



Utilization and Characterization of Oyster Shell as Chitosan and Nanochitosan

Lia Handayani ^{a,*}, Faisal Syahputra ^b, Yayuk Astuti ^c

^a Fisheries Product Technology Department, Faculty of Fisheries, Abulyatama University, Aceh, Indonesia

^b Fisheries Product Technology Department, Faculty of Fisheries, Abulyatama University, Aceh, Indonesia

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

* Corresponding author: liahandayani_thp@abulyatama.ac.id

<https://doi.org/10.14710/jksa.21.4.224-231>

Article Info

Article history:

Received: 1 August 2018
 Revised: 25 October 2018
 Accepted: 27 October 2018
 Online: 31 October 2018

Keywords:

Chitin; Chitosan;
 Nanochitosan; Oyster
 Shells

Kata Kunci:

Cangkang Tiram; Kitin;
 Kitosan; Nanokitosan

Abstract

Oyster is one of bivalve groups widely consumed by human, thus, it results in producing huge waste shells affecting the environment. One way to increase the value of oyster shells is to process them into chitosan. This study aims to isolate chitin then synthesize it into chitosan and convert chitosan into nano-sized chitosan and analyze the characteristics. The steps to produce chitosan from waste shells included demineralization using HCl 1 N and deproteinization using NaOH 3%. The next step was to convert chitin into chitosan through a deacetylation process using NaOH 50%. After chitosan was formed, it was continued to convert chitosan into nano chitosan particles using ion gelation method with the addition of surfactant (tween 80) and crosslinker (TPP 0.1% and 0.5%). The results showed that yield of transformation chitin into chitosan was 61.1%. Meanwhile, the yield calculated from initial weight of raw material was 18.33% with deacetylation degree value equal to 89.14%. Based on morphological analysis using SEM, the size of chitosan particles was not distributed homogeneously that was in the range of 892 nm-1.54 μ m, while the nano chitosan particle size obtained was uniformly formed in the range of 679 nm-910 nm.

Abstrak

Tiram merupakan salah satu golongan bivalvia yang banyak dikonsumsi masyarakat, sehingga menghasilkan limbah berupa cangkang yang dapat mengganggu lingkungan. Salah satu cara untuk meningkatkan nilai cangkang tiram adalah mengolahnya menjadi kitosan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi kitin kemudian mensintesisnya menjadi kitosan lalu mengkonversi kitosan menjadi kitosan berukuran nano serta mengkarakterisasinya. Adapun tahapan yang dilakukan untuk mensintesis kitosan meliputi demineralisasi menggunakan HCl 1 N dan deproteinisasi menggunakan NaOH 3%. Sedangkan tahapan berikutnya adalah mengubah kitin menjadi kitosan melalui proses deasetilasi menggunakan NaOH 50%. Setelah kitosan terbentuk, dilanjutkan mengubah kitosan menjadi kitosan nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik dengan penambahan surfaktan (tween 80) dan reagen crosslink (TPP 0,1% dan 0,5%). Rendemen hasil penelitian transformasi kitin menjadi kitosan adalah 61,11% sedangkan jika dihitung dari berat awal bahan baku adalah 18,33% dengan derajat deasetilasinya sebesar 89,14%. Berdasarkan analisis morfologi menggunakan SEM, ukuran partikel kitosan terdistribusi tidak homogen antara 892 nm-1,54 μ m, sedangkan ukuran partikel nanokitosan yang diperoleh terdistribusi merata antara 679 nm-910 nm.

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara kepulauan sehingga memiliki potensi kekayaan hasil laut yang tinggi. Kekayaan hasil laut tersebut dapat berupa dari golongan ikan, crustacea, bivalvia maupun hasil-hasil perikanan lainnya. Salah satu hasil laut Indonesia golongan bivalvia yang sangat digemari oleh masyarakat adalah tiram atau dalam Bahasa Aceh disebut *tiram* dan dalam Bahasa Inggris disebut *oyster*. Kegemaran masyarakat Indonesia mengkonsumsi tiram dikarenakan kandungan gizi yang tinggi dan rasa yang khas, namun cangkang tiram tidak dimanfaatkan secara optimal sehingga tingginya daya konsumsi tiram oleh masyarakat menyebabkan meningkatnya jumlah limbah padat cangkangnya sehingga menjadi masalah lingkungan yang baru, diantaranya pencemaran perairan, penumpukan pembuangan, bau tidak sedap dan merusak estetika lingkungan. Bau amis yang busuk akibat penumpukan cangkang tiram dilingkungan menyebabkan serangga atau penyebab penyakit lainnya juga berkumpul sehingga akan berdampak terhadap kesehatan masyarakat sekitar. Cangkang tiram yang dibuang keperairan juga menyebabkan aliran sungai menjadi terganggu.

Limbah yang dihasilkan tersebut membutuhkan penanganan khusus agar tidak terus menerus menjadi penyebab pencemaran. Komposisi kimia cangkang tiram mengandung lebih dari 90% CaCO_3 yaitu mencapai (95,99%), SiO_2 (0,69%), Al_2O_3 (0,42%), MgO (0,65%), P_2O_5 (0,20%), Na_2O (0,98%), SrO (0,33%) dan SO_3 (0,72%) [1]. Kadar CaCO_3 menunjukkan kadar mineral atau abu, sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan [2], kadar abu tepung cangkang tiram adalah sebesar 94,78%. Cangkang tiram memiliki kesamaan dengan cangkang kerang bulu yaitu merupakan golongan bivalvia yang mengandung $\text{CaCO}_3 > 70\%$ sehingga memiliki sifat kimia yang sama pula. Limbah-limbah perikanan seperti cangkang *crustaceae* maupun bivalvia mengandung kitin. Kitin merupakan salah satu senyawa organik utama yang terdapat pada kelompok *crustaceae*, insekta, fungi, mollusca dan arthropoda. Cangkang udang, lobster dan kepiting merupakan salah satu sumber dasar penghasil kitin, karena diketahui memiliki kandungan kitin yang cukup tinggi. Rata-rata cangkang kering antropoda mengandung 20-50% kitin. Kitin juga diketahui terdapat pada kulit siput, kepiting, kerang dan bekicot [3]. Jumlah kitin tertinggi terdapat dalam cangkang kepiting yaitu hingga 50%-60%, sedangkan cangkang udang 42%-57%, tulang cumi-cumi dan kulit kerang masing-masing 40% dan 14%-35% [4]. Cangkang/kulit kerang bulu memiliki rendemen kitosan sebesar 3,75% dengan derajat deasetilisasi (DD) mencapai 80,6% [5].

Salah satu turunan dari kitin yang banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri adalah kitosan. Penggunaannya yang sangat luas mendorong para peneliti untuk memodifikasi sifat fisika dan kimia kitosan untuk mengoptimalkan fungsinya. Modifikasi yang sedang dikembangkan diantaranya adalah memodifikasi ukuran dan sifat permukaannya. Modifikasi ukuran kitosan secara fisik dilakukan dengan mengubahnya menjadi ukuran nanopartikel [6]. Mengubah kitosan

menjadi ukuran nano akan mengoptimalkan reaksi yang dibentuk oleh kitosan saat diaplikasikan. Beberapa penelitian mengenai modifikasi ukuran kitosan menjadi nano telah dilakukan, diantaranya nanokitosan cangkang udang *vannamei* dengan penambahan TPP 0,1% berukuran 400-450 nm, nanokitosan dari cangkang lobster berukuran 357-1631 nm [7, 8]. Kitosan dengan penambahan NaTPP 0,001% menghasilkan partikel nanokitosan berukuran 389-877 nm [9]. Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian dengan memanfaatkan limbah padat cangkang tiram menjadi kitosan sehingga dapat meningkatkan nilai ekonomis hasil samping produk perikanan. Selain itu, juga perlu dilakukan modifikasi terhadap kitosan yang diperoleh sehingga dapat diketahui apakah dengan penambahan NaTPP 0,1% sebagai agen *crosslink* dapat menghasilkan kitosan berukuran nano seperti penelitian-penelitian terdahulu. Pemanfaatan cangkang tiram saat ini masih sangat minim, sedangkan penelitian mengenai kitosan cangkang tiram belum pernah dilakukan oleh para peneliti, dengan demikian penelitian ini merupakan terobosan awal untuk pemanfaatan cangkang tiram menjadi nanokitosan. Untuk mencapai tujuan-tujuan yang telah diuraikan tersebut maka perlu dilakukan sintesis kitosan, nanokitosan serta melakukan karakterisasi.

2. Metode Penelitian

2.1. Alat dan Bahan

Bahan baku utama yang digunakan sebagai sampel adalah cangkang tiram yang diperoleh dari perairan Alue Naga, Kecamatan Syiah Kuala, Kota Banda Aceh, HCl 1 N (*p.a.*, Merck), NaOH 3 N (Merck), NaOH 50% (Merck), aquades, kertas lakmus, kertas saring whatman, CH_3COOH 1%, Tween 80 (0,2%), TPP (tripolifosfat) 0,1% dan 0,5%. Sedangkan Alat-alat yang digunakan adalah gelas beker (pyrex), labu ukur (pyrex), gelas ukur (pyrex), batang pengaduk, corong gelas, pipet tetes, pipet ukur, *hot plate magnetic stirrer*, *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) (Shimadzu), *Scanning Electron Microscopy* (SEM) merek JEOL-6510 LA.

2.2. Preparasi dan Karakterisasi Bahan Baku Tepung Cangkang Tiram

Persiapan bahan baku adalah modifikasi dari Handayani dan Syahputra [2] perbedaannya terdapat pada tingkat kehalusan yaitu hanya hingga ukuran 60 mesh menggunakan *planetary ball-mill* selama 12 jam, kemudian tepung cangkang tiram dikarakterisasi menggunakan analisis kadar air, kadar abu dan kadar protein. Selanjutnya dilakukan isolasi kitin yang dilanjutkan dengan proses sintesis menjadi kitosan. Adapun tahapan-tahapan dari proses tersebut adalah deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi.

2.3. Ekstraksi dan Karakterisasi kitosan [10]

2.3.1. Demineralisasi

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan sampel cangkang tiram kering sebanyak 60 g melalui proses *pretreatment* perendaman menggunakan larutan HCl 1 N dengan perbandingan sampel dan pelarut (1:7)

selama 48 jam. Kemudian dilakukan remaserasi menggunakan pelarut HCl 1 N (1:5) selama 1 jam, lalu disaring dan dilakukan perendaman kembali menggunakan HCl 1 N (1:7 b/v) pada suhu 80°C selama 1 jam, dilanjutkan dengan netralisasi pH residu yang dihasilkan. Setelah tahap demineralisasi ini selesai, maka dilanjutkan ke tahap deproteinasi.

2.3.2. Deproteinasi

Residu yang telah mengalami demineralisasi, diekstraksi menggunakan larutan NaOH 3 N (1:8 b/v) pada suhu 80°C selama 2 jam dengan kecepatan pengadukan 100 rpm. Residu yang diperoleh dilakukan penyaringan dan netralisasi pH. Setelah tahapan deproteinasi ini selesai maka residu yang diperoleh merupakan kitin. Setelah kitin diperoleh maka dilanjutkan pembuatan kitosan, yaitu melalui tahap deasetilasi.

2.3.3. Deasetilasi

Tahap deasetilasi dilakukan dengan merendam kitin dalam pelarut NaOH 50% (1:10 b/v) pada suhu 120°C selama 1 jam disertai pengadukan dengan magnetik. Kemudian sampel didiamkan selama 10 jam, dan dilanjutkan kembali dengan pemanasan pada 150°C disertai pengadukan 1000 rpm selama 1 jam. Lalu dilakukan penyaringan dan residu dicuci hingga pH netral. Netralisasi ini dilakukan setiap akhir tahapan demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi. Setelah pH residu netral, dilakukan pengovenan dengan suhu 80°C selama 8 jam. produk akhir dari tahapan ini adalah kitosan.

Setelah kitosan diperoleh, ditimbang dan dilakukan karakterisasi melalui analisis proksimat dan analisis gugus fungsi menggunakan FTIR. Kemudian kitosan dilanjutkan ke tahap berikutnya yaitu pembuatan kitosan berukuran nano.

2.4. Pembuatan Kitosan menjadi Nanokitosan

Pembuatan dan karakteristik nanopartikel kitosan (modifikasi metode [8]). Pembuatan nanopartikel kitosan diawali dengan 3 g kitosan serbuk dilarutkan dalam 60 mL asam asetat 1% hingga membentuk gel. Penambahan aquades hingga 1 L dan dilakukan proses homogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 1500 rpm selama 1,5 jam. Kemudian ditambahkan 25 mL emulsifier (tween 80) 0,2%. Penambahan surfaktan non ionik *polysorbate* (tween 80) dilakukan tetes demi tetes ke dalam larutan kitosan yang telah mengalami pemotongan/pemisahan gel, larutan didiamkan teraduk selama 60 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Lalu penambahan 200 mL tripoliphospat (TPP) 0,1% sambil di aduk dengan kecepatan 1200 rpm selama 2 jam. Lalu dilakukan pengeringan. Langkah yang sama diulang untuk sampel berikutnya namun dengan variasi penambahan tripoliphospat dengan konsentrasi 0,5%. Hasil terbaik dilakukan analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Karakteristik Bahan Baku Tepung Cangkang Tiram

Tepung cangkang tiram yang lolos ayakan 60 mesh dilakukan analisis kadar abu, kadar air dan kadar protein. Hasilnya disajikan pada Tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Komposisi kimia *raw material* (tepung cangkang tiram)

Parameter	Nilai ± stdev (%)
Kadar Abu	95,08 ± 0,14
Kadar Air	0,17 ± 0,16
Kadar N-total	1,73 ± 0,25

Keterangan: n = 3 (tiga kali ulangan)

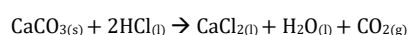
Jumlah kadar abu bahan baku yang tinggi menunjukkan tinggi pula kadar mineral yang terkandung didalamnya. Mineral dalam cangkang tiram berupa kalsium yang bersenyawa dengan karbonat. Hasil analisis kadar abu pada tepung cangkang tiram adalah 95,08%, tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya yaitu 94,78% [2]. Hal ini sesuai dengan pernyataan beberapa peneliti terdahulu yaitu komposisi CaCO₃ pada cangkang tiram adalah 95,99% [1], Cangkang moluska terdiri dari 95% kalsium karbonat dan 5% matriks organik [11]. Cangkang kerang mengandung 95-99% CaCO₃ [12, 13]. Kadar air yang rendah disebabkan oleh proses penjemuran yang sangat lama. Selain itu, proses penepungan juga ikut mengurangi kadar air yang terkandung didalamnya, hal ini disebabkan oleh panas yang dikeluarkan mesin *planetary ball mill* selama proses penggilingan. Kadar air yang rendah pada cangkang kerang-kerangan juga telah dilaporkan oleh beberapa peneliti [2, 14, 15] secara berturut-turut 0,11%; 0,54% dan 0,85%. Kadar N-total tepung cangkang tiram yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan kitosan adalah sebesar 1,73%. Hasil yang diperoleh ini tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya yaitu 1,69% [2]. Hal ini juga diperkuat oleh laporan peneliti lain bahwa cangkang kijing mengandung 1,85% kadar N-total [16].

3.2. Isolasi Kitin dan Kitosan dari Cangkang Tiram

3.2.1. Demineralisasi

Tahap pertama yang dilakukan adalah demineralisasi yaitu proses penghilangan mineral pada cangkang tiram menggunakan HCl 1 N. Pemilihan HCl sebagai pelarut dikarenakan mineral dapat larut dengan baik pada larutan asam membentuk garam klorida. Ekstraksi berulang ini dilakukan dengan tujuan agar penghilangan mineral yang terkandung dalam cangkang tiram berlangsung maksimal, berdasarkan hasil analisis tepung cangkang tiram kadar abu yang terkandung didalamnya adalah 95,08% sesuai dengan penelitian sebelumnya kadar abu pada cangkang tiram adalah sebesar 94,78% [2]. Kandungan mineral yang terdapat dalam cangkang tiram sebagian besarnya adalah CaCO₃. Proses ekstraksi menggunakan HCl ini menghasilkan gas CO₂ yang ditandai dengan terbentuknya banyak buih dan gelembung-gelembung udara sekitar 5-10 menit. Mineral yang ada pada kitin akan hilang dengan

terbentuknya CaCl₂ yang dapat dipisahkan dari residu. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Setelah proses demineralisasi selesai, maka diperoleh kitin bebas mineral namun masih mengandung protein sehingga dilanjutkan ke tahap deproteinasi.

3.2.2. Deproteinasi

Tahap ini merupakan proses penghilangan protein dengan menggunakan NaOH 3 N. Perlakuan pada tahap ini akan mengakibatkan lepasnya ikatan antara protein dengan kitin baik yang terikat dengan ikatan kovalen maupun terikat secara fisik. Protein akan lepas dan berikatan dengan ion Na⁺ membentuk Na-proteinat yang larut dalam air sehingga protein yang terlepas akan hilang pada tahap penyaringan dan pencucian. Pelarut basa yang digunakan berupa NaOH dengan konsentrasi tinggi, suhu tinggi serta pengadukan yang dapat meningkatkan efisiensi proses deproteinasi. Setelah proses deproteinasi ini selesai, maka hasil yang diperoleh adalah berupa kitin. Kitin yang diperoleh dianalisis menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi. Spektra yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 1.

3.2.3. Deasetilasi

Untuk mendapatkan kitosan, kitin yang diperoleh di proses lebih lanjut melalui deasetilasi. Tahap ini merupakan proses penghilangan gugus asetil (-COCH₃) dengan gugus hidrogen sehingga gugus amida (-NHCOCH₃) berubah menjadi gugus amina (-NH₂). Pemutusan ikatan amida yaitu antara gugus asetil dengan gugus nitrogen agar dapat membentuk gugus amina digunakan larutan larutan alkali yaitu NaOH dengan konsentrasi 50% pada suhu 120°C selama 1 jam disertai pengadukan menggunakan *magnetic stirrer*. Penggunaan konsentrasi dan suhu yang tinggi dapat mempengaruhi derajat deasetilasi kitosan yang dihasilkan. Semakin tinggi konsentrasi basa yang digunakan maka akan semakin banyak pula jumlah ion OH⁻ yang bereaksi, dan semakin tinggi suhu yang digunakan, maka kemungkinan antar partikel untuk saling bertumbukan akan semakin tinggi, sehingga laju reaksi yang dihasilkan juga semakin besar. Presentase transformasi kitin menjadi kitosan adalah sebesar 61,11%. Kitosan yang dihasilkan dikarakterisasi menggunakan FTIR dan dilanjutkan untuk perlakuan menjadi nanopartikel kitosan. Spektra FTIR kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.

3.3. Rendemen Kitin Kitosan

Rendemen merupakan persentase yang dihasilkan dari berat bahan baku awal, semakin tinggi nilai rendemennya maka semakin baik pula proses yang dilakukan. Tingkat keberhasilan suatu proses dapat dilihat dari besarnya nilai rendemen yang diperoleh. Tahapan pembuatan kitin kitosan melalui 3 tahap, yaitu demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi.

Tabel 2. Rendemen Kitin dan Kitosan

Produk	Nilai ± stdev (%)
Kitin	30,01 ± 0,08
Kitosan	61,11 ± 0,11

Keterangan: n = 2 (dua kali ulangan)

Tabel 2 menunjukkan rendemen kitin yang diperoleh adalah sebesar 30%, rendemen kitosan yang diperoleh dari perhitungan jumlah kitin adalah sebesar 61,11%. Sedangkan besarnya rendemen kitosan jika dihitung berdasarkan jumlah sampel bahan baku awal tepung cangkang tiram adalah sebesar 18,33%. Nilai rendemen ini lebih besar dibandingkan penelitian terdahulu, kitosan dari cangkang kerang bulu yaitu 37,5% dan rendemen kitosan jika dihitung dari jumlah bahan baku awal tepung cangkang kerang bulu hanya sebesar 3,75% [5].

3.4. Karakterisasi Kitin Kitosan

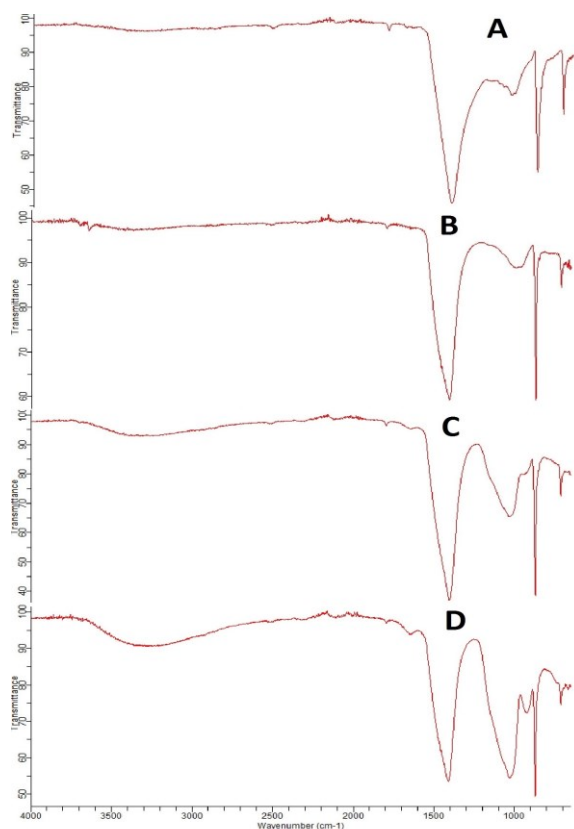
3.4.1. Hasil Uji FTIR Kitin dan Kitosan

Kitin dan kitosan yang diperoleh dikarakterisasi menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus aktif yang terkandung didalamnya. Spektra FTIR pembentukan kitin dan kitosan hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Prediksi gugus fungsi kitin dan kitosan cangkang tiram

Prediksi Gugus Fungsi	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)		
	Kitin [17]	Kitin [18]	kitin hasil penelitian
OH dan uluran NH	3448	3474,73	3554,15
Regangan C-H alifatik	2891,1	2883,58	2518,21
C=O ulur	1680-1640	1660,71	1794,47
N-H bengkakan	1560-1530	1554,63	1686,28
CH ₃	1419,5	1431,18	1406,84
C-O-C	1072,3	1072,42	873,43
N-H kibasan	750-650	707,88	711,89

Spektra kitin cangkang tiram hasil penelitian tidak jauh berbeda dengan kitin cangkang udang windu yaitu pita serapan pada bilangan gelombang 3554,45 cm⁻¹ disebabkan oleh vibrasi pembengkakan amida, pada bilangan gelombang 1670,35 cm⁻¹ muncul serapan akibat dari vibrasi peregangan NH₂ (amina sekunder) [19]. Spektrum FTIR kitin dari cangkang tiram dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektra FTIR (A) Kitin (B) Kitosan (C) Nanokitosan, TPP 0,1% (D) Nanokitosan, TPP 0,5%

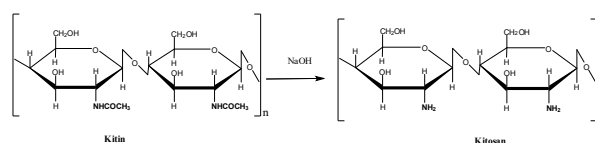
Spektrum FTIR yang terlihat pada Gambar 1 menunjukkan adanya serapan yang muncul pada bilangan gelombang $3551,15 \text{ cm}^{-1}$ hal ini diakibatkan oleh adanya gugus fungsi OH ulur dan NH ulur sesuai dengan penelitian [19] pada bilangan gelombang $3554,45 \text{ cm}^{-1}$. Pita serapan yang sedang juga ditunjukkan pada bilangan gelombang $2518,21 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus fungsi CH_2 ulur. Pada bilangan gelombang $1686,28 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya serapan gugus $\text{C}=\text{O}$ amida, gugus fungsi $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ menyebabkan pita serapan pada bilangan gelombang $1082 - 1031 \text{ cm}^{-1}$ dan pada bilangan gelombang $873,43 \text{ cm}^{-1}$ terjadi serapan yang disebabkan oleh adanya mineral silika. Spektra kitin dari cangkang kerang darah memiliki pita serapan yang disebabkan oleh mineral silika pada bilangan gelombang $873,75 \text{ cm}^{-1}$ [20].

Pada bilangan gelombang $3745 - 3418 \text{ cm}^{-1}$ muncul pita serapan yang disebabkan oleh gugus fungsi OH dan NH. Serapan berikutnya muncul pada bilangan gelombang 2291 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya vibrasi peregangan simetris gugus fungsi CH alifatik. Pita serapan yang muncul pada bilangan gelombang $1953 - 1792 \text{ cm}^{-1}$ diakibatkan oleh vibrasi peregangan gugus fungsi $\text{C}=\text{O}$ amida sekunder. Pita serapan selanjutnya yang terbentuk adalah pada bilangan gelombang $1457 - 1407 \text{ cm}^{-1}$ yang disebabkan oleh gugus fungsi $\text{C}-\text{O}$ dan $\text{C}-\text{H}$. Semetara serapan yang terbentuk pada bilangan gelombang $998 - 965 \text{ cm}^{-1}$ merupakan akibat dari adanya gugus $\text{C}-\text{O}-\text{C}$. Adanya kandungan silika pada kitosan dari cangkang tiram ditandai dengan terbentuknya pita serapan pada bilangan gelombang $871,67 \text{ cm}^{-1}$. Hal ini menandakan bahwa SiO_2 yang terkandung dalam cangkang tiram belum hilang setelah mengalami proses

deproteinasi maupun demineralisasi. Cangkang tiram mengandung $1,25\% \text{ SiO}_2$ [21].

3.4.2. Mutu Kitosan

Untuk mendapatkan kitosan, kitin yang diperoleh di proses lebih lanjut melalui deasetilasi. Tahap ini merupakan proses penghilangan gugus asetil ($-\text{COCH}_3$) dengan gugus hidrogen sehingga gugus amida ($-\text{NHCOCH}_3$) berubah menjadi gugus amina ($-\text{NH}_2$). Mutu suatu kitosan ditentukan oleh besarnya derajat deasetilasi (DD), semakin besar nilai DD maka gugus NH_2 yang ada pada kitosan semakin banyak. Derajat deasetilasi dapat dihitung dari spektra infrared (FT-IR) yang dihasilkan menggunakan metode garis dasar (*base line*) [22]. Derajat deasetilasi (DD) yang diperoleh sebesar $89,14\%$ dan reaksi deasetilasi kitin menjadi kitosan sebagai berikut [23]:



Nilai derajat deasetilasi menunjukkan mutu suatu kitosan yang berkaitan dengan kemurniannya, semakin tinggi nilai DD suatu kitosan maka semakin baik pula mutunya. Semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan maka semakin banyak gugus amina pada rantai molekul kitosan, sehingga kitosan semakin reaktif karena banyaknya gugus amina yang menggantikan gugus asetil [24]. Derajat deasetilasi kitosan yang dihasilkan pada penelitian ini adalah sebesar $89,14\%$. Nilai DD kitosan dari cangkang tiram yang dihasilkan ini tidak jauh berbeda dengan nilai DD kitosan hasil penelitian-penelitian sebelumnya yang juga dibuat dari cangkang kerang-kerangan seperti nilai DD kitosan yang disintesis dari cangkang kerang bulu yaitu sebesar $80,6\%$ [5]. DD kitosan dari cangkang bekicot $77,99\%$ [25], DD kitosan dari cangkang rajungan $70,70\%$ [26]. Perbedaan nilai DD ini disebabkan oleh proses deasetilasi yang berbeda. Proses deasetilasi sangat dipengaruhi oleh konsentrasi dan perbandingan (pelarut dan jumlah sampel) serta faktor pemanasan.

3.5. Nanokitosan

3.5.1. Karakteristik Nanokitosan

Pembuatan nanokitosan dilakukan dengan dua variasi yaitu dengan penambahan TPP $0,1\%$ dan $0,5\%$. Penambahan Tripolifosfat (TPP) berfungsi sebagai reagen *crosslinker* membentuk kitosan-TPP melalui ikatan intermolekul dan intramolekul dengan reaksi ionik [27] sehingga dapat menurunkan derajat *swelling* (pembengkakan), meningkatkan sifat biokompabilitas [9] yaitu kemampuan suatu material untuk bekerja selaras dengan tubuh tanpa menimbulkan efek lain yang berbahaya, serta dapat memperkecil ukuran partikel sehingga memperluas permukaan dan meningkatkan daya adsorpsi kitosan [28]. Lamanya waktu homogenisasi pada saat penambahan TPP mempengaruhi kehomogenan ukuran partikel, begitu pula dengan konsentrasi TPP yang ditambahkan, akan mempengaruhi kestabilan dan kekuatan matrik nanokitosan yang

terbentuk sehingga membuat nanopartikel semakin kuat dan sulit terpecah [29]. Oleh sebab itu pada penelitian ini dilakukan penambahan konsentrasi TPP yang berbeda. Pembuatan nanokitosan pada penelitian ini menggunakan metode gelas ionik dan pengecilan ukuran dengan *magnetic stirrer*, karena metode ini merupakan suatu metode yang sederhana untuk membuat partikel berukuran nano. Beberapa penelitian pembuatan nanokitosan menggunakan metode ini telah dilakukan salah satunya membuat nanokitosan dari cangkang udang vannamei [8]. Tween 80 merupakan suatu surfaktan yang ditambahkan pada pembuatan nanokitosan dengan metode gelas ion, penambahan tween 80 ini berfungsi sebagai pengemulsi agar menstabilkan partikel-partikel kitosan yang telah terbentuk menjadi emulsi, sehingga pemecahan partikel akan semakin efektif serta diharapkan dapat mencegah terjadinya aglomerasi. Penambahan surfaktan tween 80 sebagai pengemulsi pada kitosan dilakukan karena tween 80 bersifat non toksik, TPP dan tween 80 merupakan zat tambahan pangan yang diperbolehkan dengan batas maksimum penggunaan 70 mg/kg berat badan.

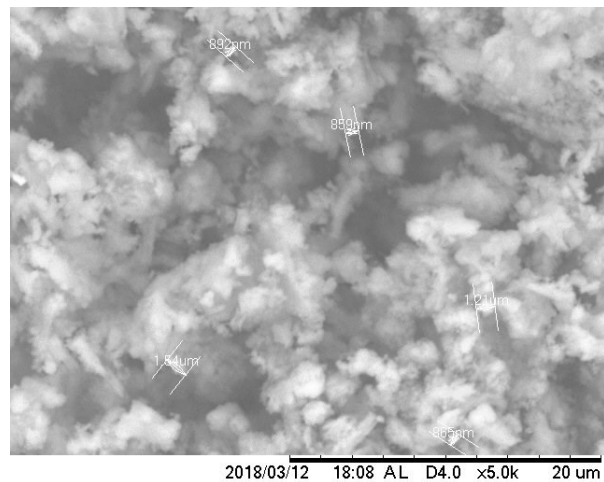
3.5.2. Analisis Gugus Fungsi Nanokitosan (Uji FTIR)

Gambar 1 menunjukkan spektra FTIR nanokitosan dengan penambahan TPP 0,1% dan TPP 0,5% . FT-IR akan mendeteksi gugus-gugus fungsi yang ada pada kitosan seperti OH, NH, C-C. Sedangkan pada kitin FT-IR akan mendeteksi gugus-gugus tambahan lainnya seperti C=O dan CH. Spektra nanokitosan yang dihasilkan tidak jauh berbeda dengan spektra kitosan, hanya ada sedikit pergeseran bilangan gelombang yang disebabkan oleh adanya penambahan tripoliposfat (TPP) dan tween 80. Spektra pada nanokitosan dengan penambahan TPP 0,1% terlihat adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3697-3638 cm^{-1} yang disebabkan oleh adanya gugus fungsi OH dan NH. Sedangkan pada penambahan TPP 0,5 % pita serapan muncul pada bilangan gelombang 3399 cm^{-1} . Selanjutnya untuk nanokitosan dengan penambahan TPP 0,1 % terbentuk spektra pada bilangan gelombang 1405 cm^{-1} yang diakibatkan oleh adanya gugus fungsi CH. Sedangkan untuk nanokitosan dengan penambahan TPP 0,5% serapan terjadi pada bilangan gelombang 1410 cm^{-1} . Hasil ini tidak jauh berbeda dengan spektra kitosan yang dihasilkan yaitu 1407 cm^{-1} . Nanokitosan memiliki pita serapan pada bilangan gelombang 1412,31 cm^{-1} [9] 1637,32 cm^{-1} muncul karena adanya reaksi antara ion ammonium dan ion fosfat dari TPP (0,1%), 1645 cm^{-1} [27] sedangkan dengan penambahan TPP (0,5%) puncak serupa tidak terbaca, namun untuk *crosslink* nanokitosan-TPP 0,1% dan 0,5% sama-sama muncul rentangan yang disebabkan oleh jembatan oksigen yang disebabkan oleh vibrasi rentangan P-O, masing-masing pada bilangan gelombang 1030,29 cm^{-1} dan 1029,37 cm^{-1} , serupa dengan penelitian terdahulu pada bilangan gelombang 1026 cm^{-1} [30] dan pada 1155 cm^{-1} [27]. Nanokitosan dengan penambahan TPP 0,1 % menghasilkan spektra yang lebih baik dari penambahan TPP 0,5%, yaitu terbentuknya puncak yang disebabkan oleh adanya *crosslink* antara ion fosfat dan ion ammonium. Penambahan reagen *crosslinker* TPP 0,1% merupakan konsentrasi yang

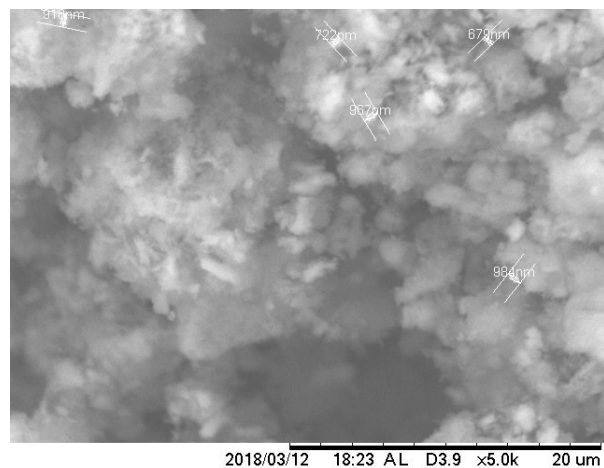
optimum untuk membentuk partikel nanokitosan [8, 31]. Nanokitosan hasil terbaik ini dilanjutkan untuk uji morfologi menggunakan SEM agar dapat dibandingkan dengan morfologi kitosan.

3.5.3. Morfologi (Uji SEM)

Hasil nanokitosan terbaik dengan variasi konsentrasi tripoliphospat dilanjutkan untuk uji morfologi dan melihat distribusi ukuran partikel yang diperoleh, kemudian dibandingkan dengan kitosan atau bahan awal sebelum dijadikan nanokitosan. Perbandingan morfologi kitosan dengan nanokitosan dikarakterisasi menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Adapun hasil gambar permukaan dari kitosan dan nanokitosan disajikan pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Image SEM Morfologi Kitosan pada pembesaran 5000x



Gambar 3. Image SEM Morfologi Nanokitosan pada pembesaran 5000x

Hasil uji SEM sebagaimana terlihat pada gambar 2 dan 3 menunjukkan bahwa ukuran partikel kitosan terdistribusi tidak homogen yaitu antara 892 nm-1,54 μm , sedangkan ukuran partikel nanokitosan yang diperoleh terdistribusi merata antara 679 nm-910 nm. Namun nanokitosan yang dihasilkan mengalami aglomerasi, yaitu penggumpalan yang disebabkan karena ikatan kuat yang terbentuk antar partikel biasanya

disebut *caking* [32]. Hal ini dapat disebabkan karena proses pengeringan yang tidak menggunakan *spray dryer* hanya menggunakan oven kemudian dihaluskan dengan mortar. Ukuran partikel yang berbentuk padatan dengan kisaran 10-1000 nm dapat dikatakan sebagai nanopartikel [33], polimer alam maupun polimer buatan yang berukuran 10-1000 nm (1 μm) dapat disebut nanopartikel [34], partikel dengan koloid padat berukuran 1-1000 nm juga dapat disebut sebagai nanopartikel [35], dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kitosan yang dihasilkan berukuran nano. Aglomerasi dapat terjadi pada kondisi tertentu secara tak terduga yang merupakan suatu fenomena alam. Banyak hal yang dapat menyebabkan terjadinya aglomerasi, mekanisme utama yang dapat menyebabkan partikel bahan membentuk ikatan ialah ikatan mekanis, ikatan fisika kimia (termasuk *moisture caking*), pengisian elektrostatis, *plastic-flow bonding* atau kombinasi keempatnya [36].

4. Kesimpulan

Rendemen kitin yang diperoleh adalah sebesar 30% dari jumlah bahan baku awal tepung cangkang tiram, rendemen kitosan yang diperoleh dari deasetilasi kitin adalah sebesar 61,11%. Sedangkan besarnya rendemen kitosan jika dihitung berdasarkan jumlah sampel bahan baku awal adalah sebesar 18,33%. Derajat deasetilasi kitosan yang diperoleh adalah 89,14%. ukuran partikel kitosan yang diperoleh antara 892 nm-1,54 μm , sedangkan ukuran partikel nanokitosan yang diperoleh adalah antara 679 nm-910 nm.

5. Daftar Pustaka

- [1] Yoon Gyo Lee, Ki-Chul Chung, Seung Gon Wi, Jae Chang Lee, Hyeun-Jong Bae, Purification and properties of a chitinase from *Penicillium* sp. LYG 0704, *Protein Expression and Purification*, 65, 2, (2009) 244-250 <http://dx.doi.org/10.1016/j.pep.2008.12.004>
- [2] Lia Handayani, Faisal Syahputra, Isolasi dan Karakterisasi Nanokalsium dari Cangkang Tiram (*Crassostrea Gigas*), *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (JPHPI)*, 20, 3, (2018) 516-523 <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v20i3.19776>
- [3] Kjell M. Va^orum, Olav Smidsrød, Chitosans, in: A.M. Stephen, G.O. Phillips, P.A. Williams (Eds.) *Food Polysaccharides and Their Applications*, CRC Press, Boca Raton, 2006, pp. 497-520.
- [4] Marganof, Potensi Limbah Udang sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium dan Tembaga) di Perairan, in, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 2003.
- [5] Budi Hastuti, Nurina Tulus, Sintesis Kitosan dari Cangkang Kerang Bulu (*Anadara inflata*) sebagai Adsorben Ion Cu^{2+} , *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VIII*, Surakarta, (2015)
- [6] Dwi Wahyono, Ciri Nanopartikel Kitosan dan Pengaruhnya Pada Ukuran Partikel dan Efisiensi Penyalutan Ketoprofen, Sekolah Pascasarja, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- [7] Annisa Ulfa Safitri, Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Kitosan Berbasis Cangkang Lobster Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Staphylococcus Epidermidis*, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- [8] Desie Rachmania, Karakteristik nano kitosan cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan metode gelasi ionik, *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (JPHPI)*, 14, 2, (2011) 78-84 <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v14i2.5315>
- [9] Dessy Kurniasari, Sri Atun, Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan, *Jurnal Sains Dasar*, 6, 1, (2017) 31-35 <https://doi.org/10.21831/jsd.v6i1.13610>
- [10] Pipih Suptijah, Agoes M Jacobeb, Nani Deviyanti, Karakterisasi dan bioavailabilitas nanokalsium cangkang udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*), *Jurnal Akuatika*, 3, 1, (2012) 63-73
- [11] Roberto Acevedo, Andrés Soto Bubert, M. Jiménez Guevara, M Belmar, Microstructure of calcite and aragonite in some Chilean gastropods and bivalves molluscs, *Asian Journal of Spectroscopy*, 14, 3, (2010) 63-76
- [12] M. C. Barros, P. M. Bello, M. Bao, J. J. Torrado, From waste to commodity: transforming shells into high purity calcium carbonate, *Journal of Cleaner Production*, 17, 3, (2009) 400-407 <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2008.08.013>
- [13] Nobutake Nakatani, Hitoshi Takamori, Kazuhiko Takeda, Hiroshi Sakugawa, Transesterification of soybean oil using combusted oyster shell waste as a catalyst, *Bioresource Technology*, 100, 3, (2009) 1510-1513 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.007>
- [14] Sri Purwaningsih, Pipih Suptijah, Isolasi dan Karakterisasi Nano Kalsium dari Cangkang Kijing Lokal (*Pilobryconcha exilis*) dengan Metode Presipitasi, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- [15] Harry Permana, Optimalisasi pemanfaatan cangkang kerang hijau (*Perna viridis* L.) dalam pembuatan kerupuk, Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- [16] Asadatuln Abdullah, Nurjanah, Yulia Kusuma Wardhani, Karakteristik fisik dan kimia tepung cangkang kijing lokal (*Pilobryconcha exilis*), *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (JPHPI)*, 13, 1, (2010) 48-57 <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v13i1.1215>
- [17] Barbara H. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, Wiley, 2004.
- [18] Sry Agustina, I Made Dira Swantara, I Nyoman Suartha, Isolasi kitin, karakterisasi dan sintesis kitosan dari kulit udang, *Jurnal Kimia*, 9, 2, (2015) 271-278
- [19] Edward J. Dompeipen, Marni Kaimudin, Riardi P Dewa, Isolasi Kitin dan Kitosan dari Limbah Kulit Udang, *Majalah BIAM*, 12, 1, (2016) 32-39 <http://dx.doi.org/10.29360/mb.v12i1.2326>
- [20] Syaiful Bahri, Erwin Abd Rahim, Syarifuddin Syarifuddin, Derajat Deasetilasi Kitosan dari Cangkang Kerang Darah dengan Penambahan NaOH secara Bertahap, *KOVALEN*, 1, 1, (2015) 36-42 <https://doi.org/10.22487/j24775398.2015.v1.i1.5161>
- [21] B.-Y. Zhong, Q. Zhou, C. F. Chan, Y Yu, Structure and property characterization of oyster shell cementing

- material, *Chinese Journal of Structural Chemistry*, 31, 1, (2012) 85–92
- [22] Julian G. Domszy, George A. F. Roberts, Evaluation of infrared spectroscopic techniques for analysing chitosan, *Die Makromolekulare Chemie*, 186, 8, (1985) 1671–1677
<http://dx.doi.org/10.1002/macp.1985.021860815>
- [23] George A.F. Roberts, *Chitin Chemistry*, Macmillan Education UK, 1992.
- [24] Tri Winarni Agustini, Sri Sedjati, The Effect of Chitosan Concentration and Storage Time on the Quality of Salted–Dried Anchovy (*Stolephorus heterolobus*), *Journal of Coastal Development*, 10, 2, (2013) 63–71
- [25] Triana Kusumaningsih, Abu Masykur, Usman Arief, Pembuatan kitosan dari kitin cangkang bekicot (*Achatina fulica*), *Biofarmasi*, 2, 2, (2004) 64–68
- [26] Emma Rochima, Karakterisasi Kitin dan Kitosan Asal Limbah Rajungan Cirebon Jawa Barat, *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 10, 1, (2007) 9–22
- [27] Devika R. Bhumkar, Varsha B. Pokharkar, Studies on effect of pH on cross–linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: A technical note, *AAPS PharmSciTech*, 7, 2, (2006) E138–E143
<http://dx.doi.org/10.1208/pt070250>
- [28] Puji Rahayu, Khabibi Khabibi, Adsorpsi Ion Logam Nikel(II) oleh Kitosan Termodifikasi Tripolifosfat, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 19, 1, (2016) 21–26
10.14710/jksa.19.1.21–26
- [29] Wen–Li Du, Shan–Shan Niu, Ying–Lei Xu, Zi–Rong Xu, Cheng–Li Fan, Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions, *Carbohydrate Polymers*, 75, 3, (2009) 385–389
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.07.039>
- [30] Mardiyah Kurniasih, Nurul Hidayat Aprilita, Indriana Kartini, Sintesis dan Karakterisasi Crosslink Kitosan Dengan Tripolifosfat pH 3, *Molekul*, 6, 1, (2011) 19–24
<http://dx.doi.org/10.20884/1.jm.2011.6.1.86>
- [31] Swara Yudhasasmita, Andhika Puspito Nugroho, Sintesis dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan Sebagai Adsorben Cd dan Antibakteri Koliform, *Biogenesis*, 5, 1, (2017) 42–48
<https://doi.org/10.24252/bio.v5i1.3432>
- [32] Dianita Indah Prahmila, Aplikasi Nano Kitosan sebagai Pengawet Alami Fillet Nila Merah (*Oreochromis sp.*) Selama Penyimpanan Suhu Chilling, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- [33] V. J. Mohanraj, Y Chen, Nanoparticles – A Review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5, 1, (2006) 561–573
- [34] Jörg Kreuter, Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47, 1, (2001) 65–81
[https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00122-8](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00122-8)
- [35] Kalpana Nagpal, Shailendra Kumar Singh, Dina Nath Mishra, Chitosan Nanoparticles: A Promising System in Novel Drug Delivery, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58, 11, (2010) 1423–1430
<http://dx.doi.org/10.1248/cpb.58.1423>
- [36] Jairo Paternina, Preventing moisture caking, the unwanted agglomeration, in: *Powder and Bulk Engineering Magazine*, 2014.