

## OPTIMASI TAHAP DEMINERALISASI PADA EKSTRAKSI KITOSAN DARI CANGKANG KEPITING BAKAU (*Scylla sp.*)

Novi Luthfiyana<sup>1\*</sup>, Putri Wening Ratrinia<sup>2</sup>, Rukisah<sup>3</sup>, Asniar<sup>1</sup>, Taufik Hidayat<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Universitas Borneo Tarakan, Kalimantan Utara

<sup>2</sup>Program Studi Pengolahan Hasil Laut, Politeknik Kelautan dan Perikanan Dumai, Dumai, Indonesia

<sup>3</sup>Program Studi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Universitas Borneo Tarakan, Kalimantan Utara

<sup>4</sup>Pusat Riset Agroindustri, Badan Riset Inovasi Nasional, Gedung Laptiab Puspipetek Serpong

Diterima: 04 Juli 2022/Disetujui: 26 Agustus 2022

\*Korespondensi: [luthfiyananovi@gmail.com](mailto:luthfiyananovi@gmail.com)/[luthfiyananovi@borneo.ac.id](mailto:luthfiyananovi@borneo.ac.id)

**Cara sitasi (APA Style 7<sup>th</sup>):** Luthfiyana, N., Ratrinia, P. W., Rukisah, Asniar, & Hidayat, T. (2022). Optimasi Tahap Demineralisasi pada Ekstraksi Kitosan dari Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla sp.*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(2), 352-363. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v25i2.41853>

### Abstrak

Limbah cangkang kepiting bakau yang dihasilkan dari industri pengolahan kepiting bakau di Kota Tarakan menjadi salah satu penyebab masalah pencemaran lingkungan. Salah satu cara untuk dapat mengurangi risiko pencemaran yaitu dengan mengolah limbah cangkang kepiting bakau menjadi kitosan. Penelitian terkait modifikasi pada tahap demineralisasi dilakukan karena kepiting bakau mengandung mineral yang tinggi sehingga akan mengurangi kualitas kitosan yang dihasilkan. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan optimasi tahapan demineralisasi pada ekstraksi kitosan dari cangkang kepiting bakau (*Scylla sp.*) melalui analisis rendemen, kadar air, abu, nitrogen total, FTIR, derajat deasetilasi, dan SEM-EDX. Perlakuan pada penelitian ini yaitu pada tahapan demineralisasi dilakukan perlakuan perbandingan berbeda antara serbuk cangkang kepiting bakau dan HCl 1N yaitu a (1:10) dan b (1:15). Hasil penelitian ini diketahui mutu kitosan cangkang kepiting bakau memiliki nilai rendemen, kadar air, kadar abu, dan nitrogen total sebesar (15,08±0,04%, 1,65±0,00%, 2,87±0,07%, 1,35±0,00%) pada perbandingan 1:10 dan (6,37±0,04%, 1,66±0,01%, 1,75±0,00%, 1,29±0,004%) pada perbandingan 1:15. Derajat deasetilasi pada kitosan a (47%) tidak sesuai dengan ketiga standar karena di bawah 70%, sedangkan kitosan b (76%) sesuai dengan standar Protan Laboratory dan SNI (≥70%). Unsur-unsur kitosan cangkang kepiting bakau yang terdeteksi dari analisis SEM EDX terdiri dari C, O, Ca, Mg, Al. Unsur C dan O yang terdeteksi adalah komponen pembentuk kitosan. Karakteristik mutu kitosan terbaik dihasilkan pada tahap demineralisasi dengan perlakuan perbandingan sampel dan HCl 1N b(1:15) karena terbukti sesuai dengan standar mutu kitosan.

Kata kunci: derajat deasetilasi, kitosan, limbah, SEM

## Optimization of Demineralization Stage in Chitosan Extraction from Mangrove Crab Shell (*Scylla sp.*)

### Abstract

Mangrove crab shell waste generated from the mangrove crab processing industry in Tarakan City is one of the causes of environmental pollution problems. One way to reduce the risk of pollution is to process mangrove crab shell waste into chitosan. Modifications at the demineralization stage were carried out because mangrove crabs contain high minerals, reducing the quality of the chitosan produced. This study aimed to optimize the demineralization step in the extraction of chitosan from mud crab shells (*Scylla sp.*) through analysis of yield, moisture content, ash, total nitrogen, FTIR, degree of deacetylation, and SEM-EDX. The treatment in this study was at the demineralization stage, and different comparisons were made between mud crab shell powder and 1N HCl, namely a (1: 10) and b (1:15). The results of this study showed that the quality of chitosan from mud crab shells had yield values, water content, ash content, and total nitrogen (15.08±0.04%, 1.65±0.00%, 2.87±0.07%, 1.35±0.00%) at a ratio of 1:10 and (6.37±0, 04%,

1.66±0.01%, 1.75±0.00%, 1.29±0.004%) at a ratio of 1:15. The degree of deacetylation of chitosan a (47%) did not match the three standards because it was below 70%, while chitosan b (76%) was following the Protan Laboratory standard and SNI ( $\geq 70\%$ ). The elements of mangrove crab shell chitosan detected from SEM EDX analysis consisted of C, O, Ca, Mg, and Al. The detected elements of C and O are components that form chitosan. The best quality characteristics of chitosan were produced at the demineralization stage with a comparison of the sample and 1N HCl b (1:15) treatment because it was proven to be in accordance with chitosan quality standards.

Keywords: chitosan, degree of deacetylation, SEM, waste

## PENDAHULUAN

Kepiting bakau (*Scylla* sp.) banyak digemari masyarakat karena rasa dagingnya yang lezat dan memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yakni sebesar 47,31% dan kandungan lemak sebesar 11,20% (Karim *et al.*, 2015). Data ekspor kepiting bakau pada tahun 2020 mengalami peningkatan sebesar 208.648 kg dengan frekuensi pengiriman sebanyak 92 kali, sehingga menjadi salah satu perintis ekonomi makro dan komoditas ekspor non migas andalan kota Tarakan (Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan [BKIPM], 2020). Tingginya konsumsi kepiting bakau di masyarakat dapat mengakibatkan peningkatan limbah cangkang 40-60% dari total berat kepiting (Azizi *et al.*, 2020). Limbah cangkang kepiting bakau yang menumpuk dan tidak ditangani dengan baik akan menimbulkan berbagai masalah lingkungan, sehingga dapat menimbulkan bau tidak sedap, sumber pembawa berbagai penyakit, mengganggu aktivitas manusia dan merusak lingkungan secara estetika (Fajri *et al.*, 2019). Salah satu cara tepat guna dalam menangani tumpukan limbah cangkang kepiting bakau adalah dengan mengolah kandungan kitin menjadi kitosan.

Kitosan adalah polisakarida yang diperoleh dari hasil deasetilasi kitin. Cangkang kepiting bakau mengandung senyawa kitin cukup tinggi sebesar 70% dari jenis krustasea lainnya yang hanya berkisar 20-30% dari berat kulit keringnya (Kusuma, 2016). Sifat bioaktif kitosan dapat diaplikasikan dalam bidang perikanan, pertanian, lingkungan industri, kecantikan, farmasi, kesehatan, dan pangan (Suherman *et al.*, 2018). Sifat bakteriostatik kitosan juga mampu menghambat bakteri patogen dan mikroorganisme pembusuk

misalnya jamur, bakteri gram positif, dan negatif (Magani *et al.*, 2020). Pembuatan kitosan diperoleh melalui tiga tahap yaitu deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi. Proses deproteinasi dilakukan dengan melarutkan cangkang kepiting ke dalam larutan NaOH dan demineralisasi dengan cara penghilangan mineral menggunakan HCl, sehingga terbentuklah kitin. Ekstraksi kitin yang dihasilkan kemudian dilanjutkan ke tahap deasetilasi sehingga diperoleh kitosan. Proses penghilangan gugus asetil pada kitin menjadi kitosan dapat dilakukan dengan larutan basa pekat (Yoshida *et al.*, 2009). Melihat banyaknya manfaat dari kitosan, maka perlu dihasilkan kitosan yang berkualitas.

Berbagai metode dan bahan baku dalam usaha pembuatan kitosan berkualitas sudah banyak dilakukan. Mashuni *et al.* (2021), melaporkan sebelum memasuki proses demineralisasi cangkang kepiting bakau terlebih dahulu dimasukkan pada *microwave* selama 15 menit dengan daya 100 W dan menghasilkan derajat deasetilasi 83,8% dan rendemen sebanyak 37,5%. Proses demineralisasi cangkang kepiting dengan HCl 1N 1:15 (b/v) selama 1 jam menghasilkan derajat deasetilasi 72,47% dan rendemen 38,14% (Yanti *et al.*, 2018). Selain itu, Kusmiati & Hayati (2020), melaporkan proses demineralisasi cangkang udang dengan HCl 5% 1:10 (b/v) menghasilkan derajat deasetilasi 80,30% dan rendemen 30,29%.

Penelitian ini ingin mendapatkan kitosan dari limbah cangkang kepiting bakau (*Scylla* sp.) dengan memberikan perlakuan perbandingan HCl yang berbeda pada tahap demineralisasi. Modifikasi pada tahap demineralisasi dilakukan karena kepiting bakau mengandung mineral yang sangat tinggi sehingga akan memengaruhi mutu

kitosan apabila metode demineralisasinya kurang tepat. Nuarisma (2014) melaporkan cangkang kepiting mengandung mineral cukup tinggi. Kandungan kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) mencapai 53,70-78,40% dan kadar kalsium sebesar 82,54%. Berdasarkan Badan Standardisasi Nasional (BSN) 2013, syarat mutu kadar abu kitosan sebesar  $\leq 5\%$ . Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan optimasi tahapan demineralisasi pada ekstraksi kitosan dari cangkang kepiting bakau melalui analisis rendemen, kadar air, abu, nitrogen total, FTIR, derajat deasetilasi, dan SEM-EDX.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari cangkang kepiting bakau, HCl (Merck), NaOH (Merck), akuades (Water one). Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari lempeng hangat (*hot plate*) & pengaduk magnet (IKA C-MAG HS 4), oven (Memmerh), timbangan analitik (AND GF-100), desikator (DURAN Valumfest), blender (Panasonic MX-E310WSR), *scanning electron microscopy energy dispersive X-ray spectroscopy* (QUANTA 650), *fourier transform infraRed* (Shimadzu, IR Spirit-T). Alat-alat gelas yang terdiri dari gelas ukur, gelas piala (*beaker*), labu ukur, labu Erlenmayer, corong, batang pengaduk (Pyrex).

### Metode Penelitian

#### Preparasi sampel

Preparasi sampel mengacu pada Mustafiah *et al.* (2018) yang dimodifikasi pada bahan baku dan konsentrasi NaOH. Sampel cangkang kepiting bakau diperoleh dari budi daya kepiting soka di Kota Tarakan. Sampel dicuci sambil disikat pada air mengalir hingga bersih. Setelah sampel bersih dilanjutkan dengan proses pengeringan menggunakan oven pada suhu  $80^\circ\text{C}$  selama 120 menit hingga kadar air 10%. Sampel yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang beratnya.

## Pembuatan kitosan

### Isolasi kitin

Kitin diperoleh melalui dua tahap yaitu deproteinasi dan demineralisasi mengacu pada metode Yanti *et al.* (2018). Serbuk cangkang kepiting bakau sebanyak 200 g ditimbang terlebih dahulu pada tahap deproteinasi. Pelarut yang digunakan untuk deproteinasi adalah NaOH 3N dengan perbandingan (1:10 gr/mL) pada suhu  $80^\circ\text{C}$  selama 60 menit. Sebelum masuk pada tahap demineralisasi sampel yang sudah disaring dinetralisasi dengan akuades hingga pH menunjukkan angka 7 dan dioven pada suhu  $80^\circ\text{C}$  selama 2 jam. Tahap selanjutnya yaitu demineralisasi, sampel direndam menggunakan larutan HCl 1N, dengan perbandingan yang berbeda yaitu 1:10 dan 1:15 selama 60 menit pada suhu ruang. Sampel kemudian disaring dan dinetralisasi hingga pH netral. Sampel kemudian dioven pada suhu  $80^\circ\text{C}$  selama 1 jam dan diperoleh serbuk kitin.

### Ekstraksi kitosan

Kitin diubah menjadi kitosan melalui tahap deasetilasi. Pembuatan kitosan mengacu pada Mashuni *et al.* (2021) yang dimodifikasi tanpa penggunaan *microwave*. Proses deasetilasi dilakukan dengan merendam kitin menggunakan pelarut NaOH 60% dengan perbandingan 1:10 pada suhu  $140^\circ\text{C}$  selama 60 menit. Sampel kemudian disaring untuk kembali dinetralisasi menggunakan akuades dan pH mencapai 7. Sampel dikeringkan menggunakan oven pada suhu  $80^\circ\text{C}$  selama 1 jam sehingga dihasilkan kitosan.

### Analisis sampel

Sampel kitosan yang dihasilkan dihitung rendemennya berdasarkan Purwanti & Yusuf (2014), sedangkan analisis kadar air, kadar abu dan nitrogen total mengacu pada Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 2005.

### Fourier transform infraRed (FTIR)

Pengujian FTIR mengacu pada Pradana *et al.* (2018). Sebanyak 0,002 g kitosan dimasukkan dalam wadah dan diletakkan

ke tempat sampel pada FTIR untuk dibaca hasilnya. Kromotogram yang telah diketahui akan dibandingkan melalui tabek IR dengan panjang gelombang 4.000-400  $\text{cm}^{-1}$ .

### Deasetilasi (DD)

Derajat deasetil (DD%) ditentukan menggunakan metode Bahri & Abd Rahim (2015). Puncak tertinggi ( $P_0$ ) dan puncak terendah (P) dicatat dan diukur dengan garis dasar yang dipilih. Nisbah absorbansi dihitung dengan rumus:

$$P = \frac{\text{Log}P_0}{P}$$

Keterangan:

$P_0$ =Jarak antara garis dasar dengan garis singgung antara dua puncak tertinggi dengan panjang gelombang 1.655/cm atau 3.450/cm.

P=Jarak antara garis dasar dengan lembah terendah dengan panjang gelombang 1.655/cm atau 3.450/cm.

### Scanning electron microscope energy dispersive X-ray (SEM-EDX)

Analisis menggunakan SEM-EDX mengacu pada Girão *et al.* (2017). Prinsip kerja SEM-EDX adalah mengetahui informasi morfologi, topografi, serta komposisi pada sampel yang dianalisis. Carbon tex dipotong berbentuk segi 4 ukuran  $\pm 0,5$  cm kemudian ditempelkan pada sampel. Sampel yang sudah diletakkan pada kertas carbon tex akan di-*stubb* dan di-*blower*. Penggunaan *blower* berfungsi agar sampel tertempel dengan sempurna pada

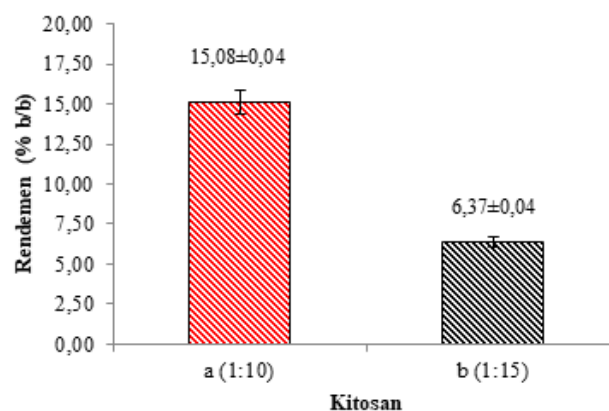
*stubb*. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam *chamber*. Sampel bersifat non konduktor sehingga dilakukan dengan *low vacuum*. Sampel kemudian dianalisis dengan melihat layar monitor yang bisa dilihat dengan perbesaran tertentu. Tingkat perbesaran disesuaikan dengan hasil analisis yang diperoleh.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Rendemen

Rendemen kitosan ditentukan berdasarkan perhitungan perbandingan berat dari kitosan dengan berat sampel cangkang kepiting. Hasil perhitungan rendemen kitosan disajikan pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan rendemen kitosan cangkang kepiting bakau dengan perbandingan sampel dan HCl b (1:15) lebih rendah daripada a (1:10). Rendahnya kandungan rendemen menunjukkan bahwa proses deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi berjalan optimal. Mursida *et al.* (2018), melaporkan bahwa rendemen kitosan yang lebih rendah akan menghasilkan kualitas yang lebih baik, karena diduga proses demineralisasi, deproteinasi dan deasetilasi mampu melarutkan atau menghilangkan mineral, protein, dan gugus asetil. Hasil rendemen yang berbeda dari masing-masing perlakuan dipengaruhi oleh kandungan utama bahan baku. Darmawan *et al.* (2007), melaporkan tingginya kadar protein (15,06-23,90%), kitin (18,70-32,20%) dan  $\text{CaCO}_3$  sebesar 53,70-78,40%, mengakibatkan



Gambar 1 Hasil rendemen kitosan dari cangkang kepiting bakau dengan perbandingan HCl a (1:10) dan b (1:15) pada tahap demineralisasi.

rendemen kitosan rendah, karena merupakan bagian yang hilang disamping pigmen dalam proses ekstraksi kitosan.

Jumlah rendemen yang dihasilkan pada kitosan dipengaruhi beberapa faktor antara lain konsentrasi, jenis pelarut, suhu, dan bahan baku yang digunakan. Azhar *et al.* (2010) melaporkan konsentrasi alkali dan suhu yang terlalu tinggi dapat menurunkan rendemen kitosan serta menyebabkan depolimerisasi dan degradasi polimer. Cahyono (2018), menyatakan persentase rendemen kitosan disebabkan oleh ukuran partikel, reagen yang digunakan, suhu, serta jenis bahan baku yang digunakan. Penggunaan bahan baku dengan spesies yang berbeda akan memberikan hasil perhitungan rendemen yang berbeda. Pernyataan ini diperkuat Ma'mun *et al.* (2016) yang melaporkan rendemen cangkang kepiting lebih sedikit apabila dibandingkan kulit udang karena kandungan mineral yang dimiliki cangkang kepiting 53,70-78,40% lebih besar dibandingkan dengan kandungan mineral kulit udang 45-50%.

### Mutu Kitosan

Mutu kitosan cangkang kepiting bakau dianalisis mutunya berdasarkan kadar air, abu, nitrogen total, dan derajat deasetilasi. Hasil analisis kadar air, abu dan nitrogen total kitosan dari cangkang kepiting bakau pada perlakuan HCl a (1:10) dan b (1:15) pada tahap demineralisasi disajikan pada Tabel 1.

### Kadar Air

Salah satu parameter yang menentukan kualitas produk kitosan adalah kadar air. Kadar air yang tinggi tidak dikehendaki dalam pemanfaatan kitosan di berbagai industri. Menurut Agustina *et al.* (2015), tingginya

kadar air pada produk kitosan berpengaruh terhadap kualitas kitosan khususnya terhadap kontaminasi mikroorganisme. Beberapa hal yang memengaruhi kandungan air pada kitosan, yaitu waktu pengeringan, berat sampel yang dikeringkan, serta luas permukaan media pengeringan.

Berdasarkan data pengujian kadar air, perbedaan jumlah larutan HCl yang ditambahkan tidak memengaruhi kandungan air pada sampel. Kadar air pada sampel a (1:10) 1,65% sedangkan kadar air sampel b (1:15) yaitu 1,66% (Tabel 1). Hasil penelitian Josua *et al.* (2017) menyebutkan bahwa demineralisasi dapat memisahkan air dari kitin tetapi dalam jumlah yang tidak konstan. Penelitian tersebut diperoleh bahwa perbedaan penambahan konsentrasi asam klorida tidak memberikan pengaruh terhadap kadar air kitosan. Selain itu, kandungan air pada produk kitosan menurut Rochmawati *et al.* (2018) dipengaruhi oleh kondisi eksternal misalnya kelembapan udara di tempat penyimpanan. Hal tersebut karena karakteristik dari kitosan yaitu mudah mengabsorpsi uap air dari lingkungan sekitarnya. Standar kadar air berdasarkan Protan Laboratory (1987), adalah kurang dari 10%. Berdasarkan hal tersebut, sampel kitosan pada penelitian ini memiliki kadar air yang sudah sesuai standar yaitu  $\leq 10\%$ .

### Kadar Abu

Kadar abu pada produk kitosan menentukan tingkat kemurnian kitosan yang dihasilkan. Menurut Dompeipen *et al.* (2016), hasil pengujian kadar abu pada kitosan menunjukkan adanya senyawa anorganik yang terkandung pada sampel bahan baku yang digunakan. Kadar abu merupakan

Tabel 1 Analisis kadar air, abu dan nitrogen total kitosan dari cangkang kepiting bakau

Parameter (%)	Hasil penelitian		Standar Mutu Kitosan		
	a (1:10)	b(1:15)	SNI No.7949 (2013)	Protan Laboratory (1987)	*EFSA (2010)
Kadar Air	1,65±0.00	1,66±0.01	≤12	≤10	≤10
Kadar Abu	2,87±0,07	1,75±0,00	≤5	≤2	≤3
Nitrogen Total	1,35±0,00	1,29±0,00	≤5	-	≤6

\*European Food Safety Authority

parameter keberhasilan proses demineralisasi pada isolasi kitin dari kulit cangkang yang digunakan sebagai bahan baku. Mursida *et al.* (2018), menyatakan demineralisasi adalah proses melarutkan  $\text{CaCO}_3$  yang jumlahnya tinggi dan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  yang rendah dalam cangkang kepiting.

Data hasil penentuan kadar abu menunjukkan bahwa sampel b (1:15) memiliki kadar abu yang lebih rendah yaitu 1,75% dibandingkan dengan sampel b (1:10) 2,87% (Tabel 1). Kadar abu pada sampel b (1:15) telah sesuai dengan standar Protan Laboratory ( $\leq 2\%$ ) dan SNI No.7949 tahun 2013 ( $\leq 5\%$ ) dan European Food Safety Authority (EFSA) 2010 ( $\leq 3\%$ ) namun sampel a (1:10) belum memenuhi standar Protan Laboratory ( $\leq 2\%$ ). Semakin tinggi jumlah larutan HCl yang ditambahkan maka dapat menghilangkan mineral (senyawa anorganik) semakin banyak. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Dompeipen *et al.* (2016) yang menyebutkan bahwa kadar abu merupakan parameter kualitas dari produk kitosan, karena semakin tinggi kadar abu, maka tingkat kemurnian kitosan semakin rendah, dan sebaliknya. Selain itu menurut Afriani *et al.* (2017), penurunan kadar abu dapat disebabkan juga karena adanya peningkatan reaktivitas asam klorida yang mereduksi senyawa anorganik pada sampel bahan baku.

### Total Nitrogen

Kadar nitrogen merupakan salah satu parameter yang dapat memengaruhi sifat dan karakteristik dari produk kitosan. Penentuan kadar nitrogen pada penelitian ini menggunakan metode kjedahl. Kitosan terlebih dahulu dilakukan destruksi menggunakan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sehingga membentuk amonium sulfat. Sudioanto *et al.* (2020) menyatakan bahwa karakteristik dari kitosan dalam berinteraksi dengan  $\text{NH}_2$  ditentukan dari kandungan nitrogennya, hal tersebut menjadikan kitosan memiliki reaktivitas yang baik dan dapat mengikat air serta larut dalam asam asetat.

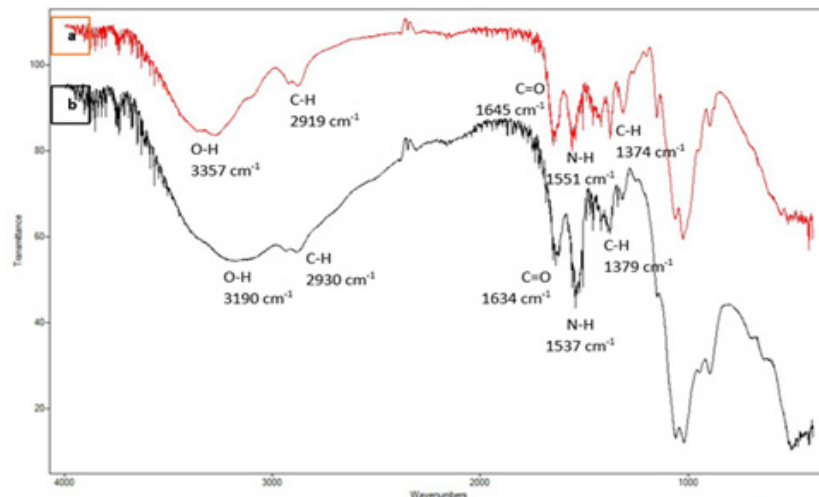
Kadar total nitrogen yang dihasilkan pada penelitian ini adalah 1,29% pada sampel b dan 1,35% sampel a (Tabel 1). Kadar nitrogen pada penelitian ini sudah

memenuhi standar EFSA yaitu  $\leq 6\%$  (EFSA, 2010) dan SNI No 7949 tahun 2013 ( $\geq 75\%$ ). Hasil penelitian Natalia *et al.* (2021) juga menyebutkan bahwa kadar nitrogen pada kitosan sesuai dengan standar EFSA apabila  $\leq 6\%$ . Hasil penelitian Modaso *et al.* (2013) menyebutkan bahwa unsur N pada masing-masing monomer kitosan dinyatakan sebagai gugus aktif karena unsur tersebut dihubungkan dengan kadar nitrogen yang tinggi pada rantai polimernya.

### Fourier Transform InfraRed (FTIR)

Kitosan cangkang kepiting bakau dikarakterisasi menggunakan FTIR untuk mendeteksi serapan gelombang dan gugus fungsi yang dihasilkan sehingga DD dapat diketahui. Spektra FTIR kitosan cangkang kepiting bakau dengan perbandingan HCl yang berbeda a (1:10) dan b (1:15) pada tahap demineralisasi disajikan pada Gambar 2.

Gambar 2 diinterpretasikan hasilnya dan dibandingkan dengan spektra IR dari kitosan standar yang dihasilkan Balai Riset dan Standardisasi Industri yang disajikan pada Tabel 2 yang menunjukkan perbandingan puncak spektrum antara kitosan standar dan kitosan hasil penelitian. Pita serapan setiap gugus pada kitosan standar dan kitosan hasil penelitian menunjukkan *range* serapan yang dekat, sehingga tidak terlihat perbedaan yang signifikan. Gugus fungsi yang terkonfirmasi dengan serapan FTIR menunjukkan bahwa kitosan berhasil disintesis dari proses deproteinasi, demineralisasi baik dengan perbandingan (kitosan dan HCl) a(1:10) maupun b(1:15), serta deasetilasi. Wulandari *et al.* (2020) menyatakan bahwa ciri khas karakteristik kitosan adalah pada gugus amida dan gugus hidroksil. Letak serapan khas gugus amida pada bilangan gelombang  $1655-1310\text{cm}^{-1}$  sedangkan gugus hidroksil terletak pada bilangan gelombang  $3350-3300\text{cm}^{-1}$ . Shalini & Sampathkumar (2012), mengemukakan prinsip kerja FTIR yaitu mengidentifikasi gugus fungsi senyawa absorbansi inframerah, sehingga beberapa senyawa bisa dibedakan dan dikualifikasikan. melaporkan FTIR merupakan analisis yang paling baik untuk mengidentifikasi jenis ikatan kimia.



Gambar 2 Spektra FTIR kitosan cangkang kepiting bakau dengan perbandingan sampel : HCl a (1:10) dan b (1:15)

Tabel 2 Puncak Serapan FTIR kitosan

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )		
	Kitosan		
	Standar*	a (1:10)	b (1:15)
OH <i>stretching</i>	3.342,60	3.357	3.190
CH ( $\text{CH}_3$ ) <i>bending</i>	2.922,80	2.919	2.930
C=O ( $-\text{NHCOCH}_3$ ) <i>stretching</i> amida I	1.660,55	1.645	1.634
NH( $-\text{NHCOCH}_3$ ) <i>bending</i> amida II	1.587,94	1.551	1.537
CH ( $-\text{CH}_2$ ) <i>bending sym</i>	1.377,11	1.374	1.379

\*Sumber: Data Balai Riset dan Standarisasi Industri.

### Derajat Deasetilasi (DD)

Mutu kitosan ditentukan dari besarnya persentase derajat deasetilasi. Proses deasetilasi melibatkan pelepasan gugus asetil ( $-\text{COOH}_3$ ) dari rantai molekul kitin dan menyisakan gugus amina ( $-\text{NH}_2$ ) yang memiliki reaktivitas tinggi. Mashuni *et al.* (2021), melaporkan bahwa derajat deasetilasi merupakan parameter penting dalam memproduksi kitosan karena dapat memengaruhi sifat fisiknya sehingga kitosan sebagai peroduk akhir dapat diaplikasi dengan tepat. Semakin tinggi derajat deasetilasi maka semakin banyak gugus asetil yang hilang.

Persentase derajat deasetilasi kitosan dari cangkang kepiting bakau pada penelitian ini ditentukan berdasarkan metode *base line*.

Derajat deasetilasi kitosan dari cangkang kepiting bakau dengan perbandingan sampel : HCl a (1:10) dan b (1:15) disajikan pada Tabel 3.

Derajat deasetilasi sampel a (47%) tidak memenuhi ketiga standar karena diduga proses demineralisasi kurang optimal. Sampel b (76%) memenuhi standar Protan Laboratory dan SNI sehingga dikonfirmasi sebagai kitosan (Tabel 3). Perbedaan nilai DD penelitian ini juga dipengaruhi oleh perlakuan demineralisasi dengan perbandingan HCl yang berbeda, sehingga menghasilkan kualitas kitin dari serbuk cangkang kepiting bakau yang berbeda pula. Trisnawati *et al.* (2013), melaporkan jika derajat deasetilasi  $<70\%$  maka polimer dikatakan kitin dan

Tabel 3 Derajat deasetilasi (DD) kitosan dari cangkang kepiting bakau

Hasil Penelitian	Protan Laboratory (1987)	SNI :7949 (2013)	EFSA (2010)
a (1:10)	47%	(≥70%)	(≥75%)
b (1:15)	76%		(≥90%)

apabila derajat deasetilasi >70% maka polimer tersebut disebut kitosan. Purwanti & Yusuf (2014), menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi HCl pada tahap demineralisasi yang digunakan mengakibatkan semakin tinggi derajat deasetilasi dan kelarutan kitosan.

Semakin tinggi DD kitosan yang dihasilkan maka mutu kitosan semakin baik. Handayani *et al.* (2018) melaporkan semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan maka semakin baik mutu dan efektivitas yang dihasilkan. Zahiruddin *et al.* (2008) menyatakan DD menunjukkan persentase gugus asetil yang dapat dihilangkan dari kitin sehingga dihasilkan kitosan. Gugus asetil yang rendah pada kitosan akan menghasilkan DD yang tinggi. Semakin berkurangnya gugus asetil pada kitosan maka interaksi antar ion dan ikatan hidrogen dari kitosan akan semakin kuat.

Perbandingan sampel dengan HCl yang digunakan berpengaruh terhadap DD% kitosan yang dihasilkan. Jumlah volume HCl yang lebih tinggi memiliki derajat deasetilasi lebih tinggi. Mursida *et al.* (2018) melaporkan kualitas kitosan dapat dilihat dari kadar air dan kadar abu yang rendah, tetapi memiliki derajat deasetilasi yang tinggi. Derajat deasetilasi semakin tinggi maka semakin banyak gugus amino ( $\text{NH}_2$ ) pada molekul kitosan sehingga kitosan semakin reaktif. Mursida *et al.* (2018) menyatakan bahwa kualitas kitosan ditentukan berdasarkan derajat deasetilasinya sehingga dapat dibagi menjadi empat kriteria yang lebih kecil dari 80%, antara 80-85%, antara 85-90% dan di atas 90%.

### **Scanning Electron Microscope-Ray Dispersive X-Ray (SEM-EDX)**

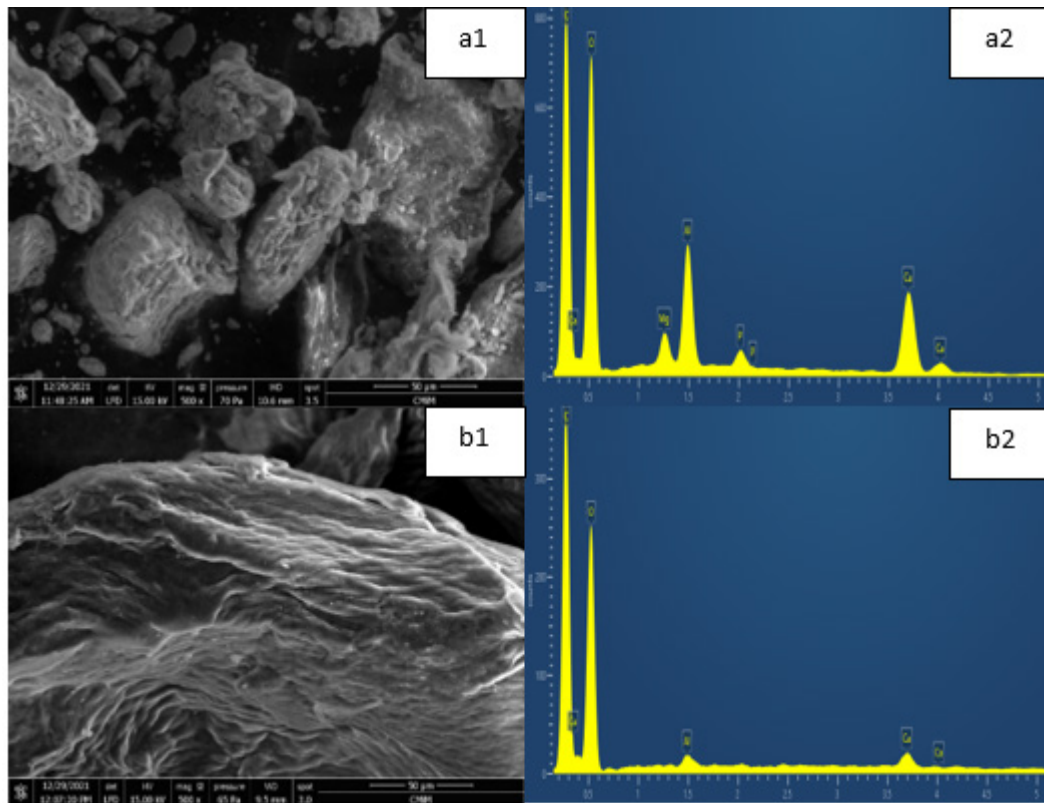
Analisis SEM-EDX digunakan untuk analisis spektra radiasi sinar-X untuk mengetahui permukaan material atau morfologi dengan perbesaran yang tinggi. Sedangkan EDX berfungsi untuk menganalisis

komposisi unsur yang terkandung pada sampel (Kustomo, 2020). Kitosan dari cangkang kepiting bakau dengan perbandingan sampel : HCl a (1:10) dan b (1:15) dianalisis morfologi serta unsur-unsur penyusunnya melalui analisis SEM-EDX yang disajikan pada Gambar 3.

Gambar 3 (a1) dan (b1) menunjukkan morfologi kitosan cangkang kepiting bakau dengan perbandingan sampel dan HCl (1:10) dan (1:15) dengan perbesaran 500x menggunakan SEM-EDX memperlihatkan morfologi kitosan berbentuk tidak teratur, bergelombang dan berpori, namun permukaan kitosan sampel b1 lebih halus bila dibandingkan b2. Hasil penelitian ini sesuai dengan Mursal (2018) yang menunjukkan citra kitosan dari limbah tulang rawan cumi-cumi memiliki bentuk tidak seragam, bergelombang dan berpori. Hasil penelitian ini sedikit berbeda bila dibandingkan dengan Kumar *et al.* (2008) yang menggunakan kitosan komersial memperlihatkan bentuk membran halus, tidak berpori. Chairunnisa & Wardhana (2015) mengemukakan bentuk kitosan yang tidak teratur (amorf) memiliki bioavailabilitas lebih bagus, mudah diabsorpsi dan efektif diaplikasikan dalam bidang farmasi.

Unsur-unsur kitosan cangkang kepiting bakau terdiri dari C, O, Ca, Mg, Al dan P (Gambar 3. a1) dan C, O, Ca dan Al (Gambar 3. a2). Hasil ini menunjukkan bahwa masih terdapat mineral yang cukup tinggi pada kitosan dengan terkonfirmasi unsur Ca, Mg, Al dan P. Optimasi HCl pada proses demineralisasi masih kurang optimal karena terdeteksinya unsur tersebut mengindikasikan adanya pengotor dan kitosan belum murni. Unsur C dan O yang terdeteksi mengkonfirmasi bahwa unsur yang ditemukan adalah komponen pembentuk kitosan, sedangkan H dan N tidak ditemukan dimungkinkan SEM-EDX yang digunakan adalah bentuk *one point* sehingga tidak semua





Gambar 3 *Scanning Electron Microscope-Energy Dispersive X-Ray* (SEM-EDX); (a1) morfologi dan (a2) unsur-unsur kitosan cangkang kepiting bakau dengan perbandingan sampel dan HCl a (1:10); (b1) morfologi dan (b2) unsur-unsur kitosan cangkang kepiting bakau dengan perbandingan sampel dan HCl a (1:15)

unsur pada sampel terdeteksi. Selain itu, persentasenya yang kecil dalam kandungan penyusun kitosan. Rumengan *et al.* (2018), melaporkan kitosan tersusun atas 47% C, 6% H, 7% N dan 40% O. Hasil penelitian ini sejalan dengan Ngatijo *et al.* (2020), melaporkan hasil SEM-EDX kitosan cangkang kepiting laut mengonfirmasi adanya unsur C dan O sebagai unsur penyusun kitosan. Kusuma, (2016), menyatakan bahwa oksigen, nitrogen, hidrogen dan karbon merupakan unsur pembentuk kitosan.

## KESIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini adalah optimasi terbaik pada tahapan demineralisasi ekstrak kitosan cangkang kepiting bakau adalah perbandingan sampel kitosan dan HCl b (1:15) karena kadar air, abu, nitrogen total, dan derajat deasetilasi telah memenuhi standar mutu kitosan. Unsur-unsur kitosan cangkang kepiting bakau yang terdeteksi dari

analisis SEM EDX mengonfirmasi bahwa unsur yang ditemukan adalah komponen pembentuk kitosan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada DIPA Universitas Borneo Tarakan selaku penyandang dana berdasarkan kontrak penelitian Riset Kompetensi Dosen (RKD) Tahun Anggaran 2022 sesuai dengan Nomor : 149/UN51.9/KONTRAK-RKD/2022.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, Y., Fadli, A., & Drastinawati. (2017). Kinetika reaksi demineralisasi pada isolasi kitin dari limbah cangkang udang industri ebi. *Jom FTEKNIK*, 4(1), 1–4.
- Agustina, S., Swantara, I., & Suartha, I. (2015). Isolasi kitin, karakterisasi, dan sintesis kitosan dari kulit udang. *Jurnal Kimia*, 9(2), 271–278.
- Association of Official Analytical Chemist.

- (2005). Official Methods of of the association of official analytical of chemist.
- Azhar, M., Efendi, J., Syofyeni, E., Lesi, R. M., & Novalina S. (2010). Pengaruh konsentrasi NaOH dan KOH terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang. *Eksakta: Jurnal Ilmu Ilmu IPA*, 1(11), 1–8. <http://eprints.uanl.mx/5481/1/1020149995.PDF>
- Azizi, A., Fairus, S., & Mihardja, J.E. (2020). Pemanfaatan limbah cangkang rajungan sebagai bahan kitin dan kitosan di purchasing crap unit eretan “Atul Gemilang”, Indramayu. *Jurnal SOLMA*, 9(2), 411–419. <https://doi.org/10.22236/solma.v9i2.4902>
- Bahri, S., & Abd Rahim, E. (2015). Derajat deasetilasi kitosan dari cangkang kerang darah dengan penambahan naoh secara bertahap [Chitosan Deacetylation Degree from *Anadara granosa* by Gradually Adding NaOH]. *Kovalen*, 1(1), 36–42.
- BKIPM Tarakan. (2020). TROBOS Aqua EDISI 107 l Tahun IX l 15 April - 14 Mei 2021 Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu Dan Keamanan Hasil Perikanan Kementerian Kelautan dan Perikanan. <https://kkp.go.id/bkipm/artikel/24340-ekspor-kepiting-bakau-kaltara-catat-tren-peningkatan>.
- Badan Standardisasi Nasional. (2013). Kitosan – Syarat Mutu dan Pengolahan. SNI No. 7949. 2013.
- Cahyono, E. (2018). Karakteristik kitosan dari limbah cangkang udang windu (*Panaeus monodon*). *Akuatika Indonesia*, 3(2), 96. <https://doi.org/10.24198/jaki.v3i2.23395>
- Chairunnisa, P. S., & Wardhana, Y. W. (2015). Karakterisasi kristal bahan padat aktif farmasi: review characterization of solid state api crystals. *Farmaka*, 14(1), 17–32.
- Darmawan, E., S. Mulyaningsih, & F. Firdaus. (2007). Karakteristik khitosan yang dihasilkan dari limbah kulit udang dan daya hambatnya terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. *LOGIKA*, 4(2), 207–213.
- Dompeipen, E. J., Kaimudin, M., Dewa, R. P., Riset, B., Ambon, I., Cengkeh, J. K., & Ambon, B. M. (2016). Isolasi kitin dan kitosan dari limbah kulit udang. *Majalah BIAM*, 12(1), 32–38. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.29360/mb.v12i1.2326>
- (EFSA), E. F. S. A. (2010). Scientific Opinion on the safety of ‘ Chitin-glucan ’ as a Novel Food. *EFSA Journal*, 8(7), 1–17. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1687>. Available
- Fajri, F., Thaib, A., & Handayani, L. (2019). Penambahan mineral kalsium dari cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) pada pakan terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*). *DEPIK*, 8(3), 185–192. <https://doi.org/10.13170/depik.8.3.12090>
- Girão, A. V., Caputo, G., & Ferro, M. C. (2017). Application of Scanning Electron Microscopy–Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (SEM-EDS). *Comprehensive Analytical Chemistry*, 75, 153–168. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2016.10.002>
- Handayani, L., Syahputra, F., & Astuti, Y. (2018). Utilization and characterization of oyster shell as chitosan and nanochitosan. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 21(4), 224–231. <https://doi.org/10.14710/jksa.21.4.224-231>.
- Josua, V. O., Edison, E., & Karnila, R. (2017). Pengaruh konsentrasi asam hidroklorida terhadap karakteristik kitin teripang hitam (*Holothuria edulis*). *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Riau*, 4(1), 1–12.
- Karim, M. Y., Zaunuddin, & Aslamyah, S. (2015). The effect of temperature on survival and metamorphosis acceleration of mud crabs larva (*Scylla olivacea*). *Jurnal Perikanan (J.Fish. Sci)*, 17(2), 84–89.
- Kumar, B. S., Aigal, S., & Ramesh, D. V. (2008). Air-dried 3d-collagen-chitosan biocomposite scaffold for tissue engineering application. *Polymer Composites*, 16(2), 101–113. <https://doi.org/10.1002/pc>
- Kusmiati, A. R., & Hayati, N. (2020). Pemanfaatan kitosan dari cangkang udang sebagai adsorben logam berat pb pada limbah praktikum kimia farmasi. *Indonesian Journal of Laboratory*, 3(1), 6.

- <https://doi.org/10.22146/ijl.v3i1.60789>
- Kustomo. (2020). Uji karakterisasi dan mapping magnetik nanopartikel terlapisi asam humat dengan Scanning Electron Microscope – Energy Dispersive X-Ray (SEM-EDX). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 9(3), 149–153.
- Kusuma, S. H. (2016). Kemampuan kitin dari cangkang kepiting bakau (*Scylla spp.*) dalam menurunkan kadar kolesterol jeroan sapi. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Unsyiah*, 1(1), 1–10.
- Ma'mun, S., Theresa, M., & Alfimona, S. (2016). Penggunaan membran kitosan untuk menurunkan kadar logam krom pada limbah industri penyamakan kulit. *Teknoin*, 22(5), 367–371. <https://doi.org/10.20885/teknoin.vol22.iss5.art6>
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. (2020). Uji antibakteri nanopartikel kitosan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*, 10(1), 7. <https://doi.org/10.35799/jbl.10.1.2020.27978>
- Mashuni, M., Natsir, M., Lestari, W. M., Hamid, F. H., & Jahiding, M. (2021). Pemanfaatan kitosan dari cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) dengan metode microwave sebagai bahan dasar kapsul obat. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17(1), 74. <https://doi.org/10.20961/alchemy.17.1.42038.74-82>
- Modaso, R., Suryanto, E., Tallei, T., & Rumengan, I. F. M. (2013). The yield , nitrogen content , and dye ' s binding capacity of chitin and chitosan of rotifer *Brachionus rotundiformis*. *Aquatic Science & Management Edisi Khusus*, 106(Mei), 99–106. <https://doi.org/https://doi.org/10.35800/jasm.0.0.2013.2286>
- Mursida, Tasir, & Sahriawati. (2018). Efektifitas Larutan Alkali pada proses deasetilasi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(2), 356–366.
- Mustafiah, M., Darnengsih, D., Sabara, Z., & Abdul Majid, R. (2018). Pemanfaatan kitosan dari limbah kulit udang sebagai koagulan penjernihan air. *Journal Of Chemical Process Engineering*, 3(1), 21. <https://doi.org/10.33536/jcpe.v3i1.190>
- Natalia, D. A., Dharmayanti, N., & Dewi, F. R. (2021). Produksi kitosan dari cangkang rajungan (*Portunus sp.*) pada suhu ruang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(3), 301–309.
- Ngatijo, Bemis, R., Ihsan, M., Gusmaini, N., Hidayat, S., & Basuki, R. (2020). Nanofikasi fraksi tanah gambut untuk modifikator nanomagnetit/ah-kitosan sebagai kandidat penanggulangan pencemaran zat warna. *Chempublish Journal*, 5(2), 140–150. <https://doi.org/10.22437/chp.v5i2.11105>
- Pradana, T. D., Suharno, S., & Apriansyah, A. (2018). Pengolahan limbah cair tahu untuk menurunkan kadar TSS dan BOD. *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 4(2), 56. <https://doi.org/10.30602/jvk.v4i2.9>
- PROTAN laboratories. (1987). Cation polymer for recovery valuable by products from processing waste. Washington USA: PROTAN Laboratory Inc.
- Purwanti, A & Yusuf, M. (2014). Evaluasi proses pengolahan limbah kulit udang untuk meningkatkan mutu kitosan yang dihasilkan. *Jurnal Teknologi*, 7(1), 83–90.
- Mursal, I. L.P. (2018). Pengaruh variasi suhu demineralisasi terhadap nilai rendemen dan morfologi permukaan pada hasil sintesis kitosan dari limbah tulang cumi. *Pharma Xplore : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 117–123. <https://doi.org/10.36805/farmasi.v2i2.321>
- Rochmawati, Z. N., Nabila, F., & Ainurrohmah, C. (2018). Karakterisasi kitosan yang diisolasi dari cangkang internal cumi-cumi. *Saintekno*, 16(1), 105–111.
- Rumengan, I. F. M., Suptijah, P., Salindeho, N., Wullur, S., & Luntungan, A. H. (2018). Nanokitosan dari sisik ikan : aplikasinya sebagai pengemas produk perikanan. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Sam Ratulangi.
- Shalini, S., & Sampathkumar, P. (2012). Phytochemical screening and antimicrobial activity of plant extracts for disease management. *Int J Curr Sci*, 2012, 209–218.
- Sudianto, Heri Suseno, S., & Suptijah, P. (2020). Optimasi produksi kitosan larut

air menggunakan metode hidrolisis bertekanan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(3), 441–446. <https://doi.org/https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i3.30022>

- Suherman, S., Latif, M., & Rosmala Dewi, S. T. (2018). Potensi kitosan kulit udang vannemei (*Litopenaeus vannamei*) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium agnes*, dan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram kertas. *Media Farmasi*, 14(1), 132. <https://doi.org/10.32382/mf.v14i1.145>
- Trisnawati, E., Andesti, D., & Saleh, A., (2013). Pembuatan kitosan dari limbah cangkang kepiting sebagai bahan pengawet buah duku dengan variasi lama pengawetan. *Jurnal Teknik Kimia*, 19(2), 17–26.
- Wulandari, WT, Pratita, ATK, & Idacahyati, K. (2020). Pengaruh variasi konsentrasi NaOH terhadap nilai derajat deasetilasi kitosan dari limbah cangkang kerang hijau (*Perna viridis* L), *Jurnal Riset Kimia*, 6 (3), 171-176
- Yanti, R., Drastinawati, & Yusminar. (2018). Sintesis kitosan dari limbah cangkang kepiting dengan variasi suhu dan waktu pada proses deasetilasi. *Jom FTEKNIK*, 5(2), 1–7. <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFTEKNIK/article/download/22084/21370>
- Yoshida, C. M. P., Oliveira, E. N., & Franco, T. T. (2009). Chitosan tailor-made films: The effects of additives on barrier and mechanical properties. *Packaging Technology and Science*, 22(3), 161–170. <https://doi.org/10.1002/pts.839>
- Zahiruddin, W., Ariesta, A., & Salamah, E. (2008). Karakteristik Mutu Dan Kelarutan Kitosan Dari Ampas Silase Kepala Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 2(0251), 141–151. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/29578>

## FIGURE AND TABLE TITLES

- Figure 1 Yield yield of chitosan from shells of mud crab with a ratio of HCl a (1:10) and b (1:15) at the demineralization stage
- Figure 2 FTIR spectra of mud crab shell chitosan with comparison sample : HCl a (1:10) and b (1:15)
- Figure 3 Scanning Electron Microscope-Energy Dispersive X-Ray (SEM-EDX); (a1) morphology and (a2) elements of chitosan in mud crab shells with a ratio of sample and HCl a (1:10); (b1) morphology and (b2) chitosan elements of mud crab shells with a comparison of sample and HCl a (1:15)
- Table 1 Analysis of water content, ash and total nitrogen of chitosan from mud crab shells
- Table 2 FTIR Absorption Peaks of Chitosan
- Table 3 Degree of deacetylation (DD) of chitosan from mud crab shells