

KARAKTERISTIK KITOSAN DARI KULIT UDANG VANAME DENGAN MENGGUNAKAN SUHU DAN WAKTU YANG BERBEDA DALAM PROSES DEASETILASI

Beni Setha*, Fitriani Rumata, Bernita br. Silaban

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Pattimura
Jalan Mr. Chr. Soplanit Kampus Unpatti-Poka, Ambon, Maluku
*Korespondensi: b.setha@fpik.unpatti.ac.id; bsetha42@yahoo.com

Diterima: 3 September 2019/ Disetujui: 18 Desember 2019

Cara sitasi: Setha B, Rumata F, Silaban Bbr. 2019. Karakteristik kitosan dari kulit udang vaname dengan menggunakan suhu dan waktu yang berbeda dalam proses deasetilasi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(3): 498-507.

Abstrak

Kitosan merupakan padatan amorf berwarna putih kitin murni, memiliki sifat biologi dan mekanik yang tinggi. Pengerjaan kitosan terbagi atas dua tahap yaitu isolasi kitin (deproteinasi, demineralisasi dan depigmentasi), dilanjutkan dengan proses deasetilasi kitin menjadi kitosan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik kitosan yang diisolasi dari kulit udang vaname menggunakan suhu dan lama waktu yang berbeda dalam proses deasetilasi, yaitu pada suhu 100°C dan 120°C selama 2 jam dan 3 jam. Karakteristik yang diamati meliputi derajat deasetilasi, viskositas, bobot molekul, dan kelarutan. Hasil pengujian FTIR terlihat bahwa telah terjadi pemutusan gugus kitin menjadi kitosan pada setiap perlakuan walaupun belum sempurna. Kandungan kitosan tertinggi terdapat pada perlakuan suhu 100°C selama 2 jam, sedangkan derajat deasetilasi, viskositas dan berat molekul pada perlakuan suhu 120°C selama 3 jam. Hasil pengujian kelarutan sampel menandakan bahwa sampel yang dihasilkan merupakan kitosan, karena tidak dapat larut dalam air, metanol maupun etanol.

Kata kunci: kelarutan, kitin, kitosan, udang vaname, viskositas

Characteristics of Chitosan from White Leg Shrimp Shells Extracted Using Different Temperature and Time of the Deacetylation Process

Abstract

Chitosan is a white amorphous solid chitin, and of high biological and mechanical characteristics. Chitosan production is divided into two stages. First is chitin isolation (deproteination, demineralization, and depigmentation), and second is deacetylation of chitin to chitosan. This research was aimed to determine the characteristic of chitosan isolated from the shells of the white leg shrimp using different temperature and time in the deacetylation process. The FTIR test results showed that the chitin group was partially broken into chitosan in every treatment. The highest content of chitosan was obtained at the temperature treatment of 100°C for 2 hours, while the highest degree of deacetylation, viscosity, and molecular weight were observed at the temperature treatment of 120°C for 3 hours. The sample were not soluble in aquades, methanol, or ethanol indicating the samples were chitosan.

Keywords: chitin, chitosan, solubility, vaname shrimp, viscosity

PENDAHULUAN

Salah satu jenis udang laut yang banyak dibudidayakan di Indonesia, khususnya di Maluku adalah udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Udang vaname banyak dimanfaatkan untuk keperluan ekspor, usaha lokal (restoran), maupun konsumsi skala rumah tangga. Konsumsi dan produksi udang yang tinggi menghasilkan limbah yang banyak pula. Limbah inilah yang akan menimbulkan dampak terhadap pencemaran lingkungan dan merusak estetika lingkungan jika tidak ditangani dengan baik. Limbah udang yang terdiri dari kepala, kulit, kaki, dan ekor berkisar antara 35-50% dari berat tubuhnya (Swastawati *et al.* 2008). Kurniasih dan Kartika (2011) melaporkan bahwa kandungan protein kulit udang berkisar antara 25-40%, kitin 15-20% dan kalsium karbonat 45-50%. Salah satu alternatif untuk menangani limbah ini adalah dengan mengolahnya menjadi kitosan.

Kitosan mempunyai sifat polielektrolit, berbentuk padatan amorf dan memiliki warna putih kekuningan. Kitosan pada umumnya larut dalam pelarut asam organik pada kisaran pH 4-6,5. Mima *et al.* (1983) melaporkan bahwa bobot molekul dan derajat deasetilasi berpengaruh terhadap kelarutan kitosan. Selain itu, kitosan memiliki ikatan kimia lebih pendek dibandingkan dengan kitin (Rokhati 2006, Dompeipen 2017). Proses pengerjaan kitosan terbagi atas dua tahap yaitu isolasi kitin (deproteinasi, demineralisasi dan depigmentasi) dan dilanjutkan dengan proses deasetilasi kitin menjadi kitosan atau penghilangan gugus asetil.

Proses deasetilasi sangat menentukan persentase kitosan yang terbentuk. Semakin tinggi persentase derajat deasetilasi maka semakin baik kitosan yang dihasilkan. Menurut Purnawan (2008) beberapa faktor yang memengaruhi derajat deasetilasi adalah konsentrasi basa kuat yang digunakan, suhu deasetilasi, lama waktu deasetilasi, dan jumlah pengulangan (redeasetilasi). Penelitian tentang penggunaan suhu dan waktu reaksi pada pembuatan kitosan dari tulang sotong (*Sepia officinalis*) telah dilaporkan oleh Siregar *et al.* (2016). Safitra *et al.* (2015) melaporkan penelitian penggunaan KOH dalam optimasi dan pemodelan matematis

deasetilasi kitin menjadi kitosan, sedangkan Mursida *et al.* (2018) melaporkan bahwa NaOH merupakan alkali yang cenderung menghasilkan kitosan dengan derajat deasetilasi lebih tinggi. Mastuti (2005) menyatakan bahwa derajat deasetilasi menentukan tujuan aplikasi pada kitosan. Kitosan dapat digunakan dalam berbagai kebutuhan, di antaranya sebagai baterai cerdas (Riyanto *et al.* 2011), antibakteri dalam *mouthwash* (Ibrahim *et al.* 2012), pengawet ikan gabus (Wahyuni *et al.* 2013), antibakteri dalam filet patin (Damayanti *et al.* 2016), daur ulang air dalam produksi bersih (Ratnawulan *et al.* 2018), serta antibakteri dalam matriks pangan (Lestari *et al.* 2019).

Berdasarkan uraian yang dikemukakan di atas, penelitian ini menentukan penggunaan suhu deasetilasi dan waktu deasetilasi yang dapat menghasilkan kitosan dengan karakteristik yang lebih baik. Tujuan penelitian ini untuk menentukan karakteristik kitosan yang diisolasi dari kulit udang vaname dengan menggunakan suhu dan lama waktu yang berbeda dalam proses deasetilasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah kulit udang vaname, NaOH 3,5% p.a (Merck), NaOH 60% p.a (Merck), HCl 15% p.a (Merck), aseton p.a (Merck), dan akuades.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas (pyrex), blender (National, PT 25.221.03.015BF), oven (UN55 Memmert), timbangan analitik (Ohaus), *hot plate* (Labinco LD-844), kertas lakmus, kertas saring kasar 1620 mesh, *aluminium foil* (Indotrading), termometer alkohol, *water bath* (BTI-57 Biotechnic, India), spektrofotometer FTIR UV-VIS (APEL tipe PD : 3000 UV).

Metode Penelitian

Persiapan sampel

Limbah kulit udang vaname dicuci dengan air bersih secara berulang-ulang untuk menghilangkan kotoran. Kulit udang yang sudah bersih kemudian dijemur dibawah sinar matahari sampai kering

± 4 hari dan selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan blender.

Isolasi kitin dari limbah kulit udang

Isolasi kitin mengacu pada Dwiyitno *et al.* (2004) meliputi beberapa tahapan yaitu proses deproteinasi (pemisahan protein), demineralisasi (pemisahan mineral) dan depigmentasi (penghilangan warna). Tahap deproteinasi mencampurkan 600 g serbuk limbah kulit udang dan NaOH 3,5% pada perbandingan 1:5 (w/v). Sampel dipanaskan dengan *hot plate* pada suhu 65°C selama dua jam, didinginkan ± 30 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring kasar ukuran 1.620 mesh. Residu yang dihasilkan dicuci menggunakan akuades dalam keadaan tersaring hingga pH netral, selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 60°C selama empat jam.

Tahap demineralisasi menggunakan sampel yang sudah dideproteinasi dan dicampur dengan HCl 15% perbandingan 1:5 (w/v), kemudian dibiarkan selama dua hari pada suhu kamar. Sampel dipanaskan dengan *hot plate* pada suhu 65°C selama dua jam, didinginkan ± 30 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring kasar ukuran 1.620 mesh. Residu yang dihasilkan dicuci menggunakan akuades dalam keadaan tersaring sampai pH netral, kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 60°C selama empat jam.

Tahap depigmentasi atau pemisahan warna dilakukan dengan menambahkan aseton pada residu demineralisasi dengan perbandingan 1:2 (w/v), kemudian dibiarkan selama dua hari. Sampel disaring menggunakan kertas saring kasar ukuran 1.620 mesh. Residu yang dihasilkan dicuci menggunakan akuades dalam keadaan tersaring sampai pH netral, kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 60°C selama empat jam.

Isolasi kitin menjadi kitosan

Metode isolasi kitin mengikuti Dwiyitno *et al.* 2004, namun suhu deasetilasi dimodifikasi mengikuti Ramadhan *et al.* (2010). Residu yang dihasilkan pada tahap ketiga dalam isolasi kitin ditambahkan NaOH 60% dengan perbandingan 1:1, kemudian dipanaskan di dalam *waterbath* sesuai perlakuan suhu

deasetilasi yang diberikan (dimodifikasi), yaitu suhu 100°C selama dua jam (A_1B_1), suhu 100°C selama tiga jam (A_1B_2), suhu 120°C selama dua jam (A_2B_1), dan suhu 120°C selama tiga jam (A_2B_2). Masing-masing perlakuan tersebut dicuci dengan air dalam keadaan tersaring sampai pH netral menggunakan kertas saring kasar ukuran 1.620 mesh. Proses ini diulang sebanyak tiga kali. Residu terakhir yang dihasilkan dikeringkan di dalam oven pada suhu 70°C selama 24 jam kemudian dianalisis.

Analisis Data Rendemen

Penentuan rendemen kitosan berdasarkan perbandingan antara berat dari kitosan yang dihasilkan dengan berat kulit udang. Rumus penentuan rendemen sebagai berikut:

$$\% \text{rendemen} = \frac{\text{berat kitosan yang dihasilkan}}{\text{berat kulit udang}} \times 100\%$$

Analisis derajat deasetilasi

Derajat deasetilasi kitosan diukur menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) (Suryaningrum *et al.* 2005). Spektrum diambil dengan *scanning* pada daerah bilangan gelombang 4000-500 cm^{-1} . Pengukuran derajat deasetilasi dengan menggunakan metode *base line* pada hasil FTIR. Cara perhitungan dalam metode ini adalah dengan mengukur puncak tertinggi dan dicatat dari garis yang diperoleh, dan absorbansi dihitung dengan rumus (1). Penentuan dan perhitungan derajat deasetilasi dilakukan pada nilai absorbansi 1655 cm^{-1} dan 3450 cm^{-1} dengan menggunakan rumus (2).

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

Keterangan:

P_0 = Jarak antara garis dasar dan garis singgung

P = Jarak antara garis dasar dengan lembah terendah

$$\% \text{N-deasetilasi} = \left[100 - \left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times \frac{100}{1,33} \right) \right]$$

Keterangan:

A_{1655} : Nilai absorbansi pada 1655 cm^{-1}

A_{3450} : Nilai absorbansi pada 3450 cm^{-1}

1,33 : Rasio A_{1655} / A_{3450} pada N - deasetilasi 100%

Penentuan viskositas dan berat molekul kitosan (Dirjen POM 1979)

Sampel ditimbang 0,1 g, kemudian dilarutkan dalam 100 mL larutan asam asetat 2%. Larutan kitosan dipipet sebanyak 5 mL ke dalam viskometer Ostwald yang kering dan bersih dan telah dipasang dalam penangas air dengan suhu tetap dijaga 30°C. Waktu alir diukur dan dilakukan dengan tiga kali pengulangan.

Air dijadikan sebagai pembanding sehingga dilakukan juga pengukuran waktu alir air. Nilai viskositas dinyatakan dalam satuan centipoise (cP). Viskositas yang diukur dengan viskometer Ostwald dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{t_1 \rho_1}{t_2 \rho_2}$$

keterangan :

η_1 = viskositas air (0,89 cP)

η_2 = viskositas larutan kitosan (cP)

t_1 = waktu alir air (menit)

t_2 = waktu alir larutan kitosan (menit)

ρ_1 = berat jenis air (1 g/cm³)

ρ_2 = berat jenis asam asetat (1,05 g/cm³)

Setelah itu berat molekul juga dapat dihitung dengan rumus :

$$(n) = km^a$$

$$A \log m = \log n - \log k$$

keterangan :

n = viskositas (cP)

k = konstanta ($8,9 \times 10^{-4}$)

a = konstanta (0,71)

m = berat molekul (g/mol)

Kelarutan (Shon *et al.* 2011)

Analisis kelarutan kitosan mengacu pada

Shon *et al.* (2011). Kitosan dilarutkan dalam metanol, etanol dan air dengan perbandingan 1:10 (b/v) untuk setiap larutan lalu diamati kelarutannya. Padatan kitosan sebanyak 0,5 g dilarutkan ke dalam 50 mL pelarut, divortex selama 10 detik, kemudian disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 15 menit. Endapan yang diperoleh dioven pada suhu 130°C selama 20 menit, ditimbang sampai diperoleh berat konstan. Selisih antara ketidaklarutan dengan bobot awal adalah kelarutan.

$$\text{Ketidaklarutan (\%)} = \frac{\text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

$$\text{Kelarutan (\%)} = 100\% - \text{ketidaklarutan}$$

Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh dianalisis secara deskriptif, kemudian hasilnya ditampilkan dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN Rendemen

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rendemen kitosan dengan kisaran 5,12-5,63% (Table 1). Rendemen kitosan terendah terdapat pada perlakuan suhu deasetilasi 120°C selama tiga jam (A₂B₂) yaitu sebesar 5,12%, sedangkan yang tertinggi berada pada perlakuan suhu deasetilasi 100°C selama dua jam (A₁B₁) yaitu sebesar 5,63%.

Rendemen kitosan yang dihasilkan mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya suhu dan waktu deasetilasi. No *et al.* (1989) menyatakan bahwa semakin tinggi NaOH yang digunakan akan menghasilkan rendemen kitosan yang rendah. Proses depolimerisasi rantai molekul kitosan dapat disebabkan oleh penggunaan NaOH dengan konsentrasi yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan penurunan berat molekul kitosan. Kaimudin dan Leounupun (2016) melaporkan bahwa proses deasetilasi tiga kali,

Table 1 Yield of Chitosan

| Treatment | Weight of chitosan (g) | Weight of sample (g) | Yield (%) |
|-------------------------------|------------------------|----------------------|-----------|
| A ₁ B ₁ | 33.78 | 600 | 5.63 |
| A ₁ B ₂ | 32.80 | 600 | 5.47 |
| A ₂ B ₁ | 31.09 | 600 | 5.18 |
| A ₂ B ₂ | 30.72 | 600 | 5.12 |

akan menyebabkan daya larut kitin dalam natrium hidroksida semakin besar sehingga pada saat pencucian terikut dengan air.

Warna yang dihasilkan dari proses deasetilasi adalah putih krem. Warna ini disebabkan oleh proses depigmentasi yang belum sempurna. Berdasarkan standar mutu Protan Laboratories Inc. (1987) kitosan memiliki warna yang putih. Proses depigmentasi menggunakan aseton saja tidak dapat menghasilkan wana yang baik, untuk itu diperlukan larutan pemutih lainnya seperti NaOCl agar dapat menghasilkan warna kitosan yang sesuai. Tetteh (1991) melaporkan bahwa penggunaan aseton dalam proses depigmentasi belum dapat menghilangkan keseluruhan pigmen, oleh karena itu perlu ditambahkan agen pemutih seperti natrium hipoklorit (NaOCl) untuk menghasilkan warna yang lebih baik.

Deasetilasi Kitin menjadi Kitosan

Hasil pengujian FTIR, terlihat bahwa telah terjadi pemutusan gugus kitin menjadi kitosan pada setiap perlakuan walaupun belum sempurna. Hasil analisis FTIR kitosan diperoleh daerah serapan gugus-gugus fungsional yang dapat dilihat pada *Table 2*.

Serapan gugus OH *stretching* pada perlakuan suhu deasetilasi 100°C selama dua jam (A_1B_1) terlihat muncul pada bilangan gelombang 3458,37 cm^{-1} dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3273,20 cm^{-1} . Gugus N-H *stretching* muncul pada bilangan gelombang 3099,61 cm^{-1} . Serapan yang terjadi pada bilangan gelombang 2889,37 cm^{-1} memperlihatkan vibrasi rentangan C-H pada CH_2 alifatik. Hal ini diperkuat dengan munculnya serapan vibrasi bengkokan CH_2

pada bilangan gelombang 1415,75 cm^{-1} . Serapan pada bilangan gelombang 1666,50 cm^{-1} menunjukkan gugus C=O (puncak amida) yang masih muncul karena kitosan yang dihasilkan belum terdeasetilasi secara keseluruhan. Pita serapan dengan bilangan gelombang 1556 cm^{-1} yang muncul pada spektra IR kitosan hasil isolasi menunjukkan vibrasi bengkokan N-H *bending* dari NH_2 . Pita serapan bengkokan - CH_3 memiliki intensitas lemah dan dapat dilihat pada bilangan gelombang 1377,17 cm^{-1} . Vibrasi rentangan C-N dengan intensitas lemah teridentifikasi pada bilangan gelombang 1315,45 cm^{-1} . Rentangan C-O ikatan teridentifikasi pada bilangan gelombang 1155,36 cm^{-1} dan 1114,86 cm^{-1} .

Kitosan pada perlakuan suhu deasetilasi 100°C selama tiga jam (A_1B_2) terlihat muncul serapan gugus OH *stretching* pada bilangan gelombang 3458,37 cm^{-1} dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3269,34 cm^{-1} . Gugus N-H *stretching* muncul pada bilangan gelombang 3101,54 cm^{-1} . Vibrasi rentangan C-H pada CH_2 alifatik ditunjukkan oleh serapan pada bilangan gelombang 2960,73 cm^{-1} dan 2889,37 cm^{-1} . Hal ini diperkuat dengan munculnya serapan vibrasi bengkokan CH_2 pada bilangan gelombang 1415,75 cm^{-1} . Serapan pada bilangan gelombang 1666,50 cm^{-1} menunjukkan gugus C=O (puncak amida) yang masih muncul karena kitosan yang dihasilkan belum terdeasetilasi secara keseluruhan. Pita serapan pada bilangan gelombang 1556,55 cm^{-1} yang muncul pada spektra IR kitosan hasil isolasi menunjukkan vibrasi bengkokan N-H *bending* dari NH_2 . Bilangan gelombang 1377,17 cm^{-1} menunjukkan pita serapan bengkokan - CH_3

Table 2 Chitosan functional group absorption area

| Functional groups | Wave number (cm^{-1}) | | | |
|-------------------|----------------------------------|----------|----------|----------|
| | A_1B_1 | A_1B_2 | A_2B_1 | A_2B_2 |
| OH stretching | 3458.37 | 3458.37 | 3415.93 | 3292.49 |
| -OH | 3273.20 | 3269.34 | 3294.42 | 3272.20 |
| N-H stretching | 3099.61 | 3101.54 | 3159.40 | 3113.11 |
| -CH | 2889.37 | 2960.73 | 2889.37 | 2933.73 |
| C=O | 1666.50 | 2889.37 | 1660.71 | 2879.72 |
| N-H bending | 1556.00 | 1666.50 | 1556.55 | 1658.78 |

memiliki intensitas yang lemah. Vibrasi rentangan C-N dengan intensitas lemah teridentifikasi pada bilangan gelombang 1311,59 cm^{-1} . Rentangan C-O ikatan teridentifikasi pada bilangan gelombang 1155,36 cm^{-1} dan 1116,78 cm^{-1} .

Kitosan pada perlakuan suhu deasetilasi 120°C selama dua jam (A_2B_1) terlihat muncul serapan gugus OH *stretching* pada bilangan gelombang 3415,93 cm^{-1} dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3294,42 cm^{-1} . Gugus N-H *stretching* muncul pada bilangan gelombang 3159,40 cm^{-1} . Vibrasi rentangan C-H pada CH_2 alifatik ditunjukkan oleh serapan pada bilangan gelombang 2889,37 cm^{-1} . Hal ini diperkuat dengan munculnya serapan vibrasi bengkokan CH_2 pada bilangan gelombang 1415,75 cm^{-1} . Serapan pada bilangan gelombang 1660,71 cm^{-1} menunjukkan gugus C=O (puncak amida) yang masih muncul karena kitosan yang dihasilkan belum terdeasetilasi secara keseluruhan. Pita serapan pada bilangan gelombang 1556,55 cm^{-1} yang muncul pada spektra IR kitosan hasil isolasi menunjukkan vibrasi bengkokan N-H *bending* dari NH_2 . Pita serapan bengkokan $-\text{CH}_3$ memiliki intensitas lemah dapat dilihat pada bilangan gelombang 13773,32 cm^{-1} . Vibrasi rentangan C-N dengan intensitas lemah teridentifikasi pada bilangan gelombang 1315,45 cm^{-1} . Rentangan C-O ikatan teridentifikasi pada bilangan gelombang 1153,43 cm^{-1} dan 1112,93 cm^{-1} .

Kitosan pada perlakuan suhu deasetilasi 120°C selama tiga jam (A_2B_2) terlihat muncul serapan gugus OH *stretching* pada bilangan gelombang 3292,49 cm^{-1} dan gugus hidroksil (-OH) pada bilangan gelombang 3272,20 cm^{-1} . Gugus N-H *stretching* muncul pada bilangan gelombang 3113,11 cm^{-1} . Serapan pada bilangan gelombang 2933,73 cm^{-1} dan 2879,72 cm^{-1} menunjukkan vibrasi rentangan C-H pada CH_2 alifatik yang diperkuat dengan munculnya serapan vibrasi bengkokan CH_2 pada bilangan gelombang 1415,75 cm^{-1} . Serapan pada bilangan gelombang 1658,78 cm^{-1} menunjukkan gugus C=O (puncak amida) yang masih muncul karena kitosan yang dihasilkan belum terdeasetilasi secara keseluruhan. Pita serapan pada bilangan

gelombang 1556,55 yang muncul pada spektra IR kitosan hasil isolasi menunjukkan vibrasi bengkokan N-H *bending* dari NH_2 . Pita serapan bengkokan $-\text{CH}_3$ memiliki intensitas lemah dapat dilihat pada bilangan gelombang 1377,17 cm^{-1} . Vibrasi rentangan C-N dengan intensitas lemah teridentifikasi pada bilangan gelombang 1315,45 cm^{-1} . Rentangan C-O ikatan teridentifikasi pada bilangan gelombang 1153,43 cm^{-1} dan 1114,86 cm^{-1} .

Derajat Deasetilasi Kitosan

Derajat deasetilasi merupakan persentase gugus asetil yang dapat dieliminasi dari senyawa kitin sehingga dihasilkan kitosan. Menurut Knorr (1982) derajat deasetilasi kitosan yang semakin tinggi menyebabkan gugus asetil kitosan menjadi rendah, sehingga interaksi antara ikatan hidrogen dan ion akan semakin kuat. Kitosan bermuatan positif disebabkan karena pelepasan gugus asetil dari kitosan, sehingga mampu mengikat senyawa bermuatan negatif, misalnya protein dan anion polisakarida membentuk ion netral. Hasil analisis derajat deasetilasi kitosan dapat dilihat pada *Table 3*.

Berdasarkan hasil perhitungan metode *base line*, derajat deasetilasi kitosan yang dihasilkan berkisar antara 46,63%-50,39%. Derajat deasetilasi kitosan terendah terdapat pada perlakuan suhu deasetilasi 100°C selama dua jam (A_1B_1), yaitu 46,63%, sedangkan yang tertinggi terdapat pada perlakuan suhu deasetilasi 120°C selama tiga jam (A_2B_2), yaitu 50,39%. Derajat deasetilasi meningkat seiring dengan bertambahnya suhu dan waktu deasetilasi. Fadli *et al.* (2015) menyatakan bahwa semakin tinggi suhu pemanasan dan lama waktu reaksi, maka akan semakin tinggi juga derajat asetilasi. Banyaknya molekul NaOH yang ter-adisi kitin dipengaruhi oleh kenaikan waktu reaksi, sehingga menyebabkan makin banyak pula gugus asetil yang terlepas.

Table 3 Degree of deacetylation of chitosan

| Treatment | Degree of deacetylation (%) |
|-----------|-----------------------------|
| A_1B_1 | 46.63 |
| A_1B_2 | 48.13 |
| A_2B_1 | 49.63 |
| A_2B_2 | 50.39 |

Pengurangan gugus asetamida menyebabkan terjadinya peningkatan derajat deasetilasi kitosan, sehingga proses hidrolisis meningkat. Meskipun mengalami peningkatan, derajat deasetilasi kitosan hasil penelitian ini belum memenuhi standar mutu komersial dari Protan Laboratories Inc. (1987), yakni $\geq 70\%$. Akan tetapi, produk yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat dikatakan sebagai kitosan karena memiliki derajat deasetilasi (DD) berkisar antara 46,63-50,39%. Nilai DD berkisar 40-100% disebut kitosan (Azhar *et al.* 2010). Derajat deasetilasi yang kecil menandakan bahwa pemutusan gugus asetil pada kitin tidak terjadi dengan sempurna. Kitosan dikatakan telah terdeasetilasi sempurna jika derajat deasetilasi $>90\%$ (Srijanto 2003).

Purnawan (2008) menyatakan bahwa efek redeasetilasi atau pengulangan proses deasetilasi dapat membantu meningkatkan derajat deasetilasi kitosan. Kaimudin dan Leounupun (2016) melaporkan jenis bahan baku kitin berpengaruh terhadap karakteristik kitosan yang dihasilkan. Struktur kimia dan fisik dari kitin/kitosan sangat bervariasi, antara lain bergantung pada derajat deasetilasi, posisi rantai dari N-asetil glukosamin, dan ikatan silang komponen struktural dengan komponen lain seperti glukosa dan protein (Svitil *et al.* 1997). Tobing *et al.* (2011) menyatakan bahwa perbedaan derajat deasetilasi akhir dipengaruhi oleh kondisi awal kitin, misalnya derajat deasetilasi awal. Menurut Emmawati *et al.* (2007) pencapaian derajat deasetilasi di atas 90% hanya pada sampel yang memiliki derajat deasetilasi awal lebih dari 75%.

Kitosan yang memiliki derajat deasetilasi rendah dapat digunakan tergantung pada pengaplikasiannya. Bastaman (1989) menyatakan bahwa proses pemurnian air limbah tidak memerlukan kitosan dengan

derajat deasetilasi tinggi. Sofia *et al.* (2016) menyatakan bahwa derajat deasetilasi kitosan sebesar 46,92% dan 59,38% dapat diaplikasikan sebagai *edible film* atau bahan pengemasan.

Viskositas dan Berat Molekul Kitosan

Pengukuran viskositas dengan viskometer Ostwald dengan menentukan waktu yang diperlukan oleh sejumlah volume larutan yang mengalir diantara dua tanda kalibrasi, membandingkan waktu alir larutan dengan waktu alir air, kemudian dilakukan perhitungan untuk mendapatkan nilai viskositas dan berat molekul. Berat molekul ditentukan dari hasil perhitungan nilai viskositas intrinsik, selanjutnya dilakukan perhitungan dengan persamaan Mark-Khoun Houwing (Wang *et al.* 2005). Viskositas dan berat molekul kitosan yang didapat dalam penelitian ini terlihat pada *Table 4*.

Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh viskositas kitosan dengan kisaran antara 2,42-2,64 cP sedangkan berat molekul berkisar antara $6,76 \times 10^3$ - $7,70 \times 10^3$ kDa. Viskositas terendah terdapat pada perlakuan suhu deasetikasi 100°C selama dua jam (A_1B_1), yaitu 2,42 cP dan viskositas tertinggi terdapat pada perlakuan suhu deasetilasi 120°C selama tiga jam (A_2B_2), yaitu 2,64 cP. Nilai viskositas dan berat molekul mengalami peningkatan sejalan dengan peningkatan suhu dan waktu deasetilasi. Sularsih (2013) menyatakan bahwa peningkatan viskositas disebabkan karena semakin menurunnya kandungan asetil dalam kitosan sehingga viskositas kitosan akan meningkat dengan meningkatnya derajat deasetilasi. Berdasarkan persamaan Mark-Houwing, berat molekul berbanding lurus dengan viskositas intrinsik (Anugraini *et al.* 2018). Meskipun mengalami peningkatan, viskositas kitosan yang diperoleh dalam

Table 4 Viscosity and molecular weight of Chitosan

| Treatment | Viscosity (cP) | Molecular weight (kDa) |
|-----------|----------------|------------------------|
| A_1B_1 | 2.42 | 6.76×10^3 |
| A_1B_2 | 2.52 | 7.22×10^3 |
| A_2B_1 | 2.55 | 7.46×10^3 |
| A_2B_2 | 2.64 | 7.70×10^3 |

penelitian ini tergolong rendah. Standar mutu komersil dari Protan Laboratories Inc. (1987), viskositas kitosan >200 cP, dan berat molekul sebesar 120×10^3 kDa. Viskositas dan berat molekul yang rendah diduga disebabkan oleh proses demineralisasi yang lama dan tingginya suhu deasetilasi. Menurut Siregar *et al.* (2016) penurunan viskositas kitosan sejalan dengan penambahan waktu proses demineralisasi. Sularsih (2013) menyatakan bahwa tinggi rendahnya viskositas kitosan juga dipengaruhi pada proses pembuatannya baik perlakuan fisik meliputi penggilingan maupun pemanasan seperti suhu dan autoklaf. Proses deasetilasi yang menggunakan suhu tinggi dapat menyebabkan suatu polimer mengalami depolimerisasi dan selanjutnya akan menyebabkan pula terjadinya pemecahan rantai molekul polimer, sehingga menurunkan viskositas dan berat molekul (Bastaman 1989). Viskositas dan berat molekul yang tinggi atau rendah dapat digunakan tergantung pada aplikasinya. Menurut Siregar *et al.* (2016) kekentalan larutan dipengaruhi oleh viskositas yang terlalu tinggi.

Kelaurutan

Kelaurutan kitosan diuji dengan menambahkan air, metanol dan etanol ke dalam sampel yang telah ditimbang, kemudian diputar menggunakan batu stire dan dilakukan pengamatan dengan menghitung rendemen yang tersisa. Hasil analisis kelaurutan kitosan dapat dilihat pada *Table 5*.

Kelaurutan kitosan yang dihasilkan dalam penelitian ini berkisar antara 0,09%-0,18%. Kelaurutan kitosan yang terendah (0,09%) terdapat pada perlakuan suhu deasetilasi 100°C selama dua jam (A_1B_1) yang ditambahkan metanol, sedangkan yang tertinggi (0,18%)

terdapat pada perlakuan suhu deasetilasi 100°C selama dua jam (A_2B_2) yang ditambahkan air. Kelaurutan yang dihasilkan dalam penelitian ini tidak dapat mencapai 100%, karena sampel yang dianalisis merupakan kitosan. Sugita *et al.* (2009) melaporkan bahwa kitosan memiliki sifat tidak larut dalam air maupun beberapa pelarut organik, misalnya aseton, alkohol, dimetil sulfoksida, dimetil formida, alkali atau asam-asam mineral pada pH lebih besar dari 6,5, sedangkan larutan yang baik dalam melarutkan kitosan yaitu asam formiat, asam sitrat dan asam asetat 2%. Kitosan yang dihasilkan pada penelitian ini termasuk dalam kelaurutan yang agak sukar larut, dapat dilihat juga dari residu yang terdapat pada sampel. Apabila residu kurang dari 1% tergolong sangat mudah larut, 1-10% tergolong mudah larut, 10-30% tergolong agak sukar larut, dan 30-100% tergolong sukar larut 100-1000%.

KESIMPULAN

Kandungan kitosan tertinggi sebesar 5,62% terdapat pada proses deasetilasi menggunakan suhu 100°C selama dua jam. Proses deasetilasi menggunakan suhu 120°C selama tiga jam menghasilkan kitosan dengan derajat deasetilasi sebesar 50,39%, viskositas 2,64 cP dan berat molekul $7,70 \times 10^3$ kDa.

DAFTAR PUSTAKA

- Anugraini A, Syahbanu I, Melati HA. 2018. Pengaruh waktu sonikasi terhadap karakteristik selulosa asetat hasil sintesis dari sabut pinang. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 7(3):18-26.
- Azhar M, Efendi J, Syofyeni E, Lesi RM, Sri N. 2010. Pengaruh konsentrasi NaOH dan KOH terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang. *EKSAKTA*.1(10):1-8
- Bastaman S. 1989. *Studies on Degradation and Extraction of Chitin and Chitosan from Prawn Shells*. England [UK]: The Queen University.
- Damayanti W, Rochima E, Hasan Z. 2016. Aplikasi kitosan sebagai antibakteri pada filet patin selama penyimpanan suhu rendah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 19(3): 321-328.
- Dompepen EJ. 2017. Isolasi dan identifikasi

Table 5 Solubility of chitosan

| Treatment | Solubility (%) |
|--------------------|----------------|
| A_1B_1 + air | 0.18 |
| A_2B_2 + air | 0.16 |
| A_1B_1 + metanol | 0.09 |
| A_2B_2 + metanol | 0.16 |
| A_1B_1 + etanol | 0.14 |
| A_2B_2 + etanol | 0.11 |

- kitin dan kitosan dari kulit udang Windu (*Penaeus monodon*) dengan spektroskopi inframerah. *Majalah BIAM*. 13(1):31-41.
- Dirjen POM. 1979. *Farmakope Indonesia* edisi III. Jakarta (ID): Departemen kesehatan RI.
- Dwiyitno D, Basmal J, Mulyasari M. 2004. Pengaruh suhu esterifikasi terhadap karakteristik karboksimetil kitosan (Cmcts). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 10(3):67-74.
- Emmawati A, Jenie BSL, Fawzya YN. 2007. Kombinasi perendaman dalam natrium hidroksida dan aplikasl kitin deasetilase terhadap kitin kulit udang untuk menghasilkan kitosan dengan berat molekul rendah. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 3(1):12-18.
- Fadli A, Drastinawati, Alexander O, Huda F. 2015. Pengaruh rasio massa kitin/NaOH dan waktu reaksi terhadap karakteristik kitosan yang disintesis dari limbah industri udang kering. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. 18(2):61-67.
- Kaimudin M, Leounupun MF. 2016. Karakterisasi kitosan dari limbah udang dengan proses bleaching dan deasetilasi yang berbeda. *Majalah BIAM*. 12 (1):1-7.
- Kurniasih M, Kartika D. 2011. Sintesis dan karakterisasi fisika-kimia kitosan. *Jurnal Inovasi*. 5 (1):42-48.
- Lestari SD, Baehaki A, Meliza R. 2019. Aktivitas antibakteri kompleks kitosan-monosakarida terhadap patogen dalam surimi ikan gabus sebagai model matriks pangan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(1): 80-88.
- Ibrahim B, Suptijah P, Zahid A. 2012. Efektivitas kitosan mikrokristalin sebagai alternatif antibakteri alami dalam mouthwash. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 15(2): 119-126.
- Mastuti W. 2005. Pengaruh konsentrasinya NaOH dan suhu pada proses deasetilasi khitin dari kulit udang. *EKUILIBRIUM*. 4(1): 21- 25.
- Mima S, Miya M, Iwamoto R, Yoshikawa, S. 1983. Highly deacetylated chitosan and its properties. *Journal of Applied Polymer Science*. 28(6): 1909-1917.
- Mursida, Tasir, Sahriawati. 2018. Efektifitas larutan alkali pada proses deasetilasi dari berbagai bahan baku kitosan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(2): 356-366.
- No H K, Meyers SP, Lee, KS. 1989. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37(3):575-579.
- Protan Laboratories Inc. 1987. *Protan Biopolymers*. Norway [NO]: Protan Laboratoris, Inc.
- Purnawan C. 2008. Kitosan dari cangkang udang dan aplikasi kitosan sebagai bahan antibakteri pada kain katun. [Disertasi]. Yogyakarta (ID): Universitas Gadjah Mada.
- Ramadhan LOAN, Radiman CL, Wahyuningrum D, Suendo V, Ahmad LO, Valiyaveetil S. 2010. Deasetilasi kitin secara bertahap dan pengaruhnya terhadap derajat deasetilasi serta masa molekul kitosan. *Jurnal Kimia Indonesia*. 5(1):17-21.
- Ratnawulan A, Noor E, Suptijah P. 2018. Pemanfaatan kitosan dalam daur ulang air sebagai aplikasi teknik produksi bersih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(2): 276-286.
- Riyanto B, Maddu A, Dewi RS. 2011. Baterai cerdas dari elektrolit polimer kitosan-PVA dengan penambahan amonium nitrat. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16(2):70-77.
- Rokhati N. 2006. Pengaruh derajat deasetilasi khitosan dari kulit udang terhadap aplikasinya sebagai pengawet makanan. *Reaktor*. 10(2):54-58.
- Safitra ER, Budhijanto, Rochmadi. 2016. Optimasi dan pemodelan matematis deasetilasi kitin menjadi kitosan menggunakan KOH. *Jurnal Rekayasa Proses*. 9 (1):16-21.
- Shon J, Eo JH, Hwang SJ, Eun JB. 2011. Effect of processing conditions on functional properties of collagen powder from skate (Raja kenoei) skins. *Food Science and Biotechnology*. 20(1):99-106.
- Siregar EC, Suryati, Hakim L. 2016. Pengaruh suhu dan waktu reaksi pada pembuatan kitosan dari tulang sotong (*Sepia*

- officinalis*). *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 5(2):37-44.
- Sofia I, Murdiningsih H, Yanti N. 2016. Pembuatan dan kajian sifat-sifat fisikokimia, mekanikal, dan fungsional edible film dari kitosan udang windu. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. 5(2):54-60.
- Srijanto B. 2003. Kajian pengembangan teknologi proses produksi kitin dan kitosan secara kimiawi. *Prosiding Semnas Teknik Kimia Indonesia*. 1:11-15.
- Sugita DP, Sjahriza A, Wukirsari T, Wahyono D. 2009. Kitosan sumber biomaterial masa depan. Bogor (ID): IPB Press.
- Sularsih S. 2013. Pengaruh viskositas kitosan gel terhadap penggunaannya di proses penyembuhan luka. *Jurnal Material Kedokteran Gigi*. 2(1): 60-67.
- Suryaningrum TD, Basmal J, Aumeilia W. 2005. Pengaruh konsentrasi asam monokloro asetat dan jenis pelarut sebagai bahan pengendap terhadap produksi karboksimetil kitin. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 11(4):89-100.
- Svitil AL, Chadhain SMNR, Moore JA, Kirchman DL. 1997. Chitin degradation proteins produced by the marine bacterium *Vibrio harveyi* growing on different forms of chitin. *Appl. Environ. Microbiol.* 63(2):408-413.
- Swastawati F, Wijayanti I, Susanto E. 2008. Pemanfaatan limbah kulit udang menjadi edible coating untuk mengurangi pencemaran lingkungan. *Jurnal Teknologi Lingkungan Universitas Trisakti*. 4(4):101-106.
- Tetteh AY. 1991. Optimization studies on chitin extraction from crustacean solid waste. [Thesis]. Canada [CA]: Department of Food Science and Agricultural Chemistry. McGill University. Montreal.
- Tobing MTL, Prasetya NBA, Khabibi. 2011. Peningkatan derajat deasetilasi kitosan dari cangkang rajungan dengan variasi konsentrasi NaOH dan lama perendaman. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 14(3):83-88.
- Wahyuni S, Khaeruni A, Hartini. 2013. Kitosan cangkang udang windu sebagai pengawet fillet ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16(3): 233-241.
- Wang W, Bo S, Li S, Qin W. 1991. Determination of the Mark-Houwink equation for chitosans with different degrees of deacetylation. *International Journal of Biological Macromolecules*. 13(5):281-285.