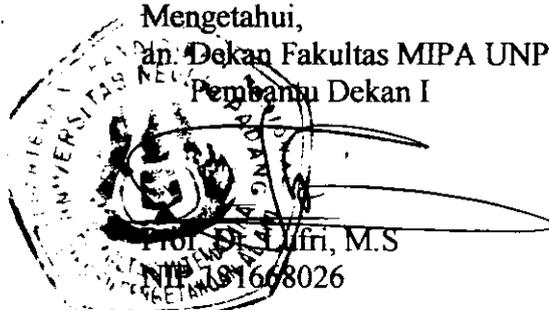
2009

**HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN PENELITIAN DANA DIPA UNP**

-
1. Judul Penelitian : **Pengaruh jenis dan konsentrasi basa terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang**
- a. Bidang Ilmu : MIPA yaitu Biokimia dan Kimia Pangan
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap : **Dra. Minda Azhar, M.Si**
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. NIP : 196411241991122001
- d. Pangkat/Golongan : Pembina Tingkat I / IV-b
- e. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
- f. Fakultas/Jurusan : FMIPA/Kimia
- g. Alamat Rumah/Telp/E-mail : Jl. Anggrek 28 Komplek UNP Air Tawar Padang / 0751-7051798 / minda@fmipa.unp.ac.id
4. Jumlah Anggota Peneliti : -
5. Lokasi Penelitian : Laboratorium Penelitian dan Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA UNP
6. Kerjasama dengan Institusi lain : -
7. Lama Penelitian : 6 (enam) bulan
8. Biaya yang Dibelanjakan : Rp. 5.000.000 (lima juta rupiah)
-

Padang, Desember 2009

Mengetahui,
Dekan Fakultas MIPA UNP
Pembantu Dekan I



Ketua Peneliti

Dra. Minda Azhar, M.Si
NIP.196411241991122001

Disetujui oleh:
Ketua Lembaga Penelitian



Mae Fauzan, MPd, MSc
NIP.196411241991122001

HALAMAN IDENTITAS DAN PENGESAHAN PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : **Pengaruh jenis dan konsentrasi basa terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang**
b. Bidang Ilmu : MIPA yaitu Biokimia dan Kimia Pangan
2. Personalia
a. Ketua Peneliti
Nama Lengkap dan Gelar : **Dra. Minda Azhar, M.Si**
Pangkat/Golongan/NIP : Pembina Tingkat I/IV-b/196411241991122001
Fakultas/Jurusan : FMIPA/Kimia
b. Anggota Peneliti : -
3. Usul Penelitian : Telah direvisi sesuai saran pereviu
-

Padang, Desember 2009

Pembahas I,


Dr. Mawardi, M.Si

Pembahas II,


Drs. Asrizal, M.Si

Mengetahui,

Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Negeri Padang



A. LAPORAN HASIL PENELITIAN

RINGKASAN

Limbah udang memiliki potensi yang besar untuk diolah menjadi kitosan karena ketersediaan limbah udang sebagai bahan baku cukup besar dan mudah diperoleh. Limbah kulit udang terdiri dari tiga komponen utama yaitu protein (25%-44%), kalsium karbonat (45%-50%), dan kitin (15%-20%). Kandungan kitin pada limbah kulit udang sekitar 20-50% berat kering. Kitin adalah kelompok karbohidrat yang tergolong *structural homoglycans*. Monomer kitin adalah 2-asetamida-2-deoksi-D-Glukosa (N-asetil glukosamin). Kitin merupakan polimer alam terbanyak di dunia setelah selulosa.

Kitin dapat diisolasi dari limbah udang dengan cara demineralisasi kemudian deproteinisasi. Kitin yang diperoleh dapat diubah menjadi kitosan dengan cara melepaskan gugus asetil pada asetamida kitin menghasilkan gugus amina terdeasetilasi (-NH₂). Ukuran besarnya penghilangan gugus asetil pada gugus asetamida dikenal dengan istilah derajat deasetilasi (DD). DD adalah salah satu karakteristik kimia yang paling penting. Jika DD 40-100% (derajat asetilasi, DA kecil dari 40%) disebut kitosan. Kitosan mempunyai banyak kegunaan dan keunggulan dibandingkan kitin sehingga kitosan dijuluki sebagai *magic of nature*. DD kitin dapat ditentukan dengan metoda *base-line*. Metoda ini berdasarkan perbandingan nilai absorbansi pita serapan dari spektrum inframerah pada bilangan gelombang 1655 cm⁻¹ dan 3450 cm⁻¹. %DD = 100- [(A₁₆₆₅/A₃₄₅₀)X115].

Proses deasetilasi kitin dapat dilakukan dengan cara memanaskan kitin dalam larutan basa kuat konsentrasi tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh pada DD kitin yang dideasetilasi dengan NaOH dan KOH masing-masing dengan konsentrasi 40% dan 50%. Manfaat penelitian adalah memberikan kontribusi pada perkembangan IPTEK dalam bidang biokimia, khususnya biopolimer yaitu memberikan informasi tentang pembuatan kitosan dari kitin limbah udang.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang dilakukan di laboratorium Laboratorium Penelitian FMIPA UNP dari Juli sampai September 2009. Pengukuran spektrofotometer FTIR kitin dan kitosan dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Andalas Padang. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan

2 faktor dan 2 kali ulangan. Faktor 1 adalah jenis basa yaitu KOH dan NaOH. Faktor 2 adalah variasi konsentrasi basa yaitu 40% dan 50%. Reaksi deasetilasi dilakukan pada 100°C selama 5 jam. Objek penelitian adalah kulit udang putih yang diambil di Pasar Pagi Purus Padang.

Langkah utama penelitian adalah: (1).Persiapan sampel kulit udang. (2) Isolasi kitin dari kulit udang dan (3) Deasetilasi. DD kitin sebelum deasetilasi dan setelah deasetilasi ditentukan dari spektrum FTIR menggunakan persamaan $\%DD = 100 - [(A_{1665}/A_{3450}) \times 115]$. Data DD kitin yang diperoleh dianalisis menggunakan Sidik Ragam untuk menentukan adanya perbedaan pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha: 0,05$).

DD kitin hasil isolasi yang diperoleh adalah 3,3165%. Angka ini menunjukkan bahwa kitin hasil isolasi masih dikelompokkan kitin. Proses deasetilasi kitin hasil isolasi menggunakan larutan NaOH dan KOH 40% dan 50% menghasilkan DD di atas 40%. Hal ini dapat diartikan bahwa proses deasetilasi menggunakan larutan NaOH dan KOH 40% dan 50% telah menghasilkan kitosan. DD kitin terdeasetilasi lebih besar menggunakan larutan KOH dibandingkan larutan NaOH. Walaupun demikian perbedaan konsentrasi basa 40% dan 50% ternyata tidak berarti menurut analisa varians pada $\alpha=0,05$.

Variasi konsentrasi NaOH dan KOH menunjukkan variasi jumlah OH^- yang akan bereaksi selama proses deasetilasi dan juga menunjukkan variasi konsentrasi ion Na^+ dan K^+ dalam medium. Semakin banyak OH^- dalam larutan semakin besar kemungkinan penyerangan gugus karbon karbonil pada asetamida sehingga lebih besar kemungkinan asetil dilepaskan. Proses penyerangan ini diduga dipengaruhi pula oleh keberadaan ion-ion pada medium reaksi seperti ion Na^+ , ion K^+ . Hal ini diduga terjadi pada konsentrasi NaOH 50% dan KOH 50%, sehingga teramati DD kitin lebih besar pada NaOH 50%.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa KOH dan NaOH dengan variasi konsentrasi 40% dan 50% tidak berpengaruh nyata terhadap DD kitin. DD kitin paling tinggi dihasilkan pada NaOH 50 %. Berdasarkan penemuan pada penelitian ini, disarankan meneliti lanjut (1) Deasetilasi kitin dengan variasi lain seperti temperatur dan pengadukan (2) Kegunaan kitosan sebagai pengawet pangan (3) kitin sebagai substrat kitinase

PENGANTAR

Kegiatan penelitian mendukung pengembangan ilmu serta terapannya. Dalam hal ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang berusaha mendorong dosen untuk melakukan penelitian sebagai bagian integral dari kegiatan mengajarnya, baik yang secara langsung dibiayai oleh dana Universitas Negeri Padang maupun dana dari sumber lain yang relevan atau bekerja sama dengan instansi terkait.

Sehubungan dengan itu, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang bekerjasama dengan Pimpinan Universitas, telah memfasilitasi peneliti untuk melaksanakan penelitian tentang *Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Basa terhadap Derajat Deasetilasi Kitin dari Limbah Kulit Udang*, berdasarkan Surat Perjanjian Kontrak Nomor: 490/H35/KU/DIPA/2009 Tanggal 2 April 2009.

Kami menyambut gembira usaha yang dilakukan peneliti untuk menjawab berbagai permasalahan pembangunan, khususnya yang berkaitan dengan permasalahan penelitian tersebut di atas. Dengan selesainya penelitian ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang akan dapat memberikan informasi yang dapat dipakai sebagai bagian upaya penting dalam peningkatan mutu pendidikan pada umumnya. Di samping itu, hasil penelitian ini juga diharapkan memberikan masukan bagi instansi terkait dalam rangka penyusunan kebijakan pembangunan.

Hasil penelitian ini telah ditelaah oleh tim pembahas usul dan laporan penelitian, kemudian untuk tujuan diseminasi, hasil penelitian ini telah diseminarkan di tingkat Universitas. Mudah-mudahan penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pada umumnya dan khususnya peningkatan mutu staf akademik Universitas Negeri Padang.

Pada kesempatan ini, kami ingin mengucapkan terimakasih kepada berbagai pihak yang membantu terlaksananya penelitian ini, terutama kepada pimpinan lembaga terkait yang menjadi objek penelitian, responden yang menjadi sampel penelitian, dan tim pereviu Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang. Secara khusus, kami menyampaikan terimakasih kepada Rektor Universitas Negeri Padang yang telah berkenan memberi bantuan pendanaan bagi penelitian ini. Kami yakin tanpa dedikasi dan kerjasama yang terjalin selama ini, penelitian ini tidak akan dapat diselesaikan sebagaimana yang diharapkan dan semoga yang baik ini akan menjadi lebih baik lagi di masa yang akan datang.

Terimakasih.

Padang, Desember 2009

Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Negeri Padang



Alimad Fauzan, MPd, MSc

6604301990011001

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
HALAMAN IDENTITAS DAN PENGESAHAN PENELITIAN	ii
A. LAPORAN HASIL PENELITIAN	
RINGKASAN	iii
PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Udang	4
B. Kitin	5
C. Basa kuat untuk transformasi kitin menjadi kitosan	6
D. Kitosan	9
E. Penentuan DD kitin dengan FTIR	10
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	12
BAB IV. METODE PENELITIAN	13
A. Jenis Penelitian	13
B. Variabel Penelitian	13
C. Disain Penelitian	13
D. Objek Penelitian	13
E. Alat dan Bahan	13
F. Prosedur Penelitian	14
G. Teknik Analisis Data	15

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
A. Hasil Penelitian	16
1. Isolasi Kitin dari Limbah Kulit Udang	16
2. DD Kitin Hasil Isolasi dan Deasetilasi	17
B. Pembahasan	18
1. Isolasi Kitin dari Kulit Udang	18
2. Proses Deasetilasi Kitin	19
3. Spektrum FTIR kitin dan Kitin Hasil Deasetilasi	19
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	22
A. Kesimpulan	22
B. Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23
LAMPIRAN	25
B. DRAF ARTIKEL ILMIAH	33
C. SINOPSIS PENELITIAN LANJUT	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Udang putih	4
2. Struktur molekul selulosa	6
3. Struktur molekul kitin	6
4. Penghilangan gugus asetil pada gugus asetamida	7
5. Mekanisme reaksi pelepasan gugus asetil pada asetamida (-NHCOCH ₃) kitin	8
6. Kitin yang diisolasi dari kulit udang kering	16
7. Kitosan	17
8. Spektrum FTIR kitin	27
9. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh NaOH 40% (I)	28
10. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh NaOH 50% (I)	28
11. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh NaOH 40% (II)	29
12. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh NaOH 50% (II)	29
13. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh KOH 40% (I)	30
14. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh KOH 50% (I)	30
15. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh KOH 40% (II)	31
16. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh KOH 50% (II)	31

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. DD kitin pada variasi konsentrasi NaOH dan KOH	17
2. Karakteristik pita pada spektrum FTIR kitin	20
3. Karakteristik pita pada spectrum FTIR kitin terdeasetilasi	20
4. Analisa varians DD kitin terdeasetilasi	32
5. Jumlah DD kitin pada variasi jenis basa dan konsentrasi	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Curriculum vitae	25
2. Spektrum FTIR kitin yang diisolasi dari kulit udang	27
3. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh NaOH	28
4. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh KOH	30
5. Analisa varians DD kitin terdeasetilasi pada variasi konsentrasi NaOH dan KOH	32

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Udang merupakan salah satu pangan yang banyak digemari masyarakat karena mengandung gizi yang tinggi, memiliki aroma yang khas dan rasa yang lezat. Bagian udang yang dimanfaatkan sebagai pangan terutama adalah daging udang. Daging udang mengandung asam amino essensial seperti lisin, histidin, arginin dan tirosin (Moeljanto, 1979 dalam Purwaningsih, 2000:2). Bagian udang yang tidak dikonsumsi manusia dapat menjadi limbah udang.

Limbah udang berasal dari kulit, kepala dan ekor udang. Limbah kepala udang mencapai 35%-50% dari total berat udang (Kompas, 2006:1). Di Indonesia sebagian limbah udang telah dimanfaatkan pada pembuatan kerupuk udang, terasi dan bahan pencampur pakan ternak. Pada negara maju seperti Amerika dan Jepang, limbah udang telah dimanfaatkan antara lain pada; industri farmasi, biokimia, biomedikal, pangan, pertanian, dan kesehatan (Lang, 1995:109-114). Hal ini karena limbah udang dapat dimanfaatkan sebagai zat pembuat kitosan.

Limbah udang memiliki potensi yang besar untuk diolah menjadi kitosan karena ketersediaan limbah udang sebagai bahan baku cukup besar dan mudah diperoleh (Widodo, 2006:9). Produksi udang Indonesia rata-rata meningkat sebesar 7,4% pertahun. Pada tahun 2001 produksinya mencapai 633.681 ton. Jika diasumsikan laju produksi tetap, maka pada tahun 2004 potensi udang diperkirakan sebesar 785.025 ton. Dari jumlah itu 60-70% menjadi limbah (bagian kulit, kepala dan ekor). Melalui proses demineralisasi dan deproteinisasi dengan rendemen 20% akan dihasilkan kitin sebesar

157.005 ton. Pada proses deasetilasi kitin dengan rendemen 80% akan diperoleh kitosan sebesar 125.604 ton (Prasetyo, 2004:2).

Limbah kulit udang terdiri dari tiga komponen utama yaitu protein (25%-44%), kalsium karbonat (45%-50%), dan kitin (15%-20%) (Fohcher, 1992:97). Kandungan kitin pada limbah kulit udang sekitar 20-50% berat kering. Kitin adalah kelompok karbohidrat yang tergolong *structural homoglycans*. Monomer kitin adalah 2-asetamida-2-deoksi-D-Glukosa (N-asetil glukosamin) (Horton, 2002: 247). Struktur molekul kitin berupa rantai lurus panjang. Kitin merupakan polimer alam terbanyak di dunia setelah selulosa (Yanming, *et al*, 2001:216).

Kitin dapat diisolasi dari limbah udang dengan cara demineralisasi kemudian deproteinisasi. Demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan mineral yang terdapat pada limbah udang menggunakan pelarut asam. Tujuan deproteinisasi untuk menghilangkan protein yang terdapat pada limbah udang menggunakan pelarut basa. Untuk mempercepat proses demineralisasi dan deproteinisasi dilakukan pemanasan dan penggilingan. Kitin yang diperoleh dapat diubah menjadi kitosan dengan cara merubah gugus asetamida (-NHCOCH₃) pada kitin menjadi gugus amina (-NH₂).

Ukuran besarnya penghilangan gugus asetil pada gugus asetamida kitin dikenal dengan istilah derajat deasetilasi (DD). Jika DD 40-100% (derajat asetilasi, DA kecil dari 40%) disebut kitosan (Terbojevich, 2000:267), sedangkan Khan, *et al* (2002) menyatakan bahwa kitin dengan DD 75% atau lebih umumnya dikenal sebagai kitosan. Derajat deasetilasi adalah salah satu karakteristik kimia yang paling penting karena DD mempengaruhi *performance* kitosan pada banyak aplikasinya (Khan *et al*, 2002:2).

Kitosan mempunyai banyak kegunaan dan keunggulan dibandingkan kitin sehingga kitosan dijuluki sebagai *magic of nature*. Kitosan dapat digunakan pada prosesing makanan, pengobatan, bioteknologi dan menjadi material yang menarik pada

aplikasi *biomedical* dan *pharmaceutical*. Hal ini karena kitosan tidak toksik, *biological activity*, *biocompatibility*, *biodegradability*, dan dapat dimodifikasi secara kimia dan fisika (Lee,2004:3). Lee (2004) memodifikasi kitosan yang dapat digunakan untuk detoksifikasi. Pada prosesing makanan kitosan dapat dimanfaatkan sebagai pengawet ikan dan tahu (Hardjito, 2006.). Kitosan dapat juga digunakan sebagai bioabsorben logam-logam berat beracun pada limbah perairan (Marganof,2003). Dengan demikian limbah udang sangat potensial untuk dimanfaatkan.

Proses deasetilasi kitin dapat dilakukan dengan cara memanaskan kitin dalam larutan basa kuat konsentrasi tinggi (Bastaman,1989;Hang,1989). Fahmi (1997) menggunakan NaOH 50% diperoleh kitosan dengan DD 73,5%. Ardiato (2007) menggunakan NaOH 40% diperoleh kitosan dengan DD 72,28%. KOH merupakan basa yang lebih kuat dibandingkan NaOH. Keefektifan kedua basa ini untuk merubah gugus asetamida (-NHCOCH₃) pada kitin menjadi gugus amina (-NH₂) belum pernah dilaporkan. Oleh sebab itu diteliti pengaruh jenis dan konsentrasi basa terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang.

B. Perumusan Masalah

Yang menjadi masalah pada penelitian ini adalah bagaimanakah pengaruh jenis dan konsentrasi basa terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang. Penelitian ini terbatas pada hal-hal berikut :

- a. Variasi basa yang digunakan terbatas pada NaOH dan KOH masing-masing dengan konsentrasi 40 dan 50%?
- b. Limbah udang yang digunakan berasal dari limbah udang putih (*Litopenaeus vannamei*)
- c. Reaksi deasetilasi dilakukan pada suhu 100⁰C selama 5 jam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Udang

Udang dapat dibedakan berdasarkan tempat hidupnya yaitu udang laut dan udang darat. Udang termasuk filum Arthropoda. Anatomi udang pada umumnya sama yaitu terdiri dari kepala, badan, ekor, kaki, dan sungut. Bentuk udang bermacam-macam sehingga dibedakan menjadi beberapa jenis yaitu: udang windu, udang putih, udang werus, udang jari, udang galah, udang krosok, udang terotol dan udang barong (Hariadi, 1994:23-28). Taksonomi udang putih adalah sebagai berikut; Filum: Arthropoda, Kelas: Crustacea, Family: Decapoda, Genus: *Litopenaeus*, Spesies: *Litopenaeus vannemei* (Haliman, 2005:11). Foto udang putih dimuat pada Gambar 1.



Gambar 1. Udang putih (*Litopenaeus vannemei*)
(Atas kebaikan Rahmi Marfa Lesy)

Kulit udang terdiri dari tiga komponen utama yaitu protein (25%-44%), kalsium karbonat (45%-50%), dan kitin (15%-20%) (Fohcher, 1992:97). Kitin mempunyai struktur yang sama walaupun berasal dari sumber yang berbeda, tetapi asosiasinya

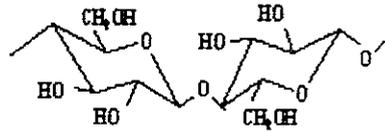
dengan protein dan kalsium karbonat berbeda kadarnya. Kitin dapat diisolasi dari limbah udang dengan cara demineralisasi kemudian deproteinisasi. Demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan mineral yang terdapat pada limbah udang menggunakan pelarut asam. Tujuan deproteinisasi untuk menghilangkan protein yang terdapat pada limbah udang menggunakan pelarut basa. Untuk mempercepat proses demineralisasi dan deproteinisasi dilakukan pemanasan dan penggilingan.

B. Kitin

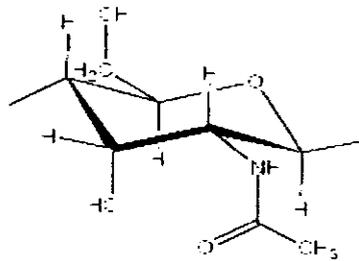
Kitin merupakan karbohidrat kelompok polisakarida. Biopolimer ini merupakan komponen utama arthropoda dan rangka luar dari serangga, kepiting, dan kulit udang. Kitin adalah kelompok karbohidrat yang tergolong *structural homoglycans*. Monomer kitin adalah 2-asetamida-2-deoksi-D-Glukosa (N-asetil glukosamin) (Horton, 2002: 247). Struktur molekul kitin berupa rantai lurus panjang. Ikatan antara monomer kitin adalah ikatan glikosida pada posisi $\beta(1-4)$. M_r kitin sekitar $1,2 \times 10^6$. Kitin merupakan biopolimer yang melimpah di alam setelah selulosa (Yanming, *et al*, 2001:216).

Struktur molekul kitin mirip selulosa. Persamaan antara selulosa dengan kitin adalah ikatan antara monomernya yaitu ikatan glikosida pada posisi $\beta(1-4)$. Perbedaan antara kitin dengan selulosa terletak pada atom C nomor 2 setiap monomernya. Pada selulosa terikat gugus hidroksil (-OH) (Gambar 2), sedangkan pada kitin berupa gugus asetamida (-NHCOCH₃) (Gambar 3).

Bentuk kristalin kitin dapat dibedakan atas tiga tipe yaitu α -kitin, β -kitin, dan γ -kitin. Tiap tipe dibedakan berdasarkan banyaknya rantai kitin dalam unit kitin : α -kitin mempunyai dua rantai, β -kitin mempunyai satu rantai, dan γ -kitin mempunyai tiga rantai. Kitin pada kulit udang termasuk tipe α -kitin yang merupakan bentuk kitin yang paling stabil dan melimpah (Shimojoh *et al*, 1998).



Gambar 2. Struktur molekul selulosa
(Lee, 2004:16)

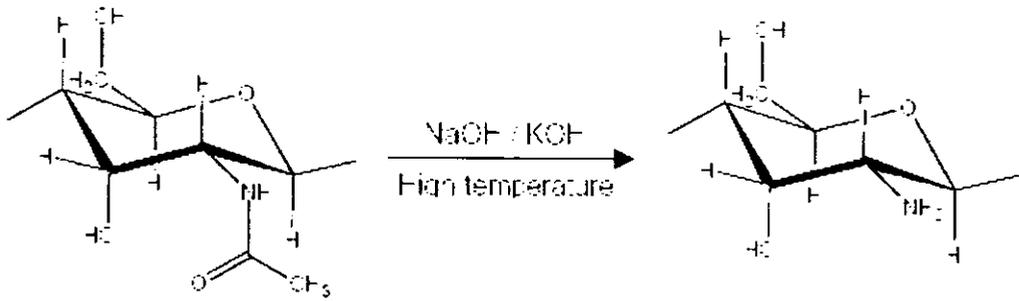


Gambar 3. Struktur molekul kitin
(Lee, 2004:16)

Kitin tidak larut dalam air, asam encer, basa encer, alkohol atau pelarut organik lainnya. Polisakarida ini dapat larut dalam asam klorida pa, asam sulfat pa. Adanya kitin dapat dideteksi dengan reaksi warna Van Wesslink. Pada cara ini kitin direaksikan dengan I_2 -KI memberikan warna coklat, kemudian jika ditambahkan asam sulfat, warna berubah menjadi violet. Perubahan warna dari coklat menjadi violet menunjukkan reaksi positif adanya kitin.

C. Basa kuat untuk transformasi kitin menjadi kitosan

Sebagian besar gugus asetil ($-COCH_3$) pada gugus asetamida ($-NHCOCH_3$) kitin dapat digantikan oleh hidrogen dari OH menjadi gugus amina ($-NH_2$) (Gambar 4). Ukuran besarnya penghilangan gugus asetil pada gugus asetamida kitin dikenal dengan istilah derajat deasetilasi (DD). Jika DD 40-100% (derajat asetilasi, DA kecil dari 40%) disebut kitosan (Terbojevich, 2000:267). Proses penghilangan gugus asetil pada kitin tidak lain adalah untuk transformasi kitin menjadi kitosan.



Gambar 4. Penghilangan gugus asetil pada gugus asetamida (Lee, 2004:16)

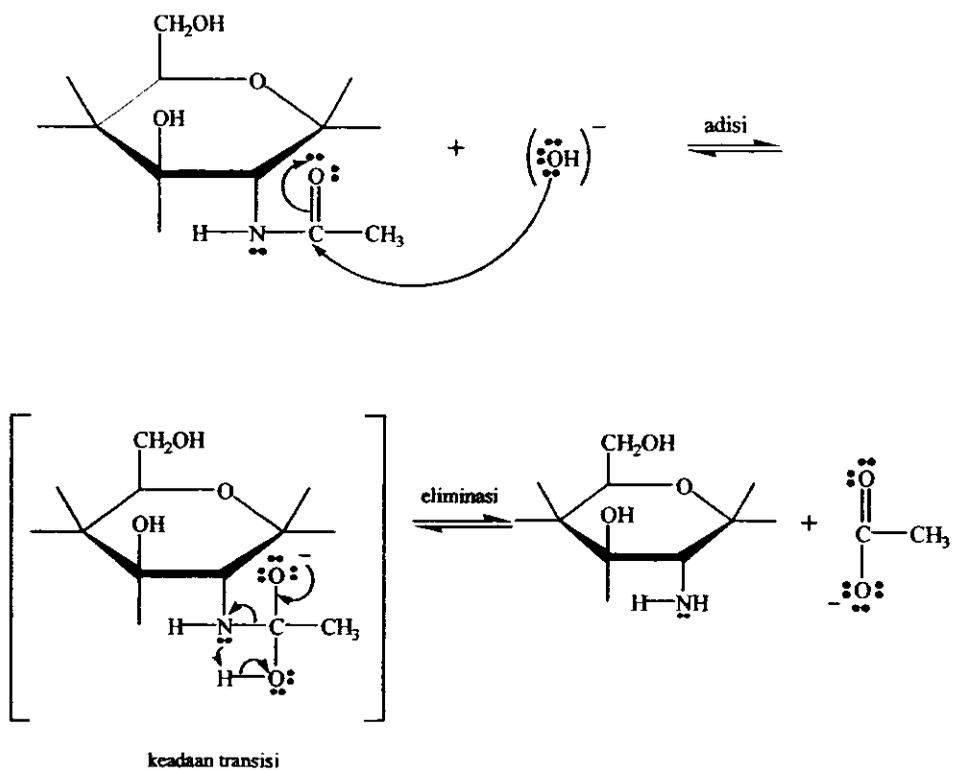
Transformasi kitin menjadi kitosan digunakan basa kuat konsentrasi tinggi (Bastaman,1989;Hang,1989). Fahmi (1997) menggunakan NaOH 50% diperoleh kitosan dengan DD 73,5%. Ardiato (2007) menggunakan NaOH 40% diperoleh kitosan dengan DD 72,28%. Senyawa yang dalam pelarut air termasuk basa kuat diantaranya NaOH dan KOH. KOH merupakan basa yang lebih kuat dibandingkan NaOH. Keefektifan kedua basa ini untuk melepaskan gugus asetil pada gugus asetamida (-NHCOCH₃) kitin menjadi gugus amina (-NH₂) belum pernah dilaporkan. Dengan demikian pada proses transformasi ini terjadi penghilangan gugus asetil.

Proses penghilangan gugus asetil dinamakan dengan deasetilasi. Proses deasetilasi bertujuan untuk memutuskan ikatan kovalen antara gugus asetil dengan nitrogen pada gugus asetamida kitin sehingga berubah menjadi gugus amina (-NH₂). Dengan demikian pelepasan gugus asetil pada asetamida kitin menghasilkan gugus amina terdeasetilasi (Gambar 4).

Mekanisme deasetilasi kitin terjadi pada larutan basa. Dalam larutan basa karbon karbonil suatu ester dapat diserang oleh suatu nukleofil yang baik tanpa protonasi sebelumnya (Fessenden, 1982:134). Proses deasetilasi gugus asetil pada asetamida kitin dapat dijelaskan sebagai berikut: gugus karbon karbonil diserang oleh nukleofil OH⁻

akibatnya terjadi reaksi adisi sehingga terbentuk zat antara. Zat antara ini selanjutnya mengalami reaksi eliminasi sehingga gugus asetil pada asetamida kitin lepas membentuk asetat (Gambar 5).

Proses pelepasan gugus asetil dari gugus asetamida kitin berhubungan dengan konsentrasi ion OH^- pada larutan. Konsentrasi OH^- akan lebih besar pada larutan basa kuat. Semakin kuat suatu basa semakin besar konsentrasi OH^- dalam larutannya. Dengan demikian kekuatan basa mempengaruhi proses deasetilasi gugus asetil dari gugus asetamida kitin. Oleh sebab itu pada penelitian ini digunakan kelompok basa kuat yaitu NaOH dan KOH .



Gambar 5. Mekanisme reaksi pelepasan gugus asetil pada asetamida ($-\text{NHCOCH}_3$) kitin.

D. Kitosan

Kitosan merupakan kitin yang terdeasetilasi. Kitin dan kitosan merupakan nama dua kelompok senyawa yang tidak dibatasi dengan stoikiometri pasti. Kitin adalah poli N-asetil glukosamin yang terdeasetilasi sedikit, sedangkan kitosan adalah kitin yang terdeasetilasi sebanyak mungkin. Kitosan dinamakan poliglukosamin jika kitin terdeasetilasi sempurna (100%).

Perbedaan kitin dengan kitosan dapat didasarkan pada kandungan nitrogennya. Bila nitrogen kurang dari 7%, maka polimer disebut kitin dan apabila kandungan total lebih dari 7% maka disebut kitosan. Derajat deasetilasi (DD) kitin/kitosan dapat ditentukan dengan FTIR. DD kitin komersial 40-100% (derajat asetilasi, DA kecil dari 40%) (Terbojevich,2000:267). Khan, *et al* (2002) menyatakan bahwa kitin dengan DD 75% atau lebih dikenal sebagai kitosan. DD adalah salah satu karakteristik kimia yang paling penting dari kitosan karena DD mempengaruhi *performance* kitosan pada banyak aplikasinya (Khan *et al*, 2002:2). M_r kitosan sekitar $1,2 \times 10^5$ bergantung pada degradasi yang terjadi selama proses deasetilasi.

Sifat-sifat kitosan dihubungkan dengan adanya gugus-gugus fungsi amina, gugus hidroksi primer dan hidroksi sekunder. Adanya gugus ini menyebabkan kitosan mempunyai kereaktifan kimia yang tinggi dibandingkan kitin. Gugus-gugus fungsi tersebut menyebabkan kitosan dapat berinteraksi dengan zat-zat organik seperti protein, sehingga kitosan relatif lebih banyak digunakan pada berbagai bidang industri terapan dan kesehatan (Purwantiningsih, 1992:10). Selain itu kitosan dapat dimodifikasi strukturnya melalui gugus-gugus fungsi tersebut.

Kitosan merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, larutan basa kuat, sedikit larut dalam HCl dan HNO₃ dan tidak larut dalam H₂SO₄. Kitosan mudah mengalami degradasi. Kitosan dapat dengan mudah berinteraksi dengan zat-zat organik seperti

protein. Oleh sebab itu kitosan lebih banyak ada bidang industri terapan dan industri kesehatan (Purwantingsih, 1992:10). Pelarut kitosan yang baik adalah asam asetat (Widodo, 2006).

Kitosan mempunyai banyak kegunaan dan keunggulan dibandingkan kitin sehingga kitosan dijuluki sebagai *magic of nature*. Kitosan dapat digunakan pada prosesing makanan, pengobatan, bioteknologi dan menjadi material yang menarik pada aplikasi *biomedical* dan *pharmaceutical*. Hal ini karena kitosan tidak toksik, *biological activity*, *biocompatibility*, *biodegradability*, dan dapat dimodifikasi secara kimia dan fisika (Lee,2004:3). Lee (2004) memodifikasi kitosan yang dapat digunakan untuk detoksifikasi. Mello *et al* (2006) memodifikasi kitosan menjadi N-succinil-kitosan yang merupakan turunan kitosan yang lebih mudah larut dalam air. Sifat ini sangat penting pada penggunaan kitosan pada sistem biologi. Pada prosesing makanan kitosan dapat dimanfaatkan sebagai pengawet ikan dan tahu (Hardjito, 2006.). Kitosan dapat juga digunakan sebagai bioabsorben logam-logam berat beracun pada limbah perairan (Marganof,2003). Karakteristik kitosan yang penting adalah derajat deasetilasi (DD). Nilai DD dapat ditentukan dengan FTIR (*Fourier-Transform Infrared*).

E. Penentuan DD kitin dengan FTIR

FTIR adalah suatu metoda karakterisasi gugus fungsi atau senyawa berdasarkan pada serapan radiasi inframerah oleh atom yang mengalami vibrasi. Analisa ini berdasarkan pada fakta bahwa molekul memiliki frekuensi vibrasi yang spesifik. Frekuensi ini terjadi dalam spektrum elektromagnetik daerah inframerah pada bilangan gelombang $4000-400\text{ cm}^{-1}$.

Apabila sampel diletakkan dalam sinar inframerah, maka sampel akan menyerap radiasi tersebut pada frekuensi yang sesuai dengan frekuensi vibrasi molekular, tetapi

meneruskan semua frekuensi lainnya. Frekuensi radiasi yang diserap akan diukur oleh spektrofotometer FTIR dan menghasilkan plot antara intensitas radiasi yang terukur versus panjang gelombang atau bilangan gelombang dikenal sebagai spektrum inframerah (Smith, 1998:5).

Derajat deasetilasi kitin ditentukan dengan metoda *base-line*. Metoda ini berdasarkan perbandingan nilai absorbansi pita serapan dari spektrum inframerah pada bilangan gelombang 1655 cm^{-1} dan 3450 cm^{-1} . Absorbansi (A) dinyatakan sebagai persamaan (1), sedangkan nilai DD dinyatakan sebagai persamaan (2).

$$A = \log \frac{P_0}{P} \quad (1)$$

Dimana, P_0 = % transmittan pada base-line (serapan maksimum)
 P = % transmittan pada serapan maksimum

$$\%DD = 100 - [(A_{1665}/A_{3450}) \times 115] \quad (2)$$

Nilai A_{1655} dan A_{3450} merupakan nilai A yang sesuai untuk pita serapan 1655 cm^{-1} dan 3450 cm^{-1} . Pita serapan 1655 cm^{-1} merupakan pita serapan karbonil gugus N-asetil sedangkan pita serapan 3450 cm^{-1} merupakan pita serapan gugus NH_2 (Khan *et al.*, 2002:3; Mello *et al.*, 2006:666).

BAB III

TUJUAN PENELITIAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh NaOH dan KOH masing-masing dengan konsentrasi 40%, 50% terhadap DD kitin; menentukan konsentrasi basa yang menghasilkan DD kitin yang paling besar.

B. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian adalah memberikan kontribusi pada perkembangan IPTEK dalam bidang biokimia, khususnya biopolimer yaitu memberikan informasi tentang pembuatan kitosan dari kitin limbah udang yang dapat digunakan diantaranya sebagai pengawet pangan.

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang dilakukan di laboratorium Biokimia dan Laboratorium Penelitian FMIPA UNP dari bulan Juli sampai dengan September 2009. Pengukuran spektrofotometer FTIR kitin dan kitosan dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Andalas Padang.

B. Variabel Penelitian

Variabel bebas penelitian ini adalah jenis basa dan konsentrasi basa. Variabel terikat adalah DD kitin yang terbentuk dari kitin yang diisolasi dari limbah kulit udang.

C. Disain Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor dan 2 kali ulangan. Faktor 1 adalah jenis basa yang terdiri dari 2 level yaitu KOH dan NaOH. Faktor 2 adalah variasi konsentrasi basa yaitu 40% dan 50%.

D. Objek Penelitian

Objek penelitian adalah kulit udang putih yang diambil di Pasar Pagi Purus Padang.

E. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan gelas, blender giling/tepung, oven, kertas pH, kertas saring, FTIR spektrometer, ayakan 40-60 mesh, neraca analitik, botol reagen, labu ukur (1L, 100mL, 10mL), labu semprot, batang pengaduk, pipet tetes, pipet mikro, gelas kimia (1L, 250mL, 50mL), kaca arloji, corong dan tabung reaksi. Bahan yang digunakan adalah kulit udang, NaOH, KOH, aquades, aseton dan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$.

F. Prosedur penelitian

Langkah-langkah utama penelitian adalah : (1).Persiapan sampel kulit udang; (2) Isolasi kitin dari kulit udang dan deasetilasi. Secara rinci langkah pembentukan kitosan dari kitin hasil isolasi limbah udang pada variasi jenis dan konsentrasi basa adalah sebagai berikut :

a. Persiapan sampel

Limbah kulit udang dibersihkan dari sisa kotoran dan daging udang yang tertinggal pada kulit. Kulit udang diucuri bersih dengan air berkali-kali. Kulit udang dikeringkan dalam oven suhu 40^oC selama 3 jam. Kulit udang kering digiling kasar dengan blender.

b. Isolasi kitin

Isolasi kitin dan proses deasetilasi kitin dilakukan sesuai metoda Hang (Fahmi, 1997:61-68). Isolasi kitin dari kulit udang meliputi tahap deproteinisasi dan demineralisasi dan tahap dekolorisasi.

Tahap Deproteinisasi

Sebanyak 50 gram sampel kulit udang dimasukkan ke dalam gelas kimia dan ditambah 500 mL NaOH 3,5%. kemudian dimasukkan ke dalam oven suhu 65^oC selama 4 jam. Larutan dipisahkan dari residu kulit udang. Residu kulit udang dinetralkan dengan aquadest.

Untuk menentukan residu masih mengandung protein atau tidak dilakukan identifikasi protein yaitu tes Biuret. Sebanyak 0,5 g residu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dtambahkan beberapa tetes NaOH 10% dan 2 tetes larutan CuSO₄. Jika warna biru tidak berubah, berarti kandungan proteinnya telah habis. Apabila kandungan protein masih ada maka dilakukan pengulangan perendaman dengan NaOH 3,5% seperti prosedur di atas. Residu dianalisa kembali dengan tes Biuret. Setelah residu bebas protein, dilanjutkan dengan tahap demineralisasi.

Tahap Demineralisasi

Residu dimasukkan dalam gelas kimia 1 L dan ditambahkan secara perlahan HCl 1,0 N. Penambahan HCl dilakukan sambil pengadukan sampai semua gas CO₂ habis (30 menit). Residu dipisahkan dari larutan, dinetralkan dengan aquadest.

Tahap Dekolorisasi

Kitin direndam dengan 500 mL aseton selama 15 menit, kemudian disaring. Kitin direndam dengan 100 mL Na₂S₂O₄ 3,5% selama 2,5 jam. Kitin disaring dan dicuci dengan aquades sampai pH netral, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 65⁰C. selama 4 jam. Kitin yang diperoleh dikarakterisasi dengan spektrometer FTIR.

c. Deasetilasi

Satu gram kitin ditambahkan 100 mL KOH atau NaOH dengan variasi konsentrasi. Reaksi dilakukan pada suhu 100⁰C selama 5 jam. Larutan dipisahkan dari residu dan residu dinetralkan melalui pencucian dengan aquades berkali-kali. Residu dikeringkan selama 4 jam pada suhu 60⁰C. Setelah kering, residu digiling halus dan diayak dengan ukuran 20-40 mesh. Residu tersebut dikarakterisasi dengan spektrofotometer FTIR.

d. Pengukuran dengan spektrofotometer FTIR

Kitin atau kitosan disimpan dalam desikator selama satu hari sebelum dibuat pelet KBr. Pembuatan pelet KBr dilakukan dengan mencampurkan sampel ± 1 mg dan KBr 10-100 mg. Campuran serbuk digerus sampai homogen dan ditekan dengan pompa hidrolis. Pelet yang diperoleh dianalisa dengan spektrofotometer FTIR.

G. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan Sidik Ragam untuk menentukan adanya perbedaan pada taraf kepercayaan 95% (α : 0,05) dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) pada taraf kepercayaan (α : 0,05) (Wapolle, 1992:403).

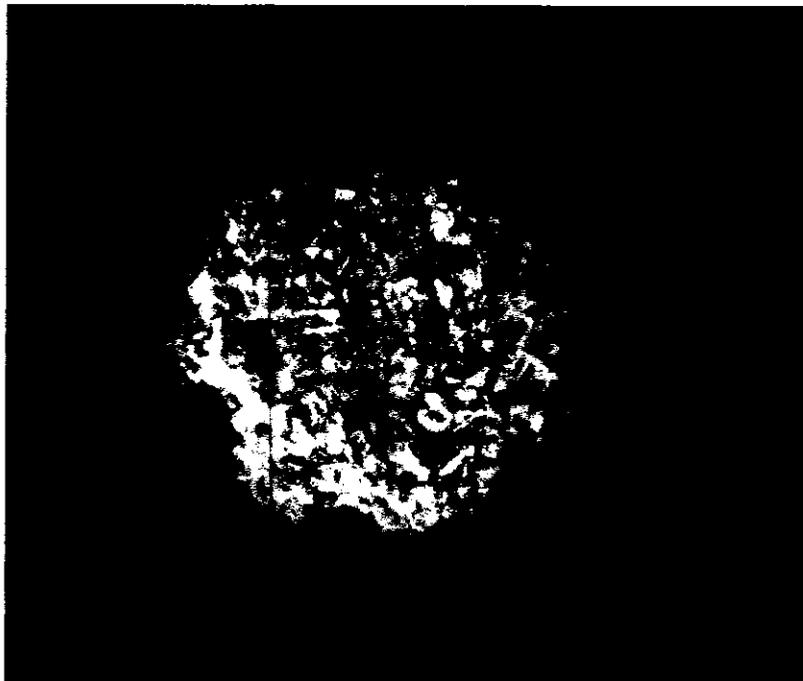
BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Isolasi kitin dari limbah kulit udang

Limbah kulit udang dipisahkan dari kulit kepala, dan ekor udang. Kulit udang dibersihkan dan dikeringkan pada oven ($40-45^{\circ}\text{C}$) selama 3 jam. Kulit udang kering digiling kasar. Kulit udang kering dipisahkan dari protein dengan merendam dalam larutan NaOH. Kulit udang bebas protein dipisahkan dari mineral dengan cara merendam dalam larutan HCl. Deklorinasi pada kulit udang yang bebas protein dan mineral dilakukan dengan cara merendam dalam larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. Kitin yang diperoleh 27,97 gram dari 135 gram kulit udang kering. Foto kitin dimuat pada Gambar 6.



Gambar 6. Kitin yang diisolasi dari kulit udang kering

2. DD Kitin Hasil Isolasi dan Deasetilasi

Kitin hasil isolasi dideasetilasi menggunakan larutan NaOH dan KOH masing-masing dengan konsentrasi 40% dan 50%. DD kitin diperoleh besar dari 45%. Dengan demikian proses deasetilasi kitin dengan NaOH dan KOH konsentrasi 40% dan 50% telah diperoleh kitosan (Gambar 7).



A

B

C

D

Gambar 7. Kitosan

A. Kitin yang dideasetilasi dengan NaOH 40%; B. Kitin yang dideasetilasi dengan NaOH 50%; C. Kitin yang dideasetilasi dengan KOH 40%; D. Kitin yang dideasetilasi dengan KOH 50%.

DD kitin sebelum deasetilasi dan DD kitin setelah deasetilasi dengan larutan NaOH dan KOH ditentukan dari spektrum FTIR menggunakan persamaan 2. Proses deasetilasi kitin dengan NaOH, KOH dan pengukuran spektrum kitin hasil deasetilasi menggunakan spektrofotometer FTIR dilakukan masing-masing dua kali. Spektrum inframerah kitin dan kitin terdeasetilasi dimuat pada Lampiran 2, 3 dan 4.

Tabel 1. %DD kitin pada variasi konsentrasi NaOH dan KOH

Konsentrasi larutan basa	%DD ulangan ke-1	%DD ulangan ke-2	%DD rata-rata
NaOH 40%	59,3136	55,3230	57,3183
NaOH 50%	66,6768	64,5960	65,6364
KOH 40%	62,4743	60,3572	61,4158
KOH 50%	63,3750	64,2735	63,8243
Kontrol (kitin hasil isolasi)	3,3165		

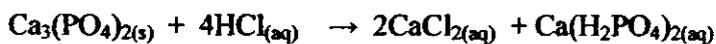
B. Pembahasan

1. Isolasi kitin dari kulit udang

Isolasi kitin dari kulit udang pada prinsipnya adalah memisahkan kitin dari komponen-komponen protein dan kalsium karbonat. Hal ini karena kulit udang terdiri dari tiga komponen utama yaitu protein (25%-44%), kalsium karbonat (45%-50%), dan kitin (15%-20%) (Fohcher, 1992:97). Proses penghilangan protein dari kulit udang dikenal dengan deproteinisasi. Keefektifan proses deproteinisasi tergantung pada kekuatan basa yang digunakan (Purwaningsih, 1993:29). Pada penelitian ini digunakan larutan basa NaOH 3,5%.

Hasil uji Biuret kulit udang telah bebas protein memberikan uji negative yaitu tidak terbentuknya warna ungu akibat pembentukan kompleks Biuret yang merupakan kompleks koordinasi dari atom Cu^{+2} pada reagen Biuret dengan empat atom nitrogen pada untai peptide/protein dalam larutan alkalin (Clark, 1977:75).

Proses penghilangan mineral dari kulit udang dikenal dengan istilah demineralisasi. Mineral yang dihilangkan adalah CaCO_3 dalam jumlah besar dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dalam jumlah kecil. Mineral ini dipisahkan dari kulit udang dengan cara merendam kulit udang dalam larutan HCl. Akibatnya adalah dilepaskan gas CO_2 dan terbentuk ion Ca^{+2} , ion H_2PO_4^- yang terlarut dalam larutan berair. Persamaan reaksi dapat ditulis seperti di bawah ini.



Warna pada kulit udang terutama disebabkan oleh senyawa karoten, beberapa komponen astacene, asthaxantin, chataxanthin dan lutein (Robert, 1992:58), Senyawa ini dihilangkan dari kulit udang dengan bleaching dengan NaS_2O_4 . Selanjutnya gugus asetil pada kitin dilepaskan yang dikenal dengan deasetilasi.

2. Proses deasetilasi kitin

Proses penghilangan gugus asetil ($-\text{CH}_3\text{COO}^-$) dari gugus asetamida ($-\text{NHCOCH}_3$) sehingga terbentuk gugus amina ($-\text{NH}_2$) disebut juga deasetilasi. Jika gugus asetil lepas dari kitin maka disebut deasetilasi kitin. Mekanisme deasetilasi kitin terjadi pada larutan basa. Dalam larutan basa karbon karbonil suatu ester dapat diserang oleh suatu nukleofil yang baik tanpa protonasi sebelumnya (Fessenden, 1982:134). Proses deasetilasi gugus asetil pada asetamida kitin dapat dijelaskan sebagai berikut: gugus karbon karbonil diserang oleh nukleofil OH^- , akibatnya terjadi reaksi adisi sehingga terbentuk zat antara. Zat antara ini selanjutnya mengalami reaksi eliminasi sehingga gugus asetil pada asetamida kitin lepas membentuk asetat (Gambar 5).

Proses pelepasan gugus asetil dari gugus asetamida kitin berhubungan dengan konsentrasi ion OH^- pada larutan. Konsentrasi OH^- akan lebih besar pada larutan basa kuat. Semakin kuat suatu basa semakin besar konsentrasi OH^- dalam larutannya. Dengan demikian kekuatan basa mempengaruhi proses deasetilasi gugus asetil dari gugus asetamida kitin. Oleh sebab itu pada penelitian ini digunakan kelompok basa kuat yaitu NaOH dan KOH . KOH adalah basa yang lebih kuat dibandingkan NaOH .

3. Spektrum FTIR kitin dan kitin hasil deasetilasi

Pita serapan spektrum FTIR kitin hasil isolasi dan kitin terdeasetilasi oleh larutan NaOH dan KOH dimuat pada Lampiran 2, 3 dan 4. Karakteristik pita pada spektrum FTIR kitin dimuat pada Tabel 2, sedangkan karakteristik pita pada kitin terdeasetilasi oleh larutan NaOH dan KOH dimuat pada Tabel 3. Yang perlu diperhatikan adalah perbandingan nilai absorbansi pita serapan dari spektrum inframerah pada bilangan gelombang 1655 cm^{-1} dan 3450 cm^{-1} . Pita serapan 1655 cm^{-1} merupakan pita serapan

karbonil gugus N-asetil sedangkan pita serapan 3450 cm^{-1} merupakan pita serapan gugus NH_2 (Khan *et al.*,2002:3; Mello *et al.*,2006:666).

Tabel 2. Karakteristik pita pada spektrum FTIR kitin

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Vibrasi
3437	Vibrasi ulur N-H amida sekunder
2890	Vibrasi ulur C-H alifatik
1651	Vibrasi ulur C=O
1559	Vibrasi tekuk N-H amina sekunder
1439	Vibrasi ulur C-N amina alifatik
1315	Vibrasi ulur C-N

Tabel 3. Karakteristik pita pada spektrum FTIR kitin terdeasetilasi

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Vibrasi
3435	Vibrasi ulur N-H amida primer
2875	Vibrasi ulur C-H alifatik
1651	Vibrasi tekuk N-H amida sekunder
1378	Vibrasi tekuk N-H amina alifatik

Berdasarkan persamaan 2, DD kitin hasil isolasi yang diperoleh adalah 3,3165%. Angka ini menunjukkan bahwa kitin hasil isolasi masih dikelompokkan kitin. Baxter (1992) menyatakan bahwa kitin mempunyai derajat deasetilasi 0-45%. Proses deasetilasi kitin hasil isolasi menggunakan larutan NaOH dan KOH 40% dan 50% menghasilkan DD di atas 45% (Tabel 2). Hal ini dapat diartikan bahwa proses deasetilas menggunakan larutan NaOH dan KOH 40% dan 50% telah menghasilkan kitosan.

DD kitin terdeasetilasi lebih besar menggunakan larutan KOH dibandingkan larutan NaOH. Hal ini dapat dijelaskan bahwa KOH merupakan basa yang lebih kuat dibandingkan NaOH. Kekuatan basa berhubungan dengan jumlah OH^- yang dapat ditambahkan ke dalam air. Jumlah OH^- akan lebih banyak dilepaskan ke air dari KOH

dibandingkan NaOH. Walaupun demikian perbedaan ini ternyata tidak begitu berarti menurut analisa varians pada $\alpha=0,05$.

DD kitin dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya kekuatan basa, konsentrasi basa, waktu reaksi dan suhu. Variasi konsentrasi NaOH dan KOH menunjukkan variasi jumlah OH⁻ yang akan bereaksi selama proses deasetilasi dan juga menunjukkan variasi konsentrasi ion Na⁺ dan K⁺ dalam medium. Semakin banyak OH⁻ dalam larutan semakin besar kemungkinan penyerangan gugus karbon karbonil pada asetamida sehingga lebih besar kemungkinan asetil dilepaskan. Proses penyerangan ini diduga dipengaruhi pula oleh keberadaan ion-ion lainnya pada medium reaksi seperti ion Na⁺, ion K⁺. Ukuran ion K⁺ lebih besar dibandingkan ion Na⁺ sehingga cukup menghalangi penyerangan ion OH⁻ pada gugus karbon karbonil pada asetamida jika jumlahnya banyak. Hal ini diduga terjadi pada konsentrasi NaOH 50% dan KOH 50%, sehingga teramati DD yang lebih besar pada konsentrasi NaOH 50%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Penelitian pengaruh jenis dan konsentrasi basa terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang dapat disimpulkan bahwa KOH dan NaOH dengan variasi konsentrasi 40% dan 50% tidak berpengaruh nyata terhadap DD kitin. DD kitin paling tinggi dihasilkan pada NaOH 50 %.

B. Saran

Berdasarkan penemuan pada penelitian ini, disarankan :

1. Meneliti lanjut deasetilasi kitin dengan variasi lain seperti temperatur dan pengadukan
2. Meneliti lanjut kegunaan kitosan sebagai pengawet pangan
3. Meneliti lanjut kitin sebagai substrat kitinase

DAFTAR PUSTAKA

- Ardiato, T. (2007). Upaya pemanfaatan limbah kulit rajungan (*Portunus pelagicus*) sebagai membran kitosan crosslinked formaldehid. FMIPA Airlangga.
- Bastaman (1989). Studies on degradation and extraction of chitin and chitosan from prawn shells. The Queen University of Belfast. England.
- Clark, J.M and Switzer, R.L. (1977). *Experimental Biochemistry*, 2nd edition. San Francisco: WH Freeman and Company.
- Fahmi, R. (1997). Isolasi dan Transformasi Kitin menjadi Kitosan. *Jurnal Kimia Andalas*. Vo.3. No.1. 61-68.
- Fessenden, R.J and Fessenden, J.S (1984). *Kimia Organik*. Edisi kedua. Jakarta: Erlangga
- Fohcher, B; Naggi, A; Tarri, G; Cosami, A; Terbojevich, M (1992). Structural differences between chitin polymorphs and their precipitates from solution evidences from CP-MAS 13 C-NMR, FTIR and FT-Raman Spectroscopy. *Carbohydrate polymer*, 17 (2):97-102.
- Haliman, R (2005). *Udang Vannamei*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Hang K (1989). Isolation and Characterization of chitin from crawfish shell waste, *Journal Agriculture and Food chemistculture and Food chemistry*. Vol.37.no.3
- Hariadi, S. (1994). *Pengolahan Udang Beku*. Surabaya: Karya anda
- Hardjito, L (2006). Chitosan lebih awet dan aman. www.gramedia-majalah.com. Diakses tanggal 24 Desember 2007.
- Horton, R.H; Moran, L.A; Ochs, R.S; Rawn, J.D; Scrimgeour, K.G (2002). *Principles of Biochemistry*. Third edition. New York : Prentice-Hall, Inc
- Khan, T.A; Peh, K.K; Ch'ng, H.S. (2002). Reporting degree of deacetylation of chitosan : the influence of analytical method.
- Lang, G (1995). Chitosan Derivatives-preparatin and potential use. Collection of working papers. UKM
- Lee, D.W (2004). Engineered chitosans for drug detoxification preparation, characterization and drug uptake studies. *Dissertation*. University of Florida.
- . Chitosan sebagai bahan pengganti formalin lebih aman sebagai pengawet makanan. *Kompas*.
- Marganof (2003). Potensi limbah udang sebagai penyerap logam berat (Timbal, Kadmium, dan tembaga) di Perairan. Review. Pascasarjana. IPB

- Mello,KGPC; Bernusso, LC; Pitombo, RNM; Polakiewicz,B (2006).Synthesis and physicochemical characterization of chemically chitosan by succinic anhydride. *Brazilian archives of biology and technologyl*. Vol49.no4:665668.
- Prasetyo, KW (2004). *Khitosan, Pengendali Rayap Ramah Lingkungan*. LIPI Bogor
- Purwaningsih, S (2000). *Teknologi Pembekuan Udang*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Purwatiningsih (1993). *Isolasi Kitin Senyawaan Kimia dari Limbah Kulit Udang Windu (Panaeu monodon)*. *Skripsi*. Bandung: Jurusan kimia ITB.
- Robert, G.A.F (1992). *Chittin Chemistry*. London: The Macmillan Press Ltd
- Shimjoh,M;Fukushima,K;Kurita,K.L (1998). Low molecular-weight chitosan derived from β -chitin preparation, molecular characteristic and aggregation activity. *Carbohydr.Polym*,35:223-231.
- Smith,B.(1998).*Infrared Spectral Interpretation*. New York: CRC Press.
- Terbojevich, M; Muzzarelli,RAA (2000). *Chitosan*. University of Ancona
- Wapole RE.(1992). *Pengantar Statistik*. Edisi ke-3. Jakarta: Gramedia.
- Widodo, A; Mardiah, Prasetyo A (2006). *Potensi kitosan dari sisa udang sebagai koagulan logam berat limbah cair industri tekstil*. ITS Surabaya.
- Yanming, D; Congyi, XU; Jianwei, W; Mian,W; Yusong, WU; Yonghong, R (2001). *Determination of degree of substitution for N-acylated chitosan using IR spectra*. *Science in Chine*. Vol.44.No.2:216-224.

Lampiran 1

CURICULUM VITAE

Peneliti

1. Nama : Dra. Minda Azhar, M.Si
2. NIP : 131972090
3. Tempat dan Tanggal Lahir : Bukittinggi, 24 November 1964
4. Pangkat / Golongan : Pembina Tingkat I / IVb
5. Jabatan : Lektor kepala
6. Jabatan Struktural : -
7. Jurusan : Kimia
8. Fakultas : FMIPA
9. Nama Instansi : Universitas Negeri Padang
10. Alamat Instansi : Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Padang
11. Alamat rumah / Email : Jl/Angrek 28 Komplek UNP
/minda@fmipa.unp.ac.id.
12. Bidang Keahlian : Biokimia
13. Pendidikan

Jenjang Pendidikan	Tahun Selesai	Bidang Studi /Keahlian	Perguruan Tinggi / Sekolah	Tempat
S-2	1996	Biokimia	ITB	Bandung
S-1	1990	Pendidikan Kimia	IKIP Padang	Padang
SMA	1984	IPA/PALMA	PPSP IKIP Padang	Padang
SMP	1982	-	PPSP IKIP Padang	Padang
SD	1979	-	Angkasa II	Padang

14. Publikasi / Penelitian dalam Bidang Studi / Keahlian

Publikasi melalui jurnal

- a. Menulis artikel pada Jurnal Kimia Andalas dengan judul "Kloning gen *sal4-13 Saccharomyces cerevisiae* dengan metoda *Allele Rescue*" (1997).
- b. Menulis artikel pada Forum Pendidikan IKIP Padang dengan judul "Penentuan urutan nukleotida mutan *sal4-13 Saccharomyces cerevisiae*" (1997)
- c. Menulis artikel pada Buletin IKIP Padang dengan judul "AZT sebagai terapi AIDS" (1998)
- d. Menulis artikel pada Jurnal Kimia Andalas dengan judul "Proses translasi pada ragi *Saccharomyces cerevisiae*" (1999)
- e. Menulis artikel pada Jurnal Saintek dengan judul "Kloning gen mutan *sal4* pada ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan vector plasmid pUKC-802" (2000)
- f. Menulis artikel pada Jurnal Eksakta dengan judul "Dideoksi-Sanger, suatu metoda penentuan urutan nukleotida DNA" (2000)
- g. Menulis artikel pada Jurnal Stigma dengan judul "Penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* amobil dengan media pendukung agar-bentonit untuk pembuatan minyak secara fermentasi" (2001)
- h. Menulis artikel pada Jurnal Stigma dengan judul "Amobilisasi *Saccharomyces cerevisiae* dengan agar-zeolit, agar-perlit untuk pemisahan minyak dari santan kelapa" (2001)

- i. Menulis artikel pada Jurnal Stigma dengan judul “Penentuan waktu dan suhu optimum pemisahan minyak dari santan kelapa menggunakan bromelain bongkol nenas” (2004)
- j. Menulis artikel pada Jurnal Eksakta dengan judul “Hidroksilapatit sebagai material biokeramik” (2004)
- k. Menulis artikel pada Jurnal Pembelajaran dengan judul “Pembelajaran konsep mol dengan cara faktor-label dan cara rumus”(2004)
- l. Menulis artikel pada Jurnal Sainstek dengan judul “Efektivitas ekstrak bromelain dari bongkol buah dan batang nenas terhadap jumlah minyak yang dipisahkan dari santan kelapa” (2006)
- m. Menulis artikel pada Jurnal Sainstek dengan judul “Aktivitas enzim inulinase yang diekstraksi dengan etanol dari umbi tanaman dahlia” (2007)

Publikasi melalui seminar

- a. Presentasi pada Seminar Reguler PK-PKLH di IKIP Padang dengan judul “Sianida sebagai inhibitor rantai pernafasan” (1977)
- b. Presentasi pada Seminar Reguler di Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA IKIP Padang dengan judul “PCR, suatu metoda perbanyak DNA secara invitro”(1999)
- c. Presentasi pada Seminar dan Rapat Tahunan ke-20 di UIN Jakarta dengan judul “Karakteristik set yoghurt dari susu skim akibat penambahan inulin”(2007).

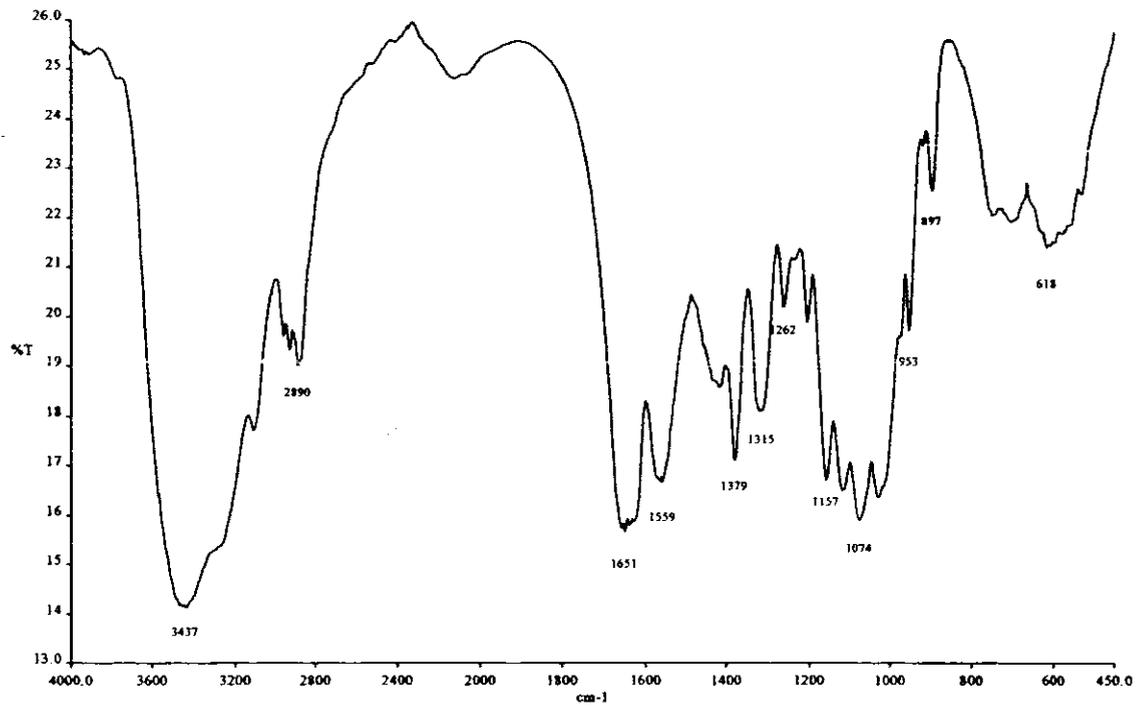
Penelitian

- a. Penentuan M_v polistirena dengan cara viskometer Ostwald dan pengaruh temperatur terhadap viskositas cairan (1994)
- b. Kloning dan penentuan urutan nukleotida mutan *sal4-13 Saccharomyces cerevisiae* (1996)
- c. Amobilisasi *Saccharomyces cerevisiae* dengan zeolit, bentonit, dan perlit untuk pembuatan minyak kelapa secara fermentasi berulang (1999)
- d. Menentukan taraf intensitas (tingkat kebisingan) bunyi dalam angkutan kota di Kodya padang (2000)
- e. Pemanfaatan bromelain bongkol nenas pada proses pemisahan minyak dari santan kelapa (2000)
- f. Efektivitas ekstrak bromelain dari bongkol dan batang nenas terhadap jumlah minyak yang dipisahkan dari santan kelapa (2005)
- g. Pengaruh penambahan inulin pada karakteristik set yoghurt dari susu skim (2006)
- h. Aktivitas enzim inulinase umbi dahlia hasil fraksinasi dengan etanol (2006)
- i. Aktivitas enzim inulinase umbi dahlia yang diekstraksi dengan ammonium sulfat (2008)
- j. Pembuatan media pembelajaran berbasis computer dalam bentuk CD interaktif untuk pembelajaran kimia di SMA (2008)
- k. Efektivitas pengekstrak etanol, propanol dan aseton terhadap aktivitas inulinase yang diekstraksi dari umbi dahlia (2008)

Padang, Oktober 2009

Dra. Minda Azhar, M.Si
NIP. 131972090

Lampiran 2
Spektrum FTIR kitin yang diisolasi dari kulit udang



Gambar 8. Spektrum FTIR Kitin

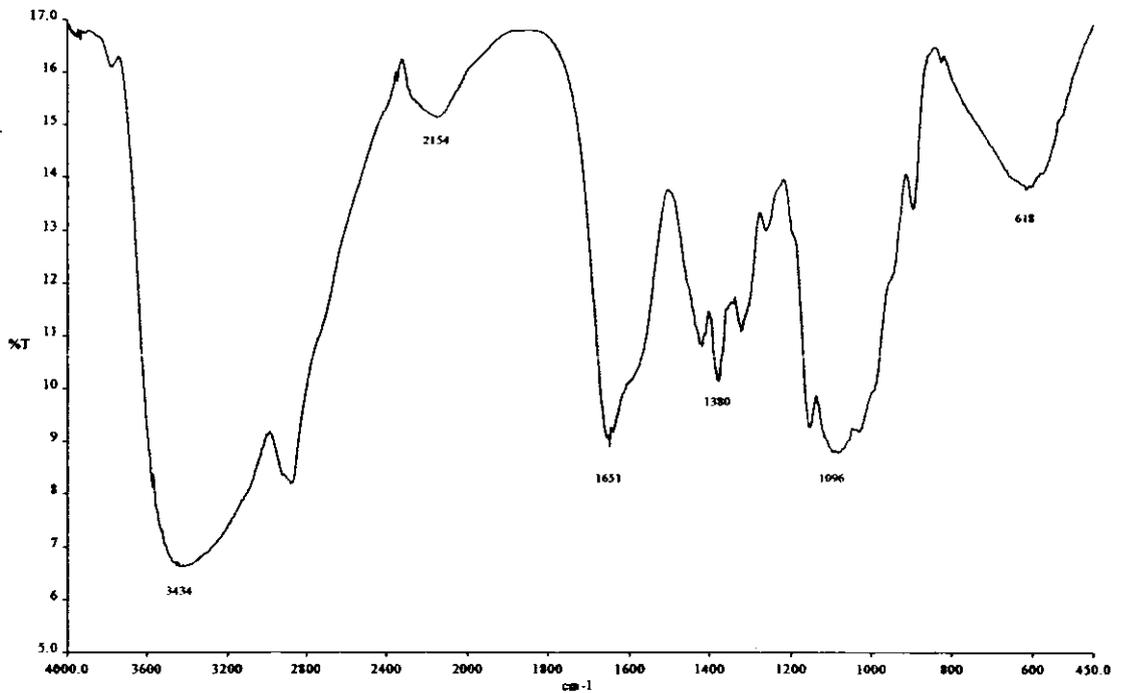
Perhitungan derajat deasetilasi kitin ?

$$A_{1651} = \log 20,00/15,60 = 0,0834$$

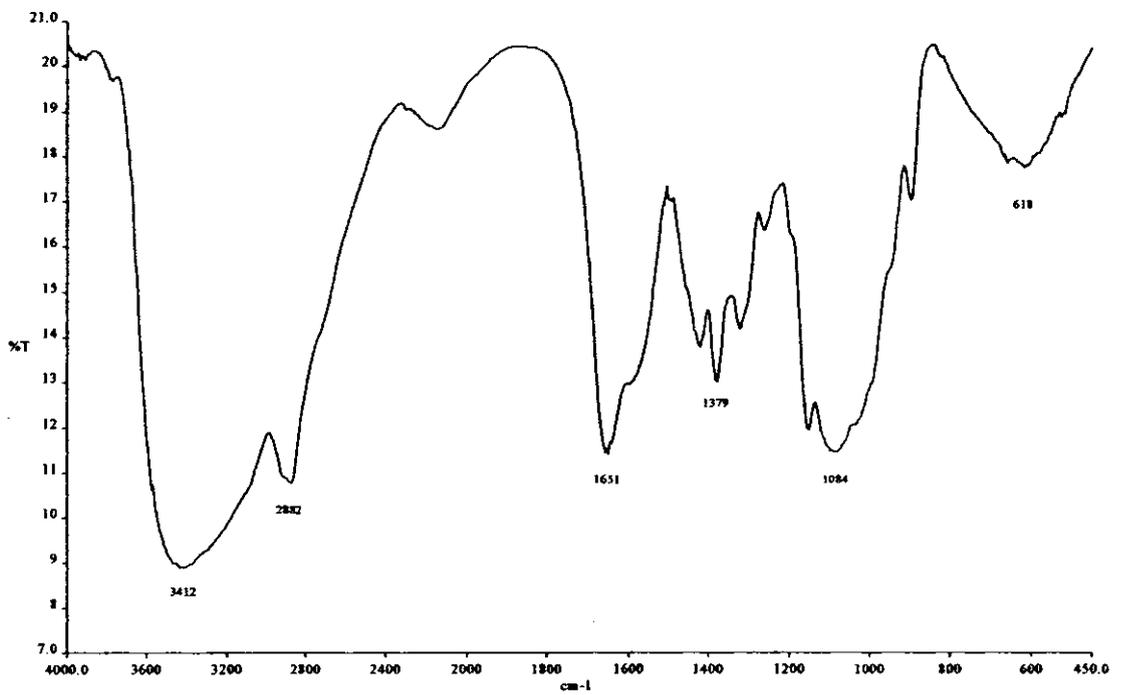
$$A_{3437} = \log 25,60/14,20 = 0,0992$$

$$\%DD_{\text{kitin}} = 100 - [(0,0834/0,0992) \times 115] = 3,3165$$

Lampiran 3
Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh NaOH
(Pengukuran ke-1)

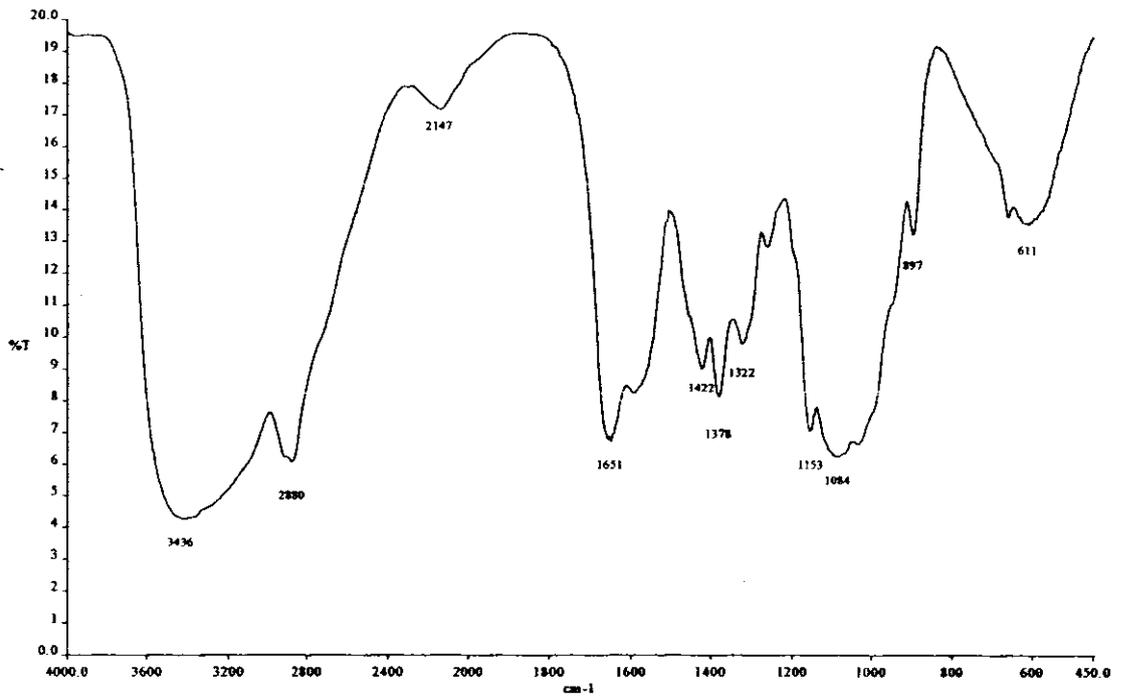


Gambar 9. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh NaOH 40% (I)

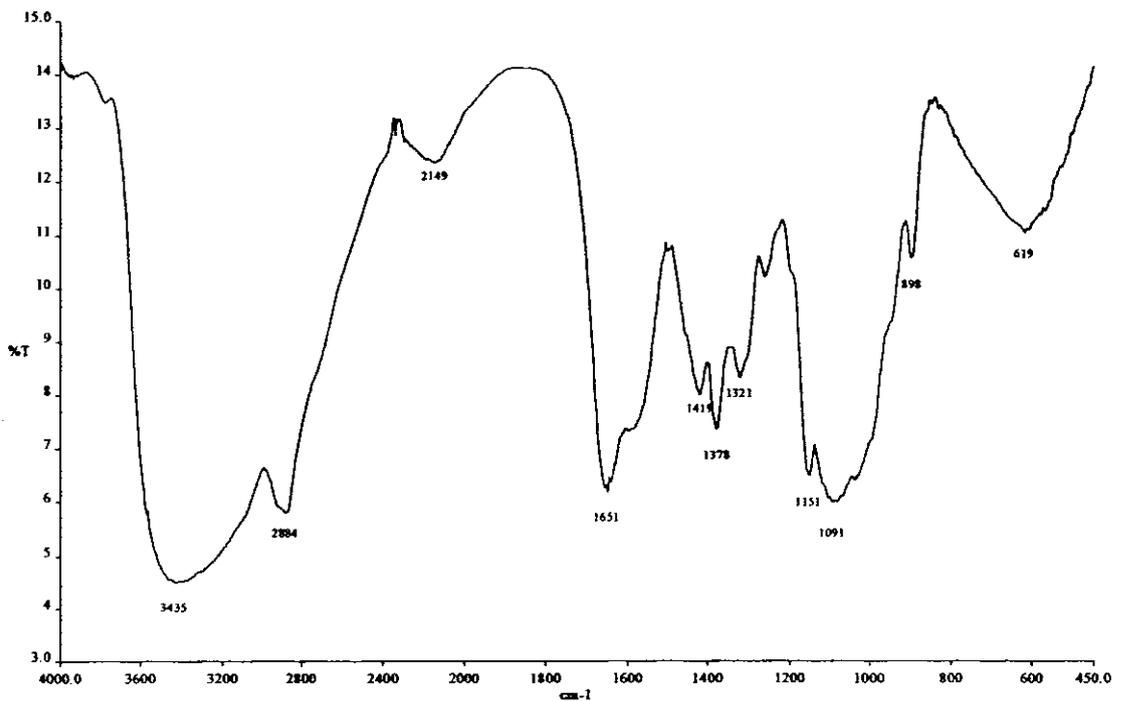


Gambar 10. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh NaOH 50% (I)

Pengukuran ke-2

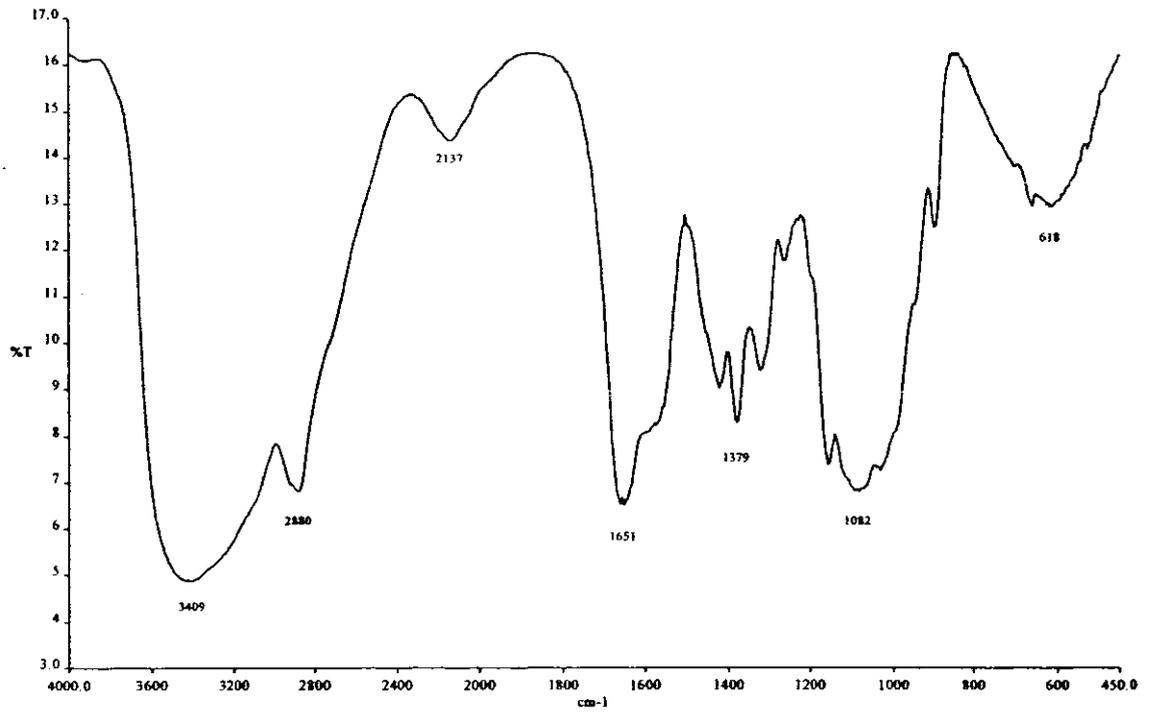


Gambar 11. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh NaOH 40% (II)

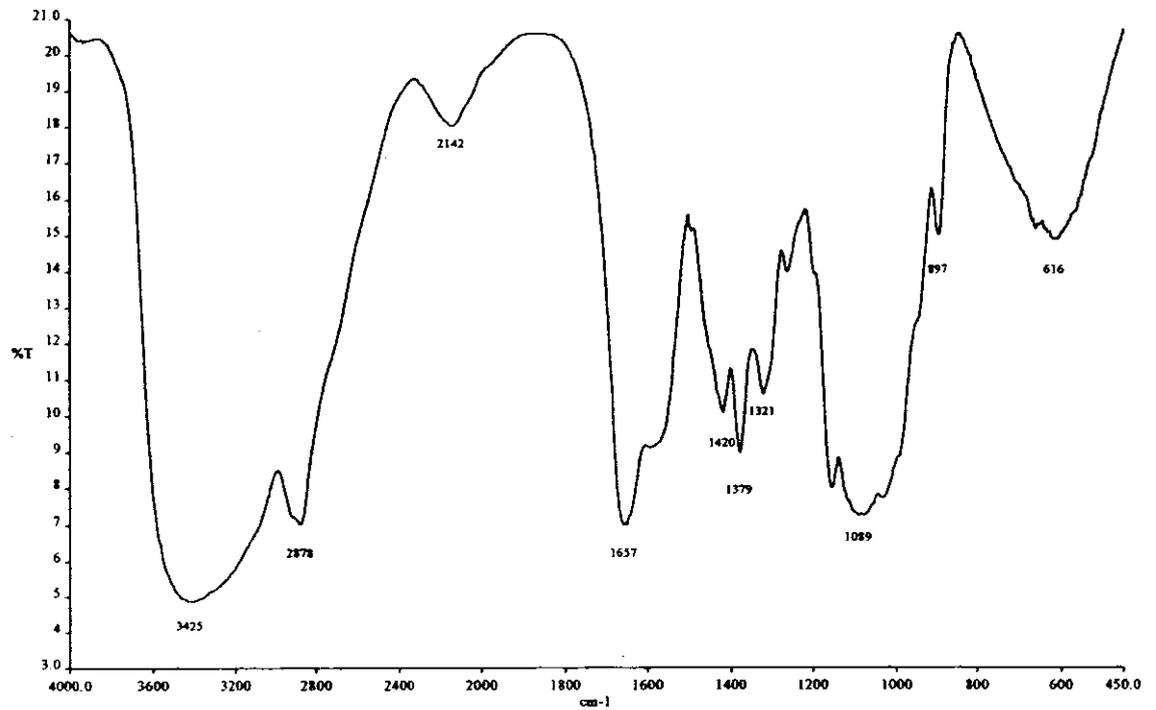


Gambar 12. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh NaOH 50% (II)

Lampiran 4
Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh KOH
(pengukuran ke-1)

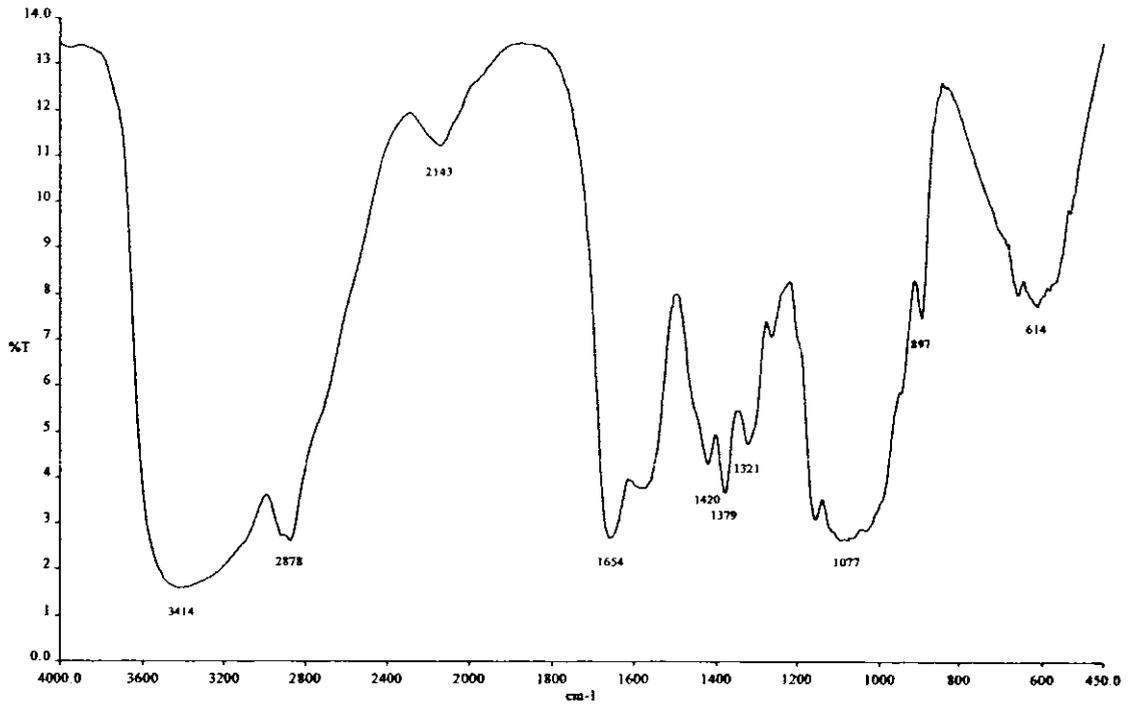


Gambar 13. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh KOH 40% (I)

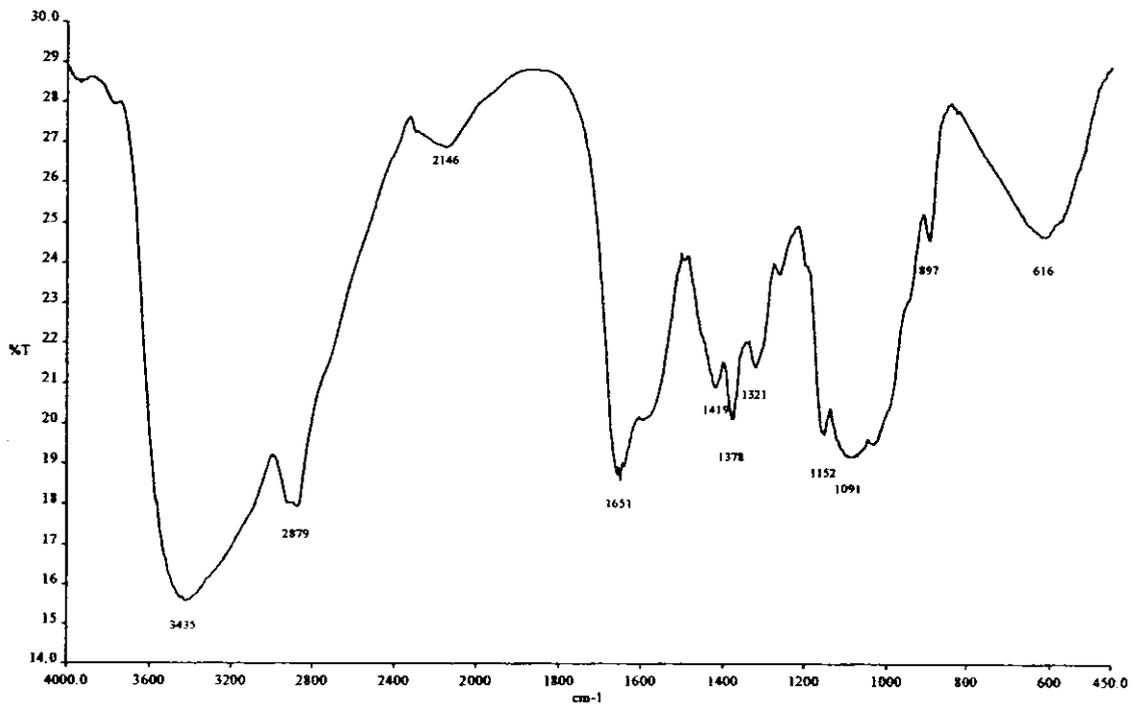


Gambar 14. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh KOH 50% (I)

Pengukuran ke-2



Gambar 15. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh KOH 40% (II)



Gambar 16. Spektrum FTIR kitin terdeasetilasi oleh KOH 50% (II)

Lampiran 5

Analisa varians DD kitin terdeasetilasi pada variasi konsentrasi NaOH dan KOH

Tabel 4. Analisa varians %DD kitin terdeasetilasi

Sumber keragaman	Derajat kebebasan	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F _{hitung}
A. Jenis basa	1	2,6113	JKA/1 = 2,6113	2,6113/5,13956 = 0,5081
B. Konsentrasi basa	3	67,20544	JKB/3 = 22,40181	22,40181/5,13956 = 4,3587
Galat	4	20,55824	JKG/4 = 5,13956	
Total	8	90,37498		

Keterangan :

A=2, n=4

F_{hitung} < F_{tabel} pada α=0,05: tidak signifikan

$$JKT = 59,3132^2 + 55,3230^2 + 66,6768^2 + \dots - \frac{496,3894^2}{8} = 90,37498$$

$$JKA = \frac{245,9094^2 + 250,4800^2}{4} - \frac{496,3894^2}{8} = 2,6113$$

$$JKB = \frac{121,7879^2 + 115,6805^2 + 130,0518^2 + 128,8695^2}{2} - \frac{496,3894^2}{8} = 67,20544$$

$$JKG = JKT - JKA - JKB = 90,37498 - 2,6113 - 67,20544 = 20,55824$$

Tabel 5. Jumlah %DD kitin pada variasi basa dan jenis basa

Konsentrasi basa	NaOH	KOH	Jumlah
40%	59,3136	62,4743	121,7879
	55,3230	60,3572	115,6802
50%	66,6768	63,3750	130,0518
	64,5960	64,2735	128,8695
Jumlah	245,9094	250,4800	496,3894

B. DRAF ARTIKEL ILMIAH

PENGARUH KONSENTRASI NaOH DAN KOH TERHADAP DERAJAT DEASETILASI KITIN DARI LIMBAH KULIT UDANG

Minda Azhar, Rahmi Marfa Lesi, Sri Novalina
Jurusan Kimia FMIPA UNP Padang
E-mail: minda@fmipa.unp.ac.id

ABSTRAK

Kitin merupakan polimer alam terbanyak di dunia setelah selulosa. Tujuan penelitian adalah untuk menguji pengaruh NaOH dan KOH masing-masing dengan konsentrasi 40%, 50% terhadap Derajat Deasetilasi kitin; menentukan konsentrasi basa yang menghasilkan Derajat Deasetilasi kitin yang paling besar. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor dan 2 kali ulangan. Faktor 1 adalah jenis basa yaitu KOH dan NaOH. Faktor 2 adalah variasi konsentrasi basa yaitu 40% dan 50%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa KOH dan NaOH dengan variasi konsentrasi 40% dan 50% tidak berpengaruh nyata terhadap Derajat Deasetilasi kitin. Derajat Deasetilasi kitin paling tinggi dihasilkan pada NaOH 50 %.

PENDAHULUAN

Limbah udang berasal dari kulit, kepala dan ekor udang. Limbah kepala udang mencapai 35%-50% dari total berat udang (Kompas, 2006:1). Di Indonesia sebagian limbah udang telah dimanfaatkan untuk pembuatan kerupuk udang, terasi dan bahan pencampur pakan ternak. Pada negara maju seperti Amerika dan Jepang, limbah udang telah dimanfaatkan antara lain pada; industri farmasi, biokimia, biomedikal, pangan, pertanian, dan kesehatan (Lang, 1995:109-114). Hal ini karena limbah udang dapat dimanfaatkan sebagai zat pembuat kitosan.

Limbah udang memiliki potensi yang besar untuk diolah menjadi kitosan karena ketersediaan limbah udang sebagai bahan baku cukup besar dan mudah diperoleh (Widodo, 2006:9). Produksi udang Indonesia rata-rata meningkat sebesar 7,4% pertahun. Pada tahun 2001 produksinya mencapai 633.681 ton. Jika diasumsikan laju produksi tetap, maka pada tahun 2004 potensi udang diperkirakan sebesar 785.025 ton. Dari jumlah itu, 60-70% menjadi limbah (bagian kulit, kepala dan ekor). Melalui proses demineralisasi dan deproteinisasi dengan rendemen 20% akan dihasilkan kitin sebesar 157.005 ton. Pada proses deasetilasi kitin dengan rendemen 80% akan diperoleh

kitosan sebesar 125.604 ton (Prasetyo, 2004:2). Dengan demikian limbah udang sangat potensial untuk dimanfaatkan.

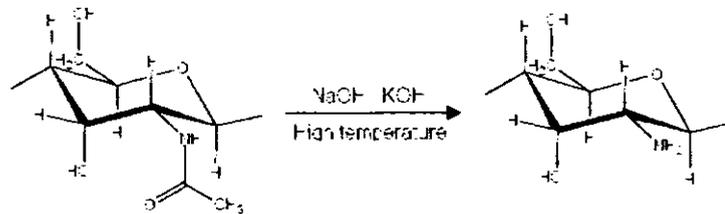
Limbah kulit udang terdiri dari tiga komponen utama yaitu protein (25%-44%), kalsium karbonat (45%-50%), dan kitin (15%-20%) (Fohcher, 1992:97). Kitin mempunyai struktur yang sama walaupun berasal dari sumber yang berbeda, tetapi assosiasinya dengan protein dan kalsium karbonat berbeda kadarnya. Kandungan kitin pada limbah kulit udang sekitar 20-50% berat kering. Kitin adalah kelompok karbohidrat yang tergolong *structural homoglycans*. Monomer kitin adalah 2-asetamida-2-deoksi-D-Glukosa (N-asetil glukosamin) (Horton, 2002: 247). Ikatan antara monomer kitin adalah ikatan glikosida pada posisi $\beta(1-4)$. Struktur molekul kitin berupa rantai lurus panjang. Kitin merupakan polimer alam terbanyak di dunia setelah selulosa (Yanming, *et al*, 2001:16).

Struktur molekul kitin mirip selulosa. Persamaan antara selulosa dengan kitin adalah ikatan antara monomernya yaitu ikatan glikosida pada posisi $\beta(1-4)$. Perbedaan antara kitin dengan selulosa terletak pada atom C nomor 2 setiap monomernya. Pada selulosa terikat gugus hidroksil (-OH), sedangkan pada kitin berupa gugus asetamida (-NHCOCH₃). Adanya kitin dapat dideteksi dengan reaksi warna Van Wesslink. Pada cara ini kitin direaksikan dengan I₂-KI memberikan warna coklat, kemudian jika ditambahkan asam sulfat, warna berubah menjadi violet. Perubahan warna dari coklat menjadi violet menunjukkan reaksi positif adanya kitin.

Kitin dapat diisolasi dari limbah udang dengan cara demineralisasi kemudian deproteinisasi. Untuk mempercepat proses demineralisasi dan deproteinisasi dilakukan pemanasan dan penggilingan. Kitin yang diperoleh dapat diubah menjadi kitosan dengan cara merubah gugus asetamida (-NHCOCH₃) pada kitin menjadi gugus amina (-NH₂) (Gambar 1). Ukuran besarnya penghilangan gugus asetil pada gugus asetamida dikenal dengan istilah derajat deasetilasi (DD). Jika DD 40-100% (derajat asetilasi, DA kecil dari 40%) disebut kitosan (Terbojevich, 2000:267). Proses penghilangan gugus asetil pada kitin tidak lain adalah untuk transformasi kitin menjadi kitosan. Transformasi kitin menjadi kitosan digunakan basa kuat konsentrasi tinggi (Bastaman, 1989; Hang, 1989).

Proses penghilangan gugus asetil dinamakan deasetilasi. Proses deasetilasi bertujuan untuk memutuskan ikatan kovalen antara gugus asetil dengan nitrogen pada gugus asetamida kitin sehingga berubah menjadi gugus amina (-NH₂). Dengan

demikian pelepasan gugus asetil pada asetamida kitin menghasilkan gugus amina terdeasetilasi.



Gambar 1. Penghilangan gugus asetil pada gugus asetamida (Lee, 2004:16)

Ukuran besarnya penghilangan gugus asetil pada gugus asetamida kitin dikenal dengan istilah derajat deasetilasi (DD). Jika DD 40-100% (derajat asetilasi, DA kecil dari 40%) disebut kitosan (Terbojevich, 2000:267), sedangkan Khan, *et al* (2002) menyatakan bahwa kitin dengan DD 75% atau lebih umumnya dikenal sebagai kitosan. Derajat deasetilasi adalah salah satu karakteristik kimia yang paling penting karena DD mempengaruhi *performance* kitosan pada banyak aplikasinya (Khan *et al*, 2002:2).

Kitin dan kitosan merupakan nama dua kelompok senyawa yang tidak dibatasi dengan stoikiometri pasti. Kitin adalah poli N-asetil glukosamin yang terasetilasi sedikit, sedangkan kitosan adalah kitin yang terdeasetilasi sebanyak mungkin. Kitosan dinamakan poliglukosamin jika kitin terdeasetilasi sempurna (100%).

Sifat-sifat kitosan dihubungkan dengan adanya gugus-gugus fungsi amina, gugus hidroksi primer dan hidroksi sekunder. Adanya gugus ini menyebabkan kitosan mempunyai kereaktifan kimia yang tinggi dibandingkan kitin. Gugus-gugus fungsi tersebut menyebabkan kitosan dapat berinteraksi dengan zat-zat organik seperti protein, sehingga kitosan relatif lebih banyak digunakan pada berbagai bidang industri terapan dan kesehatan (Purwantiningsih, 1992:10). Selain itu kitosan dapat dimodifikasi strukturnya melalui gugus-gugus fungsi tersebut.

Kitosan merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, larutan basa kuat, sedikit larut dalam HCl dan HNO₃ dan tidak larut dalam H₂SO₄. Kitosan mudah mengalami degradasi. Kitosan dapat dengan mudah berinteraksi dengan zat-zat organik seperti protein. Oleh sebab itu kitosan lebih banyak ada bidang industri terapan dan industri kesehatan (Purwantingsih, 1992:10). Pelarut kitosan yang baik adalah asam asetat (Widodo, 2006).

Kitosan mempunyai banyak kegunaan dan keunggulan dibandingkan kitin sehingga kitosan dijuluki sebagai *magic of nature*. Kitosan dapat digunakan pada prosesing makanan, pengobatan, bioteknologi dan menjadi material yang menarik pada aplikasi *biomedical* dan *pharmaceutical*. Hal ini karena kitosan tidak toksik, *biological activity*, *biocompatibility*, *biodegradability*, dan dapat dimodifikasi secara kimia dan fisika (Lee,2004:3). Lee (2004) memodifikasi kitosan yang dapat digunakan untuk detoksifikasi. Mello *et al* (2006) memodifikasi kitosan menjadi N-succinil-kitosan yang merupakan turunan kitosan yang lebih mudah larut dalam air. Sifat ini sangat penting pada penggunaan kitosan pada sistem biologi. Pada prosesing makanan kitosan dapat dimanfaatkan sebagai pengawet ikan dan tahu (Hardjito, 2006.). Kitosan dapat juga digunakan sebagai bioabsorben logam-logam berat beracun pada limbah perairan (Marganof,2003).

Karakteristik kitosan yang penting adalah derajat deasetilasi (DD). Nilai DD dapat ditentukan dengan FTIR (*Fourier-Transform Infrared*). FTIR adalah suatu metoda karakterisasi gugus fungsi atau senyawa berdasarkan pada serapan radiasi inframerah oleh atom yang mengalami vibrasi. Analisa ini berdasarkan pada fakta bahwa molekul memiliki frekuensi vibrasi yang spesifik. Frekuensi ini terjadi dalam spektrum elektromagnetik daerah inframerah pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} .

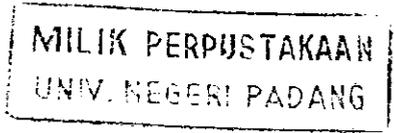
Derajat deasetilasi kitin ditentukan dengan metoda *base-line*. Metoda ini berdasarkan perbandingan nilai absorbansi pita serapan dari spektrum inframerah pada bilangan gelombang 1655 cm^{-1} dan 3450 cm^{-1} . Absorbansi (A) dinyatakan sebagai persamaan (1), sedangkan nilai DD dinyatakan sebagai persamaan (2).

$$A = \log \frac{P_0}{P} \quad (1)$$

Dimana, P_0 = % transmitan pada base-line (serapan maksimum)
 P = % transmitan pada serapan maksimum

$$\%DD = 100 - [(A_{1655}/A_{3450}) \times 115] \quad (2)$$

Nilai A_{1655} dan A_{3450} merupakan nilai A yang sesuai untuk pita serapan 1655 cm^{-1} dan 3450 cm^{-1} . Pita serapan 1655 cm^{-1} merupakan pita serapan karbonil gugus N-asetil sedangkan pita serapan 3450 cm^{-1} merupakan pita serapan gugus NH_2 (Khan *et al.*,2002:3; Mello *et al.*,2006:666).



Proses deasetilasi kitin dapat dilakukan dengan cara memanaskan kitin dalam larutan basa kuat konsentrasi tinggi (Bastaman,1989; Hang,1989). Fahmi (1997) menggunakan NaOH 50% diperoleh kitosan dengan DD 73,5%. Ardiato (2007) menggunakan NaOH 40% diperoleh kitosan dengan DD 72,28%. KOH merupakan basa yang lebih kuat dibandingkan NaOH. Keefektifan kedua basa ini untuk merubah gugus asetamida (-NHCOCH₃) pada kitin menjadi gugus amina (-NH₂) belum pernah dilaporkan. Oleh sebab itu diteliti pengaruh NaOH dan KOH terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang. Penelitian ini terbatas pada hal berikut (a). Variasi konsentrasi basa adalah 40% dan 50% (b).Limbah udang yang digunakan berasal dari limbah udang putih (*Litopenaeus vannamei*); (c). Reaksi deasetilasi dilakukan pada suhu 100⁰C selama 5 jam.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh pada DD kitin yang dideasetilasi dengan NaOH dan KOH pada variasi konsentrasi 40% dan 50%; menentukan konsentrasi basa yang menghasilkan DD kitin paling besar. Manfaat penelitian adalah memberikan kontribusi pada perkembangan IPTEK dalam bidang biokimia, khususnya biopolimer yaitu memberikan informasi pembuatan kitosan dari kitin limbah udang yang dapat digunakan diantaranya sebagai pengawet pangan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang dilakukan di laboratorium Biokimia dan Laboratorium Penelitian FMIPA UNP dari bulan Juli sampai dengan September 2009. Pengukuran radiasi FTIR kitin dan kitosan dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Andalas Padang.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor dan 2 kali ulangan. Faktor 1 adalah jenis basa yaitu KOH dan NaOH. Faktor 2 adalah variasi konsentrasi basa yaitu 40% dan 50%. Objek penelitian adalah kulit udang putih yang diambil di Pasar Pagi Purus Padang.

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan gelas, blender, oven, kertas pH, kertas saring, spektrofotometer FTIR, ayakan 40-60 mesh, neraca analitik, labu ukur (1L, 100mL, 10mL), pipet mikro, gelas kimia (1L, 250mL, 50mL), kaca arloji, corong dan tabung reaksi. Bahan yang digunakan adalah kulit udang, NaOH, KOH, aquades, aseton dan Na₂S₂O₄. Langkah utama penelitian ini adalah: (a).Persiapan sampel kulit udang; (b) Isolasi kitin dari kulit udang dan (c) Deasetilasi.

a. Persiapan sampel

Limbah kulit udang dibersihkan dari sisa kotoran dan daging udang yang tertinggal pada kulit. Kulit udang diucuri bersih dengan air berkali-kali. Kulit udang dikeringkan dalam oven suhu 40°C selama 3 jam dan digiling kasar.

b. Isolasi kitin

Isolasi kitin dan proses deasetilasi kitin dilakukan sesuai metoda Hang (Fahmi, 1997:61-68). Isolasi kitin dari kulit udang meliputi tahap deproteinisasi dan demineralisasi dan dekolorisasi.

c. Deasetilasi

Satu gram kitin ditambahkan 100 mL KOH atau NaOH dengan variasi konsentrasi. Reaksi dilakukan pada suhu 100°C selama 5 jam. Larutan dipisahkan dari residu dan residu dinetralkan melalui pencucian dengan aquades berkali-kali. Residu dikeringkan dalam oven suhu 60°C selama 4 jam. Setelah kering, residu digiling halus dan diayak dengan ukuran 20-40 mesh. Residu tersebut dikarakterisasi dengan FTIR.

Pengukuran dengan spektrofotometer FTIR

Kitin atau kitosan disimpan dalam desikator selama satu hari sebelum dibuat pelet KBr. Pembuatan pelet KBr dilakukan dengan mencampurkan sampel ± 1 mg dan KBr 10-100 mg. Campuran serbuk digerus sampai homogen dan ditekan dengan pompa hidrolis. Pelet yang diperoleh dianalisis dengan spektrofotometer FTIR.

DD kitin yang terdeasetilasi yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis menggunakan Sidik Ragam untuk menentukan adanya perbedaan pada taraf kepercayaan 95% (α : 0,05) dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) pada taraf kepercayaan (α : 0,05) (Wapolle, 1992:403).

HASIL DAN PEMBAHASAN

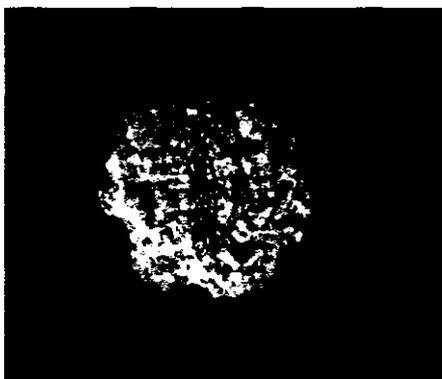
Pembahasan penelitian ini dikelompokkan tiga yaitu isolasi kitin dari limbah kulit udang, DD kitin hasil deasetilasi dan Spektrum FTIR kitin dan kitin hasil deasetilasi.

1. Isolasi kitin dari limbah kulit udang

Limbah kulit udang dipisahkan dari kulit kepala, dan ekor udang. Kulit udang dibersihkan dan dikeringkan pada oven (40-45°C) selama 3 jam. Kulit udang kering digiling kasar. Kulit udang kering dipisahkan dari protein dengan merendam dalam larutan NaOH. Kulit udang bebas protein dipisahkan dari mineral dengan cara merendam dalam larutan HCl. Dekloronasi pada kulit udang yang bebas protein dan

mineral dilakukan dengan cara merendam dalam larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. Kitin yang diperoleh 27,97 gram dari 135 gram kulit udang kering. Foto kitin dimuat pada Gambar 2.

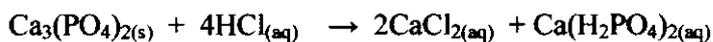
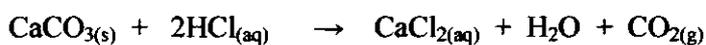
Isolasi kitin dari kulit udang pada prinsipnya adalah memisahkan kitin dari komponen-komponen protein dan kalsium karbonat. Hal ini karena kulit udang terdiri dari tiga komponen utama yaitu protein (25%-44%), kalsium karbonat (45%-50%), dan kitin (15%-20%) (Fohcher, 1992:97). Proses penghilangan protein dari kulit udang dikenal dengan deproteinisasi. Keefektifan proses deproteinisasi tergantung pada kekuatan basa yang digunakan (Purwaningsih, 1993:29). Pada penelitian ini digunakan larutan basa NaOH 3,5%.



Gambar 2. Kitin yang diisolasi dari kulit udang kering

Hasil uji Biuret kulit udang telah bebas protein memberikan uji negative yaitu tidak terbentuknya warna ungu akibat pembentukan kompleks Biuret yang merupakan kompleks koordinasi dari atom Cu^{+2} pada reagen Biuret dengan empat atom nitrogen pada untai peptide/protein dalam larutan alkalin (Clark,1977:75).

Proses penghilangan mineral dari kulit udang dikenal dengan istilah demineralisasi. Mineral yang dihilangkan adalah CaCO_3 dalam jumlah besar dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dalam jumlah kecil. Mineral ini dipisahkan dari kulit udang dengan cara merendam kulit udang dalam larutan HCl . Akibatnya adalah dilepaskan gas CO_2 dan terbentuk ion Ca^{+2} , ion H_2PO_4^- yang terlarut dalam larutan berair. Persamaan reaksi dapat ditulis seperti di bawah ini.



Warna pada kulit udang terutama disebabkan oleh senyawa karoten, beberapa komponen astacene, asthaxantin, chataxanthin dan lutein (Robert, 1992:58), Senyawa ini dihilangkan dari kulit udang dengan bleaching dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. Selanjutnya gugus asetil pada kitin dilepaskan yang dikenal dengan deasetilasi.

2. DD Kitin Hasil Deasetilasi

Kitin hasil isolasi dideasetilasi menggunakan larutan NaOH dan KOH masing-masing dengan konsentrasi 40% dan 50%. DD kitin diperoleh besar dari 45%. Dengan demikian proses deasetilasi kitin dengan NaOH dan KOH konsentrasi 40% dan 50% telah diperoleh kitosan (Gambar 3). DD kitin sebelum deasetilasi dan DD kitin setelah deasetilasi dengan larutan NaOH dan KOH variasi konsentrasi 40% dan 50% ditentukan dari spektrum FTIR menggunakan persamaan 2 (Tabel 1).



Gambar 3. Kitosan

A. Kitin yang dideasetilasi dengan NaOH 40%; B. Kitin yang dideasetilasi dengan NaOH 50%; C.Kitin yang dideasetilasi dengan KOH 40%; D.Kitin yang dideasetilasi dengan KOH 50%.

Table 1. %DD kitin pada variasi konsentrasi NaOH dan KOH

Konsentrasi larutan basa	%DD ulangan ke-1	%DD ulangan ke-2	%DD rata-rata
NaOH 40%	59,3136	55,3230	57,3183
NaOH 50%	66,6768	64,5960	65,6364
KOH 40%	62,4743	60,3572	61,4158
KOH 50%	63,3750	64,2735	63,8243
Kontrol (kitin hasil isolasi)	3,3165		

Proses penghilangan gugus asetil ($-\text{CH}_3\text{COO}^-$) dari gugus asetamida ($-\text{NHCOCH}_3$) sehingga terbentuk gugus amina ($-\text{NH}_2$) disebut juga deasetilasi. Jika gugus asetil lepas dari kitin maka disebut deasetilasi kitin. Mekanisme deasetilasi kitin terjadi pada

larutan basa. Dalam larutan basa karbon karbonil suatu ester dapat diserang oleh suatu nukleofil yang baik tanpa protonasi sebelumnya (Fessenden, 1982:134). Proses deasetilasi gugus asetil pada asetamida kitin dapat dijelaskan sebagai berikut: gugus karbon karbonil diserang oleh nukleofil OH⁻, akibatnya terjadi reaksi adisi sehingga terbentuk zat antara. Zat antara ini selanjutnya mengalami reaksi eliminasi sehingga gugus asetil pada asetamida kitin lepas membentuk asetat.

Proses pelepasan gugus asetil dari gugus asetamida kitin berhubungan dengan konsentrasi ion OH⁻ pada larutan. Konsentrasi OH⁻ akan lebih besar pada larutan basa kuat. Semakin kuat suatu basa semakin besar konsentrasi OH⁻ dalam larutannya. Dengan demikian kekuatan basa mempengaruhi proses deasetilasi gugus asetil dari gugus asetamida kitin. Oleh sebab itu pada penelitian ini digunakan kelompok basa kuat yaitu NaOH dan KOH. KOH adalah basa yang lebih kuat dibandingkan NaOH.

3. Spektrum FTIR kitin dan kitin hasil deasetilasi

Karakteristik pita pada spektrum FTIR kitin dimuat pada Tabel 2, sedangkan karakteristik pita pada kitin terdeasetilasi oleh larutan NaOH dan KOH dimuat pada Tabel 3.

Tabel 2. Karakteristik pita pada spektrum FTIR kitin

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Vibrasi
3437	Vibrasi ulur N-H amida sekunder
2890	Vibrasi ulur C-H alifatik
1651	Vibrasi ulur C=O
1559	Vibrasi tekuk N-H amina sekunder
1439	Vibrasi ulur C-N amina alifatik
1315	Vibrasi ulur C-N

Tabel 3. Karakteristik pita pada spektrum FTIR kitin terdeasetilasi

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Vibrasi
3435	Vibrasi ulur N-H amida primer
2875	Vibrasi ulur C-H alifatik
1651	Vibrasi tekuk N-H amida sekunder
1378	Vibrasi tekuk N-H amina alifatik

Yang perlu diperhatikan adalah perbandingan nilai absorpsi pita serapan dari spektrum inframerah pada bilangan gelombang 1655 cm⁻¹ dan 3450 cm⁻¹. Pita serapan

1655 cm^{-1} merupakan pita serapan karbonil gugus N-asetil sedangkan pita serapan 3450 cm^{-1} merupakan pita serapan gugus NH_2 (Khan *et al.*,2002:3; Mello *et al.*,2006:666).

Berdasarkan persamaan 2, DD kitin hasil isolasi yang diperoleh adalah 3,3165%. Angka ini menunjukkan bahwa kitin hasil isolasi masih dikelompokkan kitin. Jika DD 40-100% disebut kitosan (Terbojevich, 200:267). Proses deasetilasi kitin hasil isolasi menggunakan larutan NaOH dan KOH 40% dan 50% menghasilkan DD di atas 40% (Tabel 1). Hal ini dapat diartikan bahwa proses deasetilasi menggunakan larutan NaOH dan KOH 40% dan 50% telah menghasilkan kitosan.

DD kitin terdeasetilasi lebih besar menggunakan larutan KOH dibandingkan larutan NaOH. Hal ini dapat dijelaskan bahwa KOH merupakan basa yang lebih kuat dibandingkan NaOH. Kekuatan basa berhubungan dengan jumlah OH^- yang dapat ditambahkan ke dalam air. Jumlah OH^- akan lebih banyak dilepaskan ke air dari KOH dibandingkan NaOH. Walaupun demikian perbedaan ini ternyata tidak begitu berarti menurut analisa varians pada $\alpha=0,05$.

Variasi konsentrasi NaOH dan KOH menunjukkan variasi jumlah OH^- yang akan bereaksi selama proses deasetilasi dan juga menunjukkan variasi konsentrasi ion Na^+ dan K^+ dalam medium. Semakin banyak OH^- dalam larutan semakin besar kemungkinan penyerangan gugus karbon karbonil pada asetamida sehingga lebih besar kemungkinan asetil dilepaskan. Proses penyerangan ini diduga dipengaruhi pula oleh keberadaan ion-ion lainnya pada medium reaksi seperti ion Na^+ , ion K^+ . Hal ini diduga terjadi pada konsentrasi NaOH 50% dan KOH 50%, sehingga teramati DD yang lebih besar pada konsentrasi NaOH 50%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penelitian pengaruh jenis dan konsentrasi basa terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang dapat disimpulkan bahwa KOH dan NaOH dengan variasi konsentrasi 40% dan 50% tidak berpengaruh nyata terhadap DD kitin. DD kitin paling tinggi dihasilkan pada NaOH 50 %.

Saran

Berdasarkan penemuan pada penelitian ini, disarankan (1) Meneliti lanjut derajat deasetilasi kitin dengan variasi lain seperti temperatur dan pengadukan ; (2) Meneliti lanjut kegunaan kitosan sebagai pengawet pangan seperti pengawetan ikan dan tahu

DAFTAR PUSTAKA

- Ardiato, T. (2007). Upaya pemanfaatan limbah kulit rajungan (*Portunus pelagicus*) sebagai membran kitosan crosslinked formaldehid. FMIPA Airlangga.
- Bastaman (1989). Studies on degradation and extraction of chitin and chitosan from prawn shells. The Queen University of Belfast. England.
- Clark, J.M and Switzer, R.L. (1977). *Experimental Biochemistry*, 2nd edition. San Francisco: WH Freeman and Company.
- Fahmi, R. (1997). Isolasi dan Transformasi Kitin menjadi Kitosan. *Jurnal Kimia Andalas*. Vol.3. No.1. 61-68.
- Fessenden, R.J and Fessenden, J.S (1984). *Kimia Organik*. Edisi kedua. Jakarta: Erlangga
- Fohcher, B; Naggi, A; Tarri, G; Cosami, A; Terbojevich, M (1992). Structural differences between chitin polymorphs and their precipitates from solution evidences from CP-MAS 13 C-NMR, FTIR and FT-Raman Spectroscopy. *Carbohydrate polymer*, 17 (2):97-102.
- Hang K (1989). Isolation and Characterization of chitin from crawfish shell waste, *Journal Agriculture and Food chemistculture and Food chemistry*. Vol.37.no.3
- Hardjito, L (2006). Chitosan lebih awet dan aman. www.gramedia-majalah.com. Diakses tanggal 24 Desember 2007.
- Horton, R.H; Moran, L.A; Ochs, R.S; Rawn, J.D; Scrimgeour, K.G (2002). *Principles of Biochemistry*. Third edition. New York : Prentice-Hall, Inc
- Khan, T.A; Peh, K.K; Ch'ng, H.S. (2002). Reporting degree of deacetylation of chitosan : the influence of analytical method.
- Lang, G (1995). Chitosan Derivatives-preparatin and potential use. Collection of working papers. UKM
- Lee, D.W (2004). Engineered chitosans for drug detoxification preparation, characterization and drug uptake studies. *Dissertation*. University of Florida.
- . Chitosan sebagai bahan pengganti formalin lebih aman sebagai pengawet makanan. *Kompas*.
- Marganof (2003). Potensi limbah udang sebagai penyerap logam berat (Timbal, Kadmium, dan tembaga) di Perairan. Review. Pascasarjana. IPB
- Mello, K.G.P.C; Bernusso, L.C; Pitombo, R.N.M; Polakiewicz, B (2006). Synthesis and physicochemical characterization of chemically chitosan by succinic anhydride. *Brazilian archives of biology and technology*. Vol.49.no.4:665-668.
- Prasetyo, K.W (2004). *Khitosan, Pengendali Rayap Ramah Lingkungan*. LIPI Bogor
- Purwatiningsih (1993). Isolasi Kitin Senyawaan Kimia dari Limbah Kulit Udang Windu (*Panaeu monodon*). *Skripsi*. Bandung: Jurusan kimia ITB.
- Robert, G.A.F (1992). *Chitin Chemistry*. London: The Macmillan Press Ltd
- Terbojevich, M; Muzzarelli, R.A.A (2000). Chitosan. University of Ancona
- Wapolle R.E. (1995). *Pengantar Statistik*. Edisi ke-3. Jakarta: Gramedia.
- Widodo, A; Mardiah, Prasetyo A (2006). *Potensi kitosan dari sisa udang sebagai koagulan logam berat limbah cair industri tekstil*. ITS Surabaya.
- Yanming, D; Congyi, X.U; Jianwei, W; Mian, W; Yusong, W.U; Yonghong, R (2001). Determination of degree of substitution for N-acylated chitosan using IR spectra. *Science in China*. Vol.44.No.2:216-224.

B. SINOPSIS PENELITIAN LANJUT

Kitinase (EC 3.2.1.14) merupakan enzim glicocyl hidrolase yang mengkatalis degradasi kitin. Enzim ini dapat digunakan pada pangan sebagai antifungi. Enzim kitinase terdapat pada beberapa bakteri. Bakteri penghasil kitinase dapat diisolasi dari lingkungan berair atau dari tanah. Oleh sebab itu penelitian lanjut yang akan dilakukan adalah **isolasi bakteri penghasil kitinase dari lingkungan berair**. Sebagai substrat digunakan kitin yang telah diisolasi dan dikarakterisasi derajat deaseilasinya sesuai prosedur yang dimuat pada laporan penelitian ini.

Sample

Lingkungan berair yang dipilih adalah lingkungan berair yang di dalamnya hidup hewan-hewan yang mengandung banyak kitin seperti udang, kepiting. Lingkungan berair ini diukur temperatur, pH, warna dan kekeruhan air.

Isolasi dan Identifikasi bakteri

Isolasi bakteri penghasil kitinase dilakukan secara kultivasi menggunakan teknik *spread-plate* dan *streak-plate*. Medium tumbuh bakteri penghasil kitinase yang digunakan adalah medium garam minimal yang mengandung yeast ekstrak dan kitin sebagai satu-satunya sumber karbon. Pembentukan zona bening di sekeliling koloni bakteri merupakan tanda bakteri menghasilkan kitinase. Bakteri penghasil kitinase selanjutnya diidentifikasi. Identifikasi meliputi karakteristik koloni bakteri pada media agar meliputi bentuk koloni, elevasi koloni dan margin koloni serta warna koloni. Karakteristik sel dilakukan adalah uji gram bakteri. Karakteristik molekular yang dilakukan adalah sekuensing 16S rRNA. Sekuensing 16S rRNA dilakukan pada produk PCR yang sebagai templat adalah DNA total bakteri penghasil kitinase yang diperoleh. Data skuen 16S rRNA selanjutnya dibuat pohon filogeninya menggunakan program

ClustalW (*on line*) untuk melihat kekerabatannya dengan bakteri penghasil kitinase lainnya pada *gene bank*.

Kitinase assay

Aktivitas kitinase yang ditentukan adalah dari bakteri penghasil kitinase paling aktif (zona bening paling luas). Aktivitas kitinase ditentukan secara klorimetri pada λ 585 nm. Aktivitas enzim ini ditentukan dengan mendeteksi N-acetylglucosamine yang dilepaskan dari substrat inulin. Aktivitas optimum kitinase ditentukan pada variasi pH substrat dan variasi temperatur.

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG