

Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (*Achatina fulica*)

Synthesis of chitosan from chitin of escargot (*Achatina fulica*)

TRIANA KUSUMANINGSIH[†], ABU MASYKUR, USMAN ARIEF

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126.

[†] Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: triana@mipa.uns.ac.id

Diterima: 4 Mei 2004. Disetujui: 28 Juli 2004.

Abstract. Chitosan have been made from chitin that was deacetylated from escargot (*Achatina fulica*). The purification of chitin was done by deproteination, demineralization, and depigmentation. Identification of chitin and chitosan was done by FTIR (Fourier Transform Infrared) and XRD (X-Ray Diffraction). Characterization of chitosan was determined by water and mineral content, molecular weight, polymerization degree and degree of deacetylation. The result of research was obtained chitosan 6,95%, crystal, white brownish color, odorless, 3,26±0,45% water content, 10,11±0,38% mineral content, 889,78 molecular weight average with degree of polymerization 5 and degree of deacetylation 74,78-77,99%.

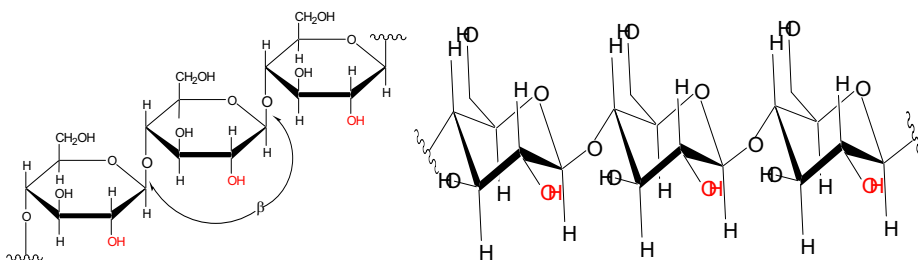
Keywords: *Achatina fulica*, chitin, chitosan, deacetylation.

PENDAHULUAN

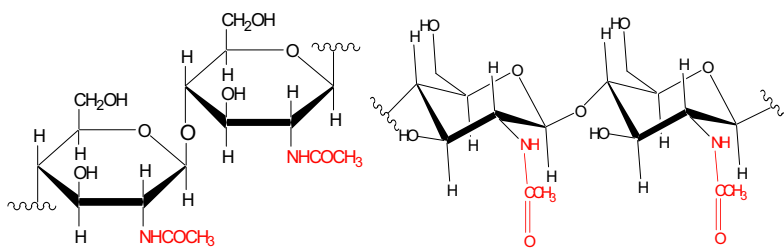
Kitin merupakan bahan organik utama terdapat pada kelompok hewan crustaceae, insekta, fungi, mollusca dan arthropoda. Cangkang kepiting, udang dan lobster telah lama diketahui sebagai sumber bahan dasar produksi kitin, karena kandungan kitinnya cukup tinggi. Cangkang kering arthropoda rata-rata mengandung 20-50% kitin (Suhardi, 1993). Kitin juga diketahui terdapat pada kulit siput, kepiting,

kerang, dan bekicot (Stephen, 1995).

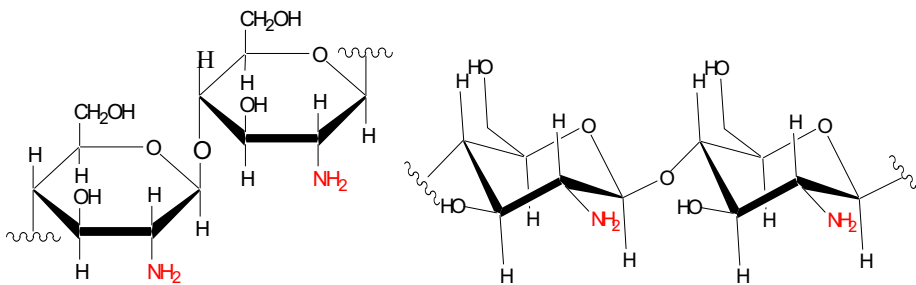
Kitin merupakan biopolimer alam paling melimpah kedua setelah selulosa. Senyawa kitin atau (α(1-4)-N-asetil-D-glukosamin) dapat dipertimbangkan sebagai suatu senyawa turunan selulosa, dimana gugus hidroksil pada atom C-2 digantikan oleh gugus asetamido (Pujiastuti, 2001). Hasil penelitian Aniek (2000), menyatakan bahwa kitin juga dapat dimanfaatkan sebagai pakan ikan dan terbukti dapat memacu pertumbuhan ikan. Struktur selulosa dan struktur



Gambar 1. Struktur selulosa



Gambar 2. Struktur kitin



Gambar 3. Struktur kitosan.

kitin diperlihatkan pada Gambar 1 dan 2.

Kitin yang telah dihilangkan gugus asetilnya melalui proses deasetilasi disebut kitosan. Kitosan (2-asetamida-deoksi- α -D-glukosa) memiliki gugus amina bebas yang membuat polimer ini bersifat polikationik, sehingga polimer ini potensial untuk diaplikasikan dalam pengolahan limbah, obat-obatan, pengolahan makanan dan bioteknologi (Savant dkk., 2000). Kitosan tidak larut dalam pelarut alkali karena adanya gugus amina (Kim dkk, 2000). Struktur kitosan diperlihatkan pada Gambar 3.

Biopolimer alam yang tidak beracun ini diproduksi secara komersial dari limbah kulit udang dan kepiting (No dkk., 2000). Penelitian tentang kitosan telah banyak dilakukan. Salami (1998) telah mempelajari metode isolasi kitin dan ekstraksi kitosan dari bahan kulit udang (*Phenax monodon*). Pemanfaatan kitin dan kitosan telah banyak dipelajari oleh beberapa peneliti yaitu: Mahatmanti (2001) mempelajari pemanfaatan kitosan dan kitosan sulfat dari cangkang udang windu untuk bahan adsorben logam Zn (II) dan Pb (II); Darjito (2001) mempelajari adsorpsi kitosan sulfat untuk logam Co (II) dan Cu (II). Bahan lain yang bisa digunakan untuk mendapatkan kitin adalah cangkang bekicot. Bekicot di Indonesia telah dibudidayakan sebagai sumber protein dan menjadi komoditas ekspor. Ekspor bekicot pada tahun 1983 baru mencapai 245.359 kg, sedangkan pada tahun 1987 naik sekitar tujuh kali lipat menjadi 1.490.296 kg (Santoso, 1989). Peningkatan perdagangan ini menyebabkan timbulnya limbah cangkang bekicot dalam jumlah yang cukup besar. Berdasarkan hal diatas maka dalam penelitian ini dilakukan pembuatan kitosan dari kitin cangkang bekicot.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cangkang bekicot dari Kecamatan Minggiran, Kabupaten Kediri, NaOCl p.a. Merck, asam asetat p.a. Merck, NaOH p.a. Merck, HCl p.a. Merck, H₂SO₄ pekat p.a. Merck, dan akuades.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayakan ASTM Standar TEST SIEVE 50 mesh, penggoyang ayakan MBT SIEVE SHAKER AG-515 RPM 500, seperangkat alat gelas pyrek, stirer hot plate model 4658 (Cole Parmer Instrument Company), thermolyne furnace 48000, neraca analitis satorius, pH meter (Corning 430), viskometer kapiler Ostwald, FTIR (*Fourier Transform Infrared*) 8201 PC, XRD (*X-Ray Diffraction*).

Cara kerja

Pemurnian kitin

Pemurnian kitin dilakukan dengan menggunakan metode Hong (Salami, 1998) dengan cara sebagai berikut:

Persiapan. Cangkang bekicot dicuci dengan air hingga bersih, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Cangkang yang telah bersih dihaluskan untuk mendapatkan ukuran sebesar 50 mesh.

Deproteinasi. Ke dalam labu alas bulat 250 ml yang berisi serbuk cangkang bekicot ditambahkan larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 10:1 (v/b), kemudian dipanaskan sambil diaduk dengan pengaduk magnetik selama 2 jam pada temperatur 65°C. Setelah dingin, disaring dan dinetralkan dengan akuades. Padatan yang diperoleh dikeringkan dalam oven 60°C hingga kering.

Demineralisasi. Serbuk cangkang bekicot hasil deproteinasi ditambah larutan HCl 1 N dengan perbandingan 15:1 (v/b) dalam labu alas bulat 500 ml dan direfluks pada suhu 40°C selama 30 menit, kemudian didinginkan. Setelah dingin, disaring dan padatan dinetralkan dengan akuades, kemudian dikeringkan dalam oven 60°C.

Depigmentasi. Larutan NaOCl 0,315% ditambahkan kedalam serbuk hasil demineralisasi dengan perbandingan 10:1 (v/b) dalam labu alas bulat 250 ml. Refluks dilakukan selama 1 jam pada suhu 40°C, kemudian padatan disaring dan dinetralkan dengan akuades. Padatan hasil penetralan dikeringkan pada oven pada suhu 80°C sampai berat tetap. Kitin yang diperoleh diidentifikasi menggunakan instrumen spektrofotometer inframerah.

Pembuatan kitosan

Pembuatan kitosan dilakukan melalui proses deasetilasi kitin dengan menggunakan metode Knorr (Salami, 1998) yaitu dengan menambahkan NaOH 60% dengan perbandingan 20:1 (v/b) dan merefluksnya pada suhu 100-140°C selama 1 jam. Setelah dingin disaring dan padatan yang diperoleh dinetralkan dengan akuades. Padatan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam dan kitosan siap dianalisis. Kitosan diidentifikasi dengan menggunakan instrumen spektrofotometer inframerah dan difraksi sinar x.

Karakterisasi kitosan

Karakterisasi kitosan meliputi penentuan derajat deasetilasi, kadar air, kadar mineral, dan berat molekul, dengan uraian sebagai berikut: *Derajat deasetilasi.* Spektrum infra merah digunakan untuk penentuan derajat deasetilasi kitosan yang terbentuk. Frekuensi yang digunakan berkisar antara 4000 cm⁻¹ sampai dengan 400 cm⁻¹. Derajat deasetilasi kitosan ditentukan dengan metode *base line* yang ditentukan Domszy dan Robert serta Baxter (Khan dkk., 2002). *Kadar air.* Kadar air dihitung dengan mengukur pengurangan berat sampel sebelum dan setelah pemanasan. Sejumlah sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam, kemudian dikeringkan dalam desikator. *Kadar mineral.* Kadar mineral dihitung dengan memasukan sampel kitosan kedalam cawan porselin yang sebelumnya telah ditimbang beratnya, selanjutnya diabukan pada suhu 900°C dalam tanur selama 3 jam. Cawan didinginkan dalam desikator dan ditimbang. *Berat molekul.* Berat molekul dihitung dengan mengukur viskositas larutan kitosan menggunakan viskometer Ostwald.

Timbulnya gelembung gas CO₂ merupakan indikator adanya reaksi HCl dengan garam mineral yang terdapat dalam cangkang bekicot.

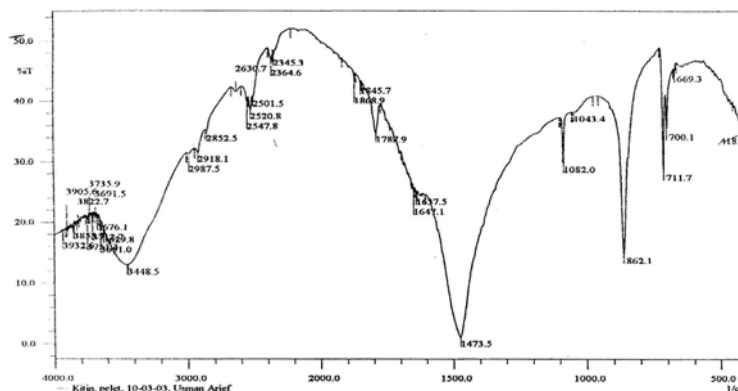
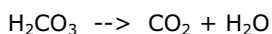
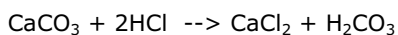
Identifikasi dengan spektroskopi infra merah digunakan untuk mengetahui gugus fungsi kitin yang terdapat pada rendemen. Spektra FTIR kitin diperlihatkan pada Gambar 4. Bilangan gelombang 3448,5 cm⁻¹ sebagai akibat vibrasi ulur gugus -OH. Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1082,0 cm⁻¹ dan 1043,4 cm⁻¹ menunjukkan vibrasi ulur gugus -C-O-. Serapan pada bilangan gelombang 2987,5 cm⁻¹, 2918,1 cm⁻¹ dan 2852,5 cm⁻¹ muncul disebabkan oleh vibrasi ulur gugus C-H dari alkana (Silverstein dkk, 1981). Serapan uluran gugus -CH₃ dan -CH₂- terletak didaerah 2960-2850 cm⁻¹, sehingga pita yang terdapat pada bilangan gelombang 2918,1 cm⁻¹ dan 2852,5 cm⁻¹ menunjukkan serapan uluran gugus -CH₃ dan -CH₂-. Keberadaan gugus -CH₃ yang terikat pada amida (-NHCOCH₃), didukung dengan adanya bilangan gelombang 1473,5 cm⁻¹ (Silverstein dkk, 1981). Pita serapan yang terdapat pada bilangan gelombang 1647,1 cm⁻¹ dan 1637,5 cm⁻¹ menunjukkan pita uluran gugus C=O suatu amida (-NHCO). Silverstein dkk (1981) menyatakan bahwa getaran tekuk NH amida diketahui di daerah 1570-1515 cm⁻¹. Serapan lebar gugus -CH₃ pada amida merupakan tumpang tindih dengan vibrasi tekuk gugus NH amida, sehingga tidak tampak pada spektra ini. Serapan tajam pada bilangan gelombang 862,1 cm⁻¹ memperlihatkan bahwa masih adanya mineral silika pada kitin dengan intensitas lebih rendah. Masih adanya serapan gugus karbonil pada 1647,1 cm⁻¹ dari amida (kitin) dan serapan lemah dari gugus amina sekunder yang terdeasetilasi (kitosan) menunjukkan sampel tidak sepenuhnya terdeasetilasi (Saraswathy dkk., 2001)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemurnian kitin

Pemurnian kitin dilakukan dengan menggunakan metode Hong (Salami, 1998), meliputi deproteinasi, demineralisasi dan depigmetasi. Tahap deproteinasi dilakukan dengan menambahkan NaOH encer. Protein ini akan larut dengan adanya NaOH.

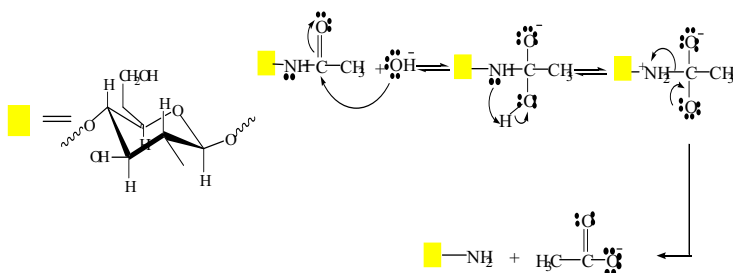
Pada tahap demineralisasi, mineral yang terkandung dalam sampel akan bereaksi dengan HCl. Contoh reaksi yang terjadi dalam kalsium menurut Salami (1998) adalah sebagai berikut:



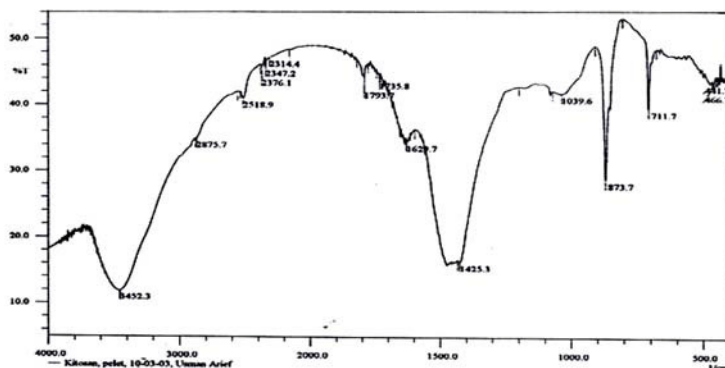
Gambar 4. Spektra FTIR kitin.

Pembentukan kitosan

Kitosan diperoleh dengan melakukan proses deasetilasi pada kitin. Deasetilasi merupakan



Gambar 5. Reaksi hidrolisis kitin.



Gambar 6. Spektra FTIR kitosan.

proses perubahan gugus asetil ($-\text{NHCOCH}_3$) pada kitin menjadi gugus amina ($-\text{NH}_2$) pada kitosan dengan penambahan NaOH konsentrasi tinggi. Reaksi deasetilasi kitin pada dasarnya adalah suatu reaksi hidrolisis amida dari α -(1-4)-2-asetamida-2-deoksi-D-glukosa.

Mahatmanti (2001) mengusulkan reaksi hidrolisis pada kitin seperti Gambar 5. Refluks pada proses ini menghasilkan gel. Berdasarkan spektra FTIR, dapat diperkirakan bahwa telah terjadi perubahan kitin menjadi kitosan. Spektra kitosan yang diperoleh diperlihatkan pada Gambar 6.

Spektra kitosan menginformasikan adanya pita serapan pada bilangan gelombang $3452,3 \text{ cm}^{-1}$ sebagai hasil dari vibrasi rentangan gugus -OH. Lebarnya serapan dan pergeseran bilangan gelombang gugus -OH ini disebabkan adanya tumpang tindih dengan gugus NH dari amina. Serapan pada bilangan gelombang $2875,7 \text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan gugus C-H dari alkana yaitu menunjukkan vibrasi ulur gugus $-\text{CH}_2-$. Hilangnya gugus metil ($-\text{CH}_3$) yang terikat pada amida ($-\text{NHCOCH}_3$) dapat diketahui dari hilangnya serapan pada bilangan gelombang $2918,1 \text{ cm}^{-1}$ serta hilangnya gugus C=O suatu amida ($-\text{NHCO}-$) diketahui dari hilangnya pita serapan yang terdapat pada bilangan gelombang $1647,1 \text{ cm}^{-1}$ dan $1637,5 \text{ cm}^{-1}$. Serapan khas kitosan terlihat pada bilangan gelombang $1629,7 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan getaran tekuk N-H dari amina ($-\text{NH}_2$) (Silverstein dkk,1981). Pita serapan pada bilangan $1039,6 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur

gugus $-\text{C}-\text{O}-$. Serapan tajam pada bilangan gelombang $873,7 \text{ cm}^{-1}$ memperlihatkan bahwa mineral silika masih ada pada kitosan meskipun intensitasnya lebih rendah.

Difraksi sinar-x atau XRD digunakan untuk membantu menganalisis kitosan yang diperoleh. Data XRD dapat ditentukan dari nilai d kitosan yang sama dengan nilai d kitosan pada *Joint Committee of Powder Diffraction Standart* (JCPDS). Data ini ditunjukkan pada Tabel 1.

Kitosan merupakan kitin yang terdeasetilasi, tetapi tidak cukup sempurna untuk dinamakan poliglukosamin (Bastaman, 1989 dalam Darjito, 2001) sehingga ditentukan pula pola difraksi sinar-x sampel kitosan yang sama dengan pola difraksi kitin standar dari data JCPDS. Data tersebut terlihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Perbandingan d kitosan standar JCPDS dengan d kitosan sampel.

d standar kitosan	d kitosan	Intensitas
3,17	3,17	310
2,98	3,00	4366
2,98	2,96	232
2,80	2,81	132
2,51	2,51	245
2,47	2,48	143
2,47	2,47	758
2,47	2,45	261
2,37	2,35	227

Tabel 2. Perbandingan d kitin standar JCPDS dengan d kitosan sampel.

d standar kitosan	d kitosan	Intensitas
3,32	3,32	1078
3,20	3,22	149
2,34	2,73	177
2,32	2,31	185
2,32	2,30	180
2,28	2,27	840
2,06	2,08	715
2,06	2,06	266
1,72	1,73	281
1,72	1,71	221

Hasil perhitungan diperoleh intensitas struktur kitosan yang sama dengan kitosan standar sebesar 40,25% dan yang sama dengan kitin standar sebesar 24,68%.

Karakterisasi kitosan

Karakterisasi kitosan yang diperoleh diperlihatkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakterisasi kitosan.

Spesifikasi	Deskripsi
Warna	Putih kecoklatan
Bau	Tidak berbau
Bentuk	Kristal
Kadar air	3,26±0,45%
Kadar mineral	10,11±0,38%
Derajat deasetilasi	74,78 – 77,99%
Berat molekul	889,78
Derajat polimerisasi	5

Derajat deasetilasi dilakukan untuk mengetahui terbentuknya kitosan dari kitin. Derajat deasetilasi kitosan pada penelitian ini sebesar 74,78-77,99%, sehingga sesuai dengan derajat deasetilasi menurut Pujiastuti (2001) yang menyatakan bahwa derajat deasetilasi kitin terhadap kitosan biasanya berkisar antara 70-100% tergantung penggunaannya

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa: (i) kitin cangkang bekicot dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan kitosan dengan kadar rendemen kitosan sebesar 6,95%. (ii) karakterisasi sifat fisika kimia kitosan yang dihasilkan meliputi derajat deasetilasi pada kitosan sebesar 74,78-77,99%, kadar air sebesar 3,26±0,45%, kadar mineral 10,11±0,38%, berat molekul rata-rata 889,78, dan derajat polimerisasi 5. Perlu dicari metode yang lebih baik dalam pemurnian kitin dari cangkang bekicot terutama pada proses demineralisasi.

DAFTAR PUSTAKA

Aniek, M.H., 2000. Pengaruh kadar kitin dalam pakan terhadap laju pertumbuhan dan konsumsi pakan

- ikan gurame (**Osphronemus gouramy**). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*
- Darjito. 2001. *Karakterisasi Adsorpsi Co (II) dan Cu (II) pada Adsorben Kitosan Sulfat*. [Tesis]. Yogyakarta: Program Pascasarjana, UGM.
- Khan T.A., K.K. Peh, S.C. Hung. 2002. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence analytical methods. *Journal of Pharmacological Science* 5 (3): 205-212. (www.ualberta.ca/~csp)
- Kim, S.Y., S.M. Cho, Y.M. Lee, and S.J. Kim. 2000. Thermo and pH responsive behaviours of graft copolymer and blend based on chitosan and N-isopropylacrylamide. *Journal of Applied Polymers Science* 78: 1381-1391
- Mahatmanti, F.W. 2001. *Studi Adsorben Logam Seng (II) dan Timbal (II) pada Kitosan dan Kitosan Sulfat dari Cangkang Udang Windu (Phenaeus monodon)*. [Tesis]. Yogyakarta: Program Pascasarjana UGM.
- No, H., Y. M.Lee, and S.P. Mayers. 2000. Correlation between physicochemical characteristics and binding capacities on chitosan product. *Journal of Food Science* 65: 1134-1137.
- Pujiastuti, P. 2001. *Kajian Transformasi Khitin Menjadi Khitosan Secara Kimiawi dan Enzimatis*. Seminar Nasional Jurusan Kimia, Surakarta, 13 Oktober 2001, Jurusan Kimia F MIPA UNS
- Salami L. 1998. *Pemilihan Metode Isolasi Khitin dan Ekstraksi Khitosan dari Limbah Kulit Udang Windu (Phenaeus monodon) dan Aplikasinya sebagai Bahan Koagulasi Limbah Cair Industri Tekstil*. [Skripsi]. Jakarta: Jurusan Kimia F MIPA UI.
- Santoso H.B. 1989. *Budidaya Bekicot*. Yogyakarta: Kanisius
- Saraswathy, G., S. Pal, C. Rose, and T.P. Sastry. 2001. A novel bioinorganic bone implant containing deglued bone, chitosan, and gelatin. *Bulletin Materials Science* 24: 415-420.
- Savant., D. Vivek, and J.A. Torres. 2000. Chitosan-based coagulating agents for treatment of cheddar cheese whey. *Biotechnology Progress* 16: 1091-1097.
- Silverstein R.M., G.C. Bassler, dan T.C. Morrill. 1981. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. New York: John Wiley and Sons Inc.
- Stephen, A.M. 1995. *Food Polysaccharides and their Applications*. Rondebosch: Department of Chemistry, University of Cape Town.
- Suhardi. 1993. *Khitin dan Khitosan*. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM.
- Williams D. H. and L. Fleming. 1987. *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*. 4th edition. London: Mc Grow-Hill Book Company (UK) Limited.