

Peningkatan Derajat Deasetilasi Kitosan dari Cangkang Rajungan dengan Variasi Konsentrasi NaOH dan Lama Perendaman

Mike T. L. Tobing^a, Nor Basid Adibawa Prasetya^a, Khabibi^{a*}

^a Analytical Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

* Corresponding author: khabibi@live.undip.ac.id

Article Info

Keywords:
chitin, chitosan,
deacetylation
degree

Kata kunci:
kitin, kitosan,
derajat deasetilasi

Abstract

Research on chitosan deacetylation degree from shrimp shell has been done. This study aims to determine the effect of NaOH concentration and soaking time to degrees of chitosan deacetylation. The study began by isolating chitin via the deproteination, demineralization, and depigmentation stages using 3M NaOH, 1M HCl and H₂O₂ 3% respectively. Furthermore, chitin obtained was analyzed by FTIR. Chitin production was performed by deacetylation of chitin by performing two variations i.e. variation of immersion time for 2, 4, 6, and 8 hours and variation of NaOH concentration with concentrations of 40, 50, 60, and 70%. Furthermore, the chitosan obtained was analyzed by FTIR method. The results showed that the greatest deacetylation degree in soaking conditions for 8 hours with DD was 77.99% and 70% NaOH concentration with DD was 77%. The increase in deacetylation degree was influenced by the increase of immersion time and NaOH concentration.

Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang derajat deasetilasi kitosan dari cangkang rajungan. Penelitian ini bertujuan menentukan pengaruh konsentrasi NaOH dan lama perendaman terhadap derajat deasetilasi kitosan. Penelitian dimulai dengan mengisolasi kitin melalui tahap deproteinasi, demineralisasi, dan depigmentasi menggunakan NaOH 1M, HCl 1M dan H₂O₂ 3% secara berurutan. Selanjutnya kitin yang diperoleh dianalisis dengan FTIR. Produksi kitosan dilakukan dengan cara deasetilasi kitin dengan melakukan dua variasi yaitu waktu perendaman selama 2, 4, 6, dan 8 jam dan variasi konsentrasi NaOH dengan konsentrasi 40, 50, 60, dan 70%. Selanjutnya kitosan yang diperoleh dianalisis dengan metode FTIR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat deasetilasi terbesar pada kondisi perendaman selama 8 jam dengan DD sebesar 77,99% dan konsentrasi NaOH 70% dengan DD sebesar 77%. Kenaikan derajat deasetilasi dipengaruhi oleh kenaikan waktu perendaman dan konsentrasi NaOH.

1. Pendahuluan

Sebagai negara maritim, Indonesia mempunyai potensi hasil perikanan laut yang sangat melimpah, salah satu potensi ini adalah rajungan yang akan menghasilkan limbah yang berupa cangkang rajungan. Cangkang rajungan banyak mengandung kitin yang mencapai 18,70–32,20%, tergantung pada jenis rajungan dan tempat hidupnya. Kitin dapat diisolasi dari limbah rajungan. Kitin, merupakan polimer berantai lurus

tersusun atas residu N-asetilglukosamina melalui ikatan β -(1,4) Melalui deasetilasi dengan basa kuat, kitin dapat diubah menjadi kitosan. Perlakuan ini mengakibatkan terlepasnya ikatan N-asetil, sehingga mengubah satu N-asetilglukosamin menjadi satuan glukosamin [1, 2].

Secara umum kitin banyak terdapat pada eksoskeleton atau kutikula serangga, crustacea, dan jamur [3]. Lebih dari 80.000 metrik ton kitin diperoleh dari limbah laut dunia per tahun [4], di Indonesia limbah

kitin yang belum dimanfaatkan sebesar 56.200 metrik ton per tahun.

Sekitar 35% dari cangkang rajungan mengandung kitin. Dari kitin rajungan dapat dihasilkan sekitar 80% kitosan (No dan Meyer, 1997). Harga kitosan di pasaran dunia adalah sekitar US\$ 7.5/10g untuk kitosan dengan standar baik. Saat ini, 90% pasaran kitosan dunia dikuasai oleh Jepang dengan produksi lebih dari 100 juta ton setiap tahunnya [3]. Indonesia dengan potensi laut lebih luas daripada Jepang mempunyai peluang untuk mengambil bagian dari pasaran kitosan dunia.

Secara struktur kimia, kitosan adalah kitin yang telah mengalami deasetilasi (kehilangan gugus asetil). Isolasi kitin dari kulit udang/kepiting biasanya dilakukan dalam tiga tahap. Pertama, tahap penghilangan protein (deproteinasi). Tahap ini bertujuan untuk menghilangkan protein menggunakan NaOH. Kedua, tahap penghilangan mineral (demineralisasi). Tahap ini dapat dilakukan dengan menambahkan larutan asam klorida. Tujuannya untuk menghilangkan mineral-mineral yang ada dalam tepung rajungan, terutama kalsium. Ketiga, tahap penghilangan warna. Tahap ini dapat dilakukan atau tidak tergantung keperluan. Penghilangan warna dapat menggunakan larutan oksidator, seperti asam oksalat, H₂O₂ atau KMnO₄. Kitin kemudian di deasetilasi menggunakan basa kuat seperti NaOH dan KOH [5].

Derajat deasetilasi kitosan yang dihasilkan sangat dipengaruhi konsentrasi NaOH [6]. Larutan NaOH konsentrasi tinggi (>40%) akan memutuskan ikatan gugus asetil dengan atom nitrogen dari kitin. Tingginya konsentrasi NaOH menyebabkan gugus fungsional amino (-NH₃⁺) yang mensubstitusi gugus asetil kitin di dalam sistem larutan semakin aktif sehingga proses deasetilasi semakin baik. Melihat pengaruh dari larutan NaOH terhadap derajat deasetilasi kitosan, maka pada penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi larutan NaOH mulai dari konsentrasi 40%, 50%, 60%, hingga 70% sebagai dasar penelitian untuk meningkatkan derajat deasetilasi kitosan.

Selain konsentrasi NaOH, derajat deasetilasi juga dipengaruhi lama perendaman dalam NaOH yang mengakibatkan terjadinya depolimerisasi memutuskan ikatan antara gugus karboksil dengan atom nitrogen. Melihat pengaruh dari perendaman dalam NaOH terhadap derajat deasetilasi kitosan, pada penelitian ini digunakan variasi lama perendaman dalam NaOH mulai dari waktu 2, 4, 6, hingga 8 jam untuk meningkatkan derajat deasetilasi kitosan.

2. Metodologi

Isolasi Kitin

Limbah cangkang rajungan dicuci dan dikeringkan. Selanjutnya dibuat serbuk rajungan dengan cara digiling kemudian diayak pada ukuran 100 mesh. Serbuk cangkang rajungan kering sebanyak 100 gram dideproteinasi dengan penambahan 500 mL larutan NaOH 1M selama 3 jam pada suhu 80°C dengan pengadukan terus menerus. Campuran disaring dan

residu dicuci dengan akuades sampai netral, kemudian tahap demineralisasi dengan penambahan 500 mL HCl 1M, didiamkan selama 12 jam pada temperatur ruang. Campuran yang didapat lalu disaring dan residu dicuci dengan akuades hingga netral. Tahap pemutihan dilakukan dengan penambahan 100 mL H₂O₂ 3% didiamkan selama 24 jam. Campuran disaring kemudian dicuci dengan akuades dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 4 jam. Hasil dianalisis dengan menggunakan spektrofotometri FTIR

Variasi Konsentrasi NaOH

Kitin yang telah dihasilkan pada proses diatas dimasukkan dalam larutan NaOH dengan konsentrasi 40, 50, 60, dan 70% (berat) pada suhu 80°C sambil diaduk kecepatan konstan selama 4 jam. Campuran disaring kemudian dicuci dengan aquades, dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 4 jam. Maka terbentuklah kitosan. Selanjutnya kitosan yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan metode FTIR.

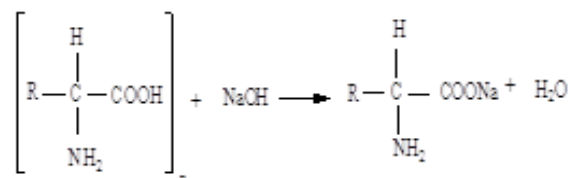
Variasi Waktu Perendaman

Kitin yang telah dihasilkan pada proses diatas dimasukkan dalam larutan NaOH. Transformasi kitin menjadi kitosan dilakukan melalui deasetilasi dengan NaOH 60% sebanyak 500 mL sambil terus diaduk dengan variasi waktu perendaman 2, 4, 6, dan 8 jam pada suhu 80°C. Campuran disaring kemudian dicuci dengan aquades, dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 4 jam. Maka terbentuklah kitosan. Selanjutnya kitosan yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan metode FTIR. Penentuan derajat deasetilasi dilakukan dengan menggunakan persamaan Domszy dan Robrts.

3. Hasil dan Pembahasan

Isolasi Kitin

Proses isolasi kitin dari cangkang rajungan dilakukan melalui beberapa tahap. Tahap yang pertama adalah tahap deproteinasi yaitu tahap penghilangan protein dari cangkang rajungan dengan menggunakan reagen NaOH 1M. Pada saat deproteinasi larutan menjadi agak mengental dan berwarna kemerahan. Larutan yang agak mengental tersebut karena adanya kandungan protein dari dalam *crude* kitin yang terlepas dan berikatan dengan ion Na⁺, membentuk natrium proteinat. *Crude* kitin hasil tahap deproteinasi dicuci dengan aquades untuk menghilangkan sisa NaOH yang masih menempel pada *crude* kitin.



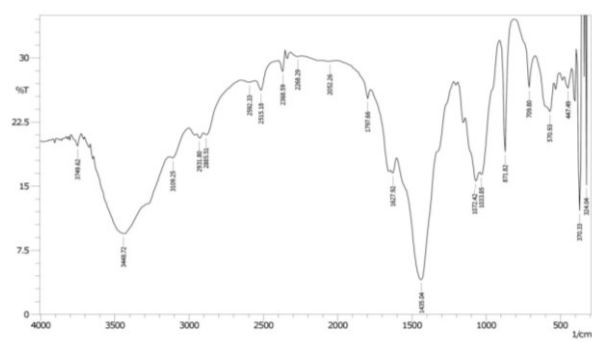
Gambar 1. Reaksi deproteinasi

Tahap selanjutnya yaitu demineralisasi, bertujuan untuk menghilangkan mineral atau senyawa anorganik yang terdapat pada *crude* kitin. Kandungan mineral utama didalam kulit udang adalah CaCO₃. Proses

demineralisasi dilakukan dengan menggunakan larutan HCl 1M. Pada proses ini, senyawa kalsium akan bereaksi dengan asam klorida menghasilkan kalsium klorida yang larut dalam air, gas CO₂ dan air HCl. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut



Crude kitin hasil tahap demineralisasi dicuci dengan aquades untuk menghilangkan sisa HCl yang masih menempel pada crude kitin. Setelah demineralisasi, maka crude kitin melalui tahap depigmentasi bertujuan untuk penghilangan warna (pigmen) yang terkandung dalam crude kitin, yaitu *red-orange astaxanthin*, suatu jenis karotenoid. Hasil yang diperoleh kemudian dicuci dengan akuades hingga pH netral. Produk yang dihasilkan adalah kitin kemudian dilakukan uji dengan menggunakan FTIR untuk mengidentifikasi gugus fungsi dan menentukan derajat deasetilasi. Derajat deasetilasi diartikan sebagai persentase banyaknya gugus asetil yang hilang dan digantikan dengan -H saat proses deasetilasi, Berdasarkan perhitungan *Base line*, diperoleh derajat deasetilasi kitin sebesar 55,74%. Derajat deasetilasi tersebut menunjukkan adanya gugus NH₂ sebesar 55,74% dan gugus asetil yang tersisa pada kitin sebesar 44.26%. Spektra FTIR kitin ditunjukkan pada gambar 2



Gambar 2. Spektra FTIR Kitin

Tabel 1. Bilangan gelombang dan gugus yang terdapat pada kitin sesuai

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Prediksi gugus
3448,72	Uluran O-H dan uluran N-H
2931,80	Regangan C-H alifatik
1627,92	Uluran C=O amida sekunder
1427,32	C-H alkil
1072,42	Uluran C-O

Berdasarkan spektra yang dihasilkan pada gambar 2, terlihat ada beberapa puncak khas yang menunjukkan ciri spesifik struktur kitosan. Misalnya pada puncak 1072,42 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya gugus eter, -CH₃ pada bilangan gelombang 1427,32 cm⁻¹, puncak 1627,92 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C=O yang menunjukkan keberadaan amida, puncak 2931,80 cm⁻¹ menunjukkan adanya uluran C-H, puncak 3448,72 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya gugus alkohol yang berimpitan dengan uluran NH dan beberapa puncak

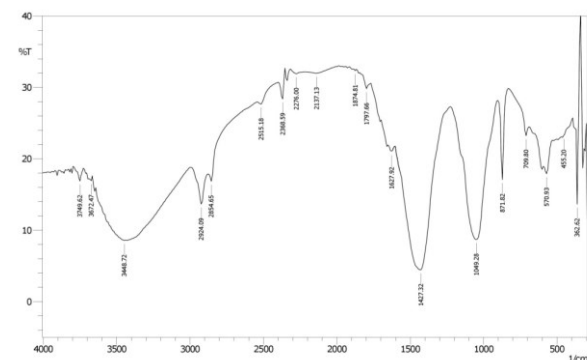
serapan lain yang memperkuat adanya struktur kitosan pada sampel yang diuji.

Pengaruh Variasi Konsentrasi NaOH dalam Proses Transformasi Kitin

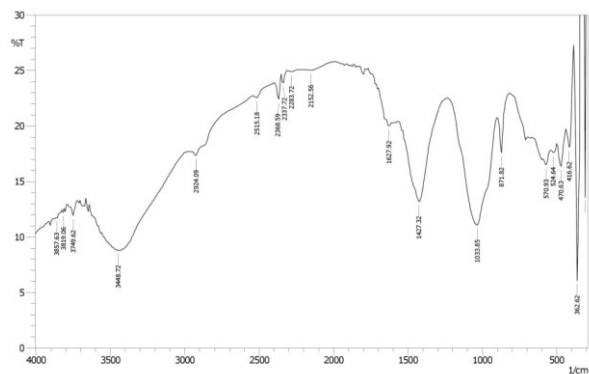
Kitin hasil isolasi dilakukan proses deasetilasi menggunakan variasi konsentrasi NaOH. Untuk menentukan konsentrasi NaOH maksimal, maka proses deasetilasi ini dilakukan dengan konsentrasi NaOH bervariasi yaitu 40, 50, 60 dan 70%. Hasilnya di FTIR sebagaimana pada Gambar 3, 4, 5 dan 6. Penggunaan konsentrasi NaOH yang tinggi pada proses deasetilasi diharapkan akan menghasilkan rendemen kitosan yang memiliki derajat deasetilasi tinggi. Hal ini disebabkan gugus fungsional amino (-NH₃⁺) yang mensubstitusi gugus asetil kitin di dalam sistem larutan semakin aktif, maka semakin sempurnalah proses deasetilasi.

Penggunaan NaOH konsentrasi tinggi digunakan karena struktur kitin yang tebal dan ikatan hidrogen mempunyai karboksil pada rantai berikutnya serta untuk memutuskan ikatan antara gugus karboksil dengan atom nitrogen. Hal ini sesuai pula dengan pendapat Martinou *dkk.* [7] yang menyatakan bahwa larutan NaOH mampu merubah konformasi kitin yang sangat rapat menjadi renggang sehingga lebih mudah terekspos untuk mendeasetilasi polimer kitin.

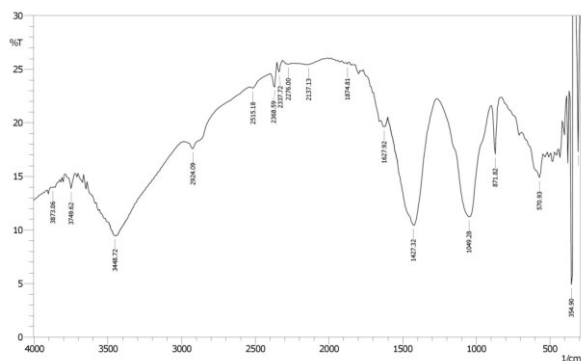
Hasil percobaan dapat dilihat pada grafik pengaruh penambahan konsentrasi NaOH, menunjukkan bahwa derajat deasetilasi terbesar terjadi pada konsentrasi NaOH 70% yaitu sebesar 77%. Konsentrasi NaOH semakin meningkat mengakibatkan derajat deasetilasi meningkat. Konsentrasi NaOH yang semakin besar yaitu dari 40% menjadi 50% meningkatkan derajat deasetilasi sebesar 1.12% (dari 72.80% menjadi 74.%). Pada konsentrasi NaOH yang ketiga dari 50% menjadi 60% hanya meningkatkan derajat deasetilasi sebesar 0.85% (dari 74.% menjadi 74.85%). Kemudian pada konsentrasi NaOH yang terakhir meningkatkan derajat deasetilasi sebesar 2.15% (dari 74.85.% menjadi 77%).



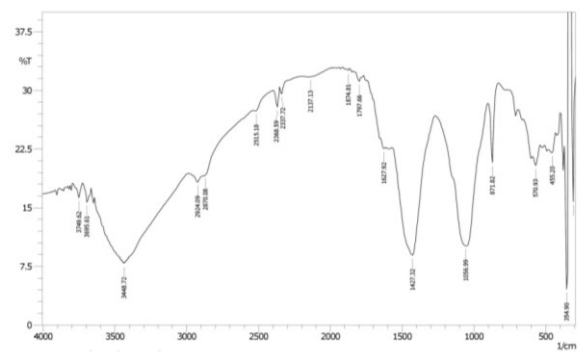
Gambar 3. Spektra FTIR Kitosan dengan variasi konsentrasi NaOH 40%



Gambar 4. Spektra FTIR Kitosan dengan variasi konsentrasi NaOH 50%



Gambar 5. Spektra FTIR Kitosan dengan variasi konsentrasi NaOH 60%



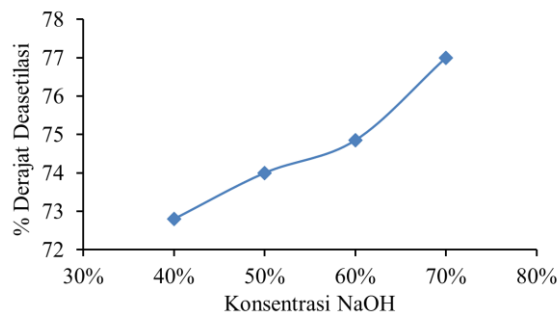
Gambar 6. Spektra FTIR Kitosan dengan variasi konsentrasi NaOH 70%

Tabel 2. Hasil perhitungan derajat deasetilasi kitosan pada variasi konsentrasi NaOH selama 4 jam pada suhu 80°C

Konsentrasi NaOH (%)	Berat kitosan (gram)
40	6,75
50	6,44
60	6,59
70	5,12

Hasil serupa juga diperoleh oleh penelitian Azhar,dkk (2010) terhadap kulit udang yang menyatakan derajat deasetilasi produk yang direndam dengan NaOH 40% dan 50% pada suhu 100°C dengan waktu perendaman kitin 300 menit menghasilkan derajat deasetilasi 59.31%, dan 66.67% yang juga meningkat.

Perbedaan nilai derajat deasetilasi ini mungkin karena sampel kulit udang yang digunakan masih dalam bentuk kasar (belum diayak) sehingga reaksi penghilangan gugus asetil berjalan dengan lambat.

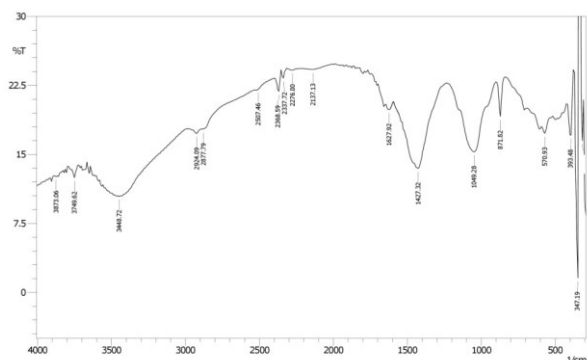


Gambar 7. Pengaruh Penambahan Konsentrasi NaOH terhadap Nilai DD

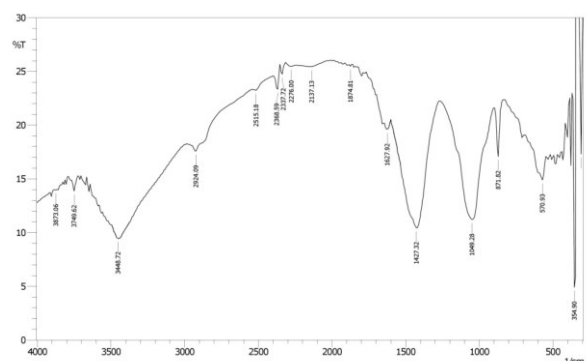
Pengaruh Variasi Lama Perendaman dalam Proses Transformasi Kitin

Proses transformasi kitin dengan variasi lama perendaman digunakan untuk mengetahui lama perendaman optimum reagen untuk proses pembentukan kitosan dengan derajat deasetilasi terbesar. Lama perendaman kitin dalam NaOH berpengaruh terhadap pemecahan rantai molekul kitin [7]. Perendaman dalam NaOH dilakukan terhadap sampel kitin dalam bentuk tepung dengan ukuran 100 mesh. Penepungan dilakukan agar proses deasetilasi dapat berlangsung lebih cepat dan sempurna, karena semakin luasnya permukaan yang dapat diakses oleh larutan alkali.

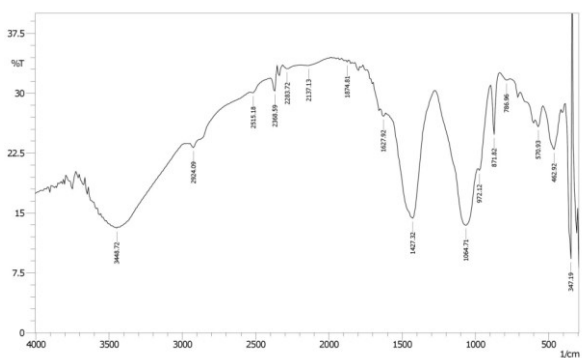
Derajat deasetilasi adalah suatu parameter mutu yang menunjukkan gugus asetil yang dapat dihilangkan dari kitin. Semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan, maka gugus asetil yang terdapat dalam kitosan tersebut semakin sedikit [5]. Pengaruh lama perendaman terhadap derajat deasetilasi dapat dilihat pada grafik pengaruh waktu perendaman NaOH terhadap derajat deasetilasi sebagaimana pada Gambar 7, 8, 9 dan 10. Derajat deasetilasi terbesar didapatkan pada perendaman NaOH 60% pada 80°C selama 8 jam sebesar 77.99%. Lama perendaman NaOH meningkat mengakibatkan derajat deasetilasi meningkat, sedangkan perendaman yang semakin tinggi dari 2 jam sampai 4 jam meningkatkan derajat deasetilasi sebesar 3.31% (dari 71.54% menjadi 74.85%). Pada perendaman yang ketiga dari 4 jam menjadi 6 jam hanya meningkatkan derajat deasetilasi sebesar 1.35% (dari 74.85% menjadi 76.2%). Kemudian pada perendaman yang terakhir meningkatkan derajat deasetilasi sebesar 1.79% (dari 76.20% menjadi 77.99%). Besaran peningkatan derajat deasetilasi menunjukkan bahwa lama perendaman berpengaruh terhadap kenaikan derajat deasetilasi.



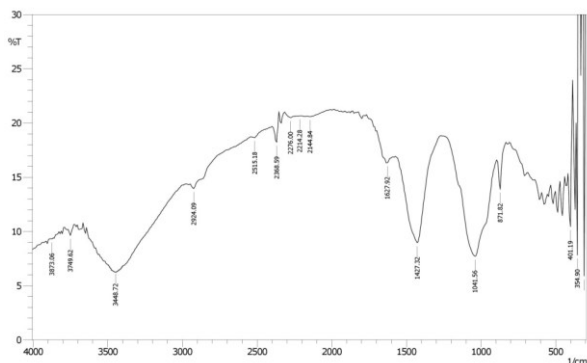
Gambar 8. Spektra FTIR Kitosan dengan variasi Perendaman selama 2 jam



Gambar 9. Spektra FTIR Kitosan dengan variasi Perendaman selama 4 jam



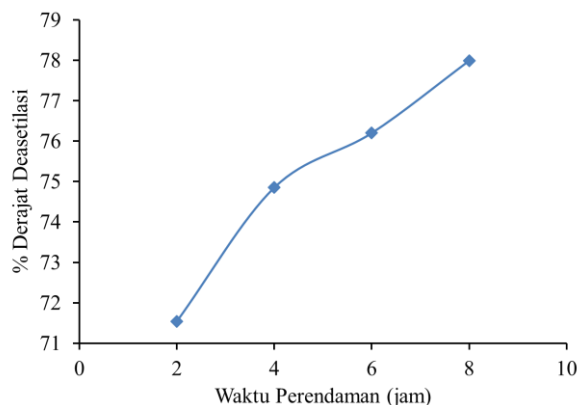
Gambar 10. Spektra FTIR Kitosan dengan variasi Perendaman selama 6 jam



Gambar 11. Spektra FTIR Kitosan dengan variasi Perendaman selama 8 jam

Tabel 3. Hasil perhitungan derajat deasetilasi kitosan pada variasi lama waktu perendaman dengan konsentrasi 60% dan suhu 80°C

Waktu Perendaman (jam)	Berat kitosan (gram)
40	6,47
50	6,59
60	6,19
70	5,04



Gambar 12. Pengaruh Perpanjangan Waktu Perendaman Naoh terhadap Nilai DD

Hasil serupa juga diperoleh oleh penelitian A Emmawati, dkk (2000) yang menyatakan derajat deasetilasi produk yang direndam dengan NaOH 60% pada suhu 60°C dengan waktu perendaman kitin 60, 90, 120 dan 180 menit menghasilkan derajat deasetilasi 50,88%, 53,26%, 54,65%, dan 64,31% yang juga meningkat. Perbedaan nilai derajat deasetilasi ini karena suhu perendaman NaOH yang digunakan lebih rendah (60°C). Kondisi awal kitin, seperti derajat deasetilasi awal, juga berpengaruh terhadap perbedaan derajat deasetilasi akhir. Dalam hal ini, penelitian Emmawati dkk. [8] kondisi awal kitin yang dihasilkan sebesar 42,22%. Sementara dalam penelitian ini, digunakan kitin dengan derajat deasetilasi awal sudah cukup besar, yaitu 55,74%.

Dengan demikian kenaikan derajat deasetilasi dipengaruhi oleh kenaikan perpanjangan waktu perendaman, sedangkan lama perendaman dan konsentrasi NaOH juga berpengaruh terhadap pemecahan rantai molekul.

4. Kesimpulan

Kitosan dapat dihasilkan dari cangkang rajungan. Pada penelitian ini dilakukan variasi lama perendaman selama 2, 4, 6 dan 8 jam dalam transformasi kitin dan memberikan derajat deasetilasi yang maksimal pada perendama selama 8 jam sebesar 77,99% Pada penelitian ini dilakukan variasi konsentrasi NaOH 40, 50, 60 dan 70% dan memberikan derajat deasetilasi yang maksimal pada konsentrasi NaOH 70% sebesar 77%

5. Daftar Pustaka

[1] M Enick Robert, J Beckman Eric, *The Chitin Chemistry*, (1992)

- [2] George AF Roberts, Structure of chitin and chitosan, in: *Chitin Chemistry*, Springer, 1992, pp. 1-53.
- [3] Iason Tsigos, Aggeliki Martinou, Dimitris Kafetzopoulos, Vassilis Bouriotis, Chitin deacetylases: new, versatile tools in biotechnology, *Trends in Biotechnology*, 18, 7, (2000) 305-312 [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7799\(00\)01462-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7799(00)01462-1)
- [4] Reetarani S. Patil, Vandana Ghormade, Mukund V. Deshpande, Chitinolytic enzymes: an exploration, *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 7, (2000) 473-483 [http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00134-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00134-4)
- [5] Dietrich Knorr, Functional Properties of Chitin and Chitosan, *Journal of Food Science*, 47, 2, (1982) 593-595 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb10131.x>
- [6] Soottawat Benjakul, Pairat Sophandora, Chitosan production from carapace and shell of black tiger shrimp (*Panaeus monodon*), *Asean Food Journal (Malaysia)*, (1993)
- [7] A. Martinou, D. Kafetzopoulos, V. Bouriotis, Chitin deacetylation by enzymatic means: monitoring of deacetylation processes, *Carbohydrate Research*, 273, 2, (1995) 235-242 [http://dx.doi.org/10.1016/0008-6215\(95\)00111-6](http://dx.doi.org/10.1016/0008-6215(95)00111-6)
- [8] Aswita Emmawati, Betty Sri Laksmi Jenie, Yusro Nuri Fawzya, Produksi Kitosan Dengan Kombinasi Perlakuan Kimia Dan Enzimatis Menggunakan NaOH dan Kitin Deasetilase, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor