

ISOLASI DAN KARAKTERISASI KITOSAN PADA KERANG DARAH (*Anadara granosa*)

Isolation and characterization of chitosan from the shells of blood clams

Ummi Mardiana

Program Studi DIII Analisis Kesehatan
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya
ummymardiana@stikes-bth.ac.id

ABSTRACT

*Study of isolation and characterization of chitosan has been carried out. The aims of this experiment were to know the chitosan characterization from the shells of blood clams (*Anadara granosa*). Chitosan can be isolated through the demineralization, deproteinization, depigmentation and deacetylation. Characterization of chitosan has been performed i.e.: identification of nitrogen content, ash content, and degree of deacetylation. The nitrogen content was carried out using the Kjeldahl method, meanwhile, the gravimetric method has been applied to identify the ash content. FTIR spectrophotometry was functioned to determine the degree of deacetylation. The characterization result of chitosan was showed having a white powder texture, odorless, nitrogen content is 1.2440%; 3.4672% of ash content; 8.7866% of water content and 50,9849 % of deacetylation degree. Blood clams have high economic value and are widely consumed by the public. The waste shells can be used as a potential resource to be used in a wider application.*

Keywords: Chitosan, Blood clams, Kjeldahl method, FTIR

Diterima : 02 Januari 2021

Direview: 26 Januari 2021

Diterbitkan: 31 Januari 2021

ABSTRAK

Studi tentang isolasi dan karakterisasi kitosan telah dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakterisasi kitosan dari cangkang kerang darah (*Anadara granosa*). Kitosan dapat diisolasi melalui tahap demineralisasi, deproteinasi, depigmentasi dan deasetilasi. Dalam penelitian ini karakterisasi kitosan telah dilakukan yaitu: identifikasi kadar nitrogen, kadar abu, dan derajat deasetilasi. Kadar nitrogen telah dilakukan dengan metode Kjeldahl, sedangkan metode gravimetri digunakan untuk mengidentifikasi kadar abu. Spektrofotometri FTIR berfungsi untuk menentukan derajat deasetilasi. Hasil karakterisasi kitosan memiliki tekstur serbuk berwarna putih, tidak berbau, kadar nitrogen 1,2440%; 3,4672% kadar abu; dan 50,9849% derajat deasetilasi. Kerang darah memiliki nilai ekonomis tinggi dan banyak dikonsumsi masyarakat. Limbah kulit kerang dapat dimanfaatkan sebagai potensi sumber daya untuk dapat digunakan pada aplikasi yang lebih luas.

Kata Kunci : Kitosan, kerang darah, Metode kjedhal, FTIR

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara maritim, dengan luas wilayah lautnya mencapai tiga juta kilometer persegi. Tentunya sumber daya alamnya sangat melimpah, terutama sumber daya bahari. Manusia memanfaatkan sumber daya alam untuk dikonsumsi untuk kebutuhan pangan, sandang, maupun papan. Kerang merupakan salah satu sumber daya air yang cukup diminati masyarakat. Kerang merupakan salah satu komoditi perikanan Indonesia yang mengalami kenaikan setiap tahunnya.

Kerang darah dengan nama binomial *Anadara granosa* adalah salah satu jenis kerang yang mudah ditemukan dikawasan Asia Tenggara dan Asia Timur. Kerang ini dapat menghasilkan cairan merah yang berisi hemoglobin sehingga biasa disebut kerang darah¹. Kerang darah memiliki nilai ekonomis tinggi dan banyak dikonsumsi masyarakat. Produksi kerang darah di Indonesia dari tahun 2008 hingga 2012 mengalami kenaikan sebesar 0,04% dan kenaikan sebesar 10,71%. Antara tahun 2011 sampai 2012 dengan produksi tertinggi pada tahun 2008 yaitu 47.437 ton².

Tingginya jumlah kerang yang dikonsumsi sebanding dengan jumlah limbah yang dihasilkan. Jika limbah dibuang terus menerus tanpa adanya

pengolahan yang baik dapat menimbulkan gangguan keseimbangan lingkungan, yang berupa lingkungan tidak berfungsi seperti semula dalam arti kesehatan, kesejahteraan, dan keselamatan hayati³.

Kitin dan kitosan adalah golongan karbohidrat yang dapat dihasilkan dari limbah hasil laut, khususnya golongan udang, kepiting, kerang, dan ketam⁴. Dalam bidang pangan, kitosan berfungsi sebagai pengawet alami, penyerap zat warna, dan antioksidan⁵. Gugus amina yaitu NH_2 pada kitosanlah yang memegang peran dalam penangkapan radikal bebas⁶. Sebelumnya telah dilakukan isolasi dan karakterisasi kitosan oleh Winarti (2008)⁷ pada kepala udang windu, hasilnya didapat kadar nitrogen sebesar 3,03% dan kadar abu sebesar 0,17%. Sementara Zuni (2018)⁸ telah mempelajari pula isolasi dan karakterisasi kitosan oleh dengan menggunakan cangkang internal cumi-cumi dan didapat hasil kadar air 10%; kadar abu 0,752%; derajat deasetilasi 73,534%. Untuk mengembangkan penelitian lebih lanjut, maka pada penelitian ini dilakukan identifikasi derajat deasetilasi menggunakan spektrofotometer FTIR tujuannya untuk mengetahui hasil karakteristik kitosan pada kulit kerang darah (*Anadara granosa*) dengan penentuan derajat deasetilasi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Bahan dan peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Cangkang Kerang Darah, NaOH, HCl 1 M, NaOCl 4%, Aquadest, Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, hot plate, 1 set alat refluks, oven, FTIR, dan alat-alat gelas yang umum digunakan dalam laboratorium. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi kerang darah (*Anadara granosa*) untuk diisolasi menjadi kitosan. Sampel diambil dari dua pedagang seafood yang terdapat di Kecamatan Cipedes Kota Tasikmalaya. Sebanyak 100 g sampel ditimbang untuk digunakan pada tahap isolasi. Selanjutnya sampel dibersihkan dari daging yang masih menempel menggunakan air bersih, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari, dioven pada suhu 80°C.

Tujuan dari pemanasan ini agar kulit kerang dapat mudah untuk dihaluskan. Selanjutnya kulit kerang dihaluskan dan diayak untuk mendapatkan ukuran sebesar 60 mesh. Isolasi kitosan dari cangkang kerang darah dilakukan melalui tahap demineralisasi, deproteinasi, depigmentasi, dan deasetilasi. Sementara karakterisasi yang dilakukan yaitu menentukan kadar abu, kadar nitrogen, dan derajat deasetilasi.

1. Pembuatan kitosan

a. Deproteinasi

dilakukan dengan penambahan larutan NaOH 50%. Sampel hasil demineralisasi ditimbang sebanyak 3 g kemudian dimasukkan kedalam masing – masing erlenmeyer. Serbuk hasil demineralisasi disaring, dicuci menggunakan aquades dan dikeringkan dalam oven sampai kering. Masing – masing serbuk hasil deproteinasi diuji kadar nitrogen totalnya menggunakan metode Kjeldahl

b. Demineralisasi

Sebanyak 50 gram serbuk cangkang kerang darah ditambahkan HCl 1N dengan perbandingan 1:10 (b/v). Campuran ini kemudian diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 1 jam pada dengan 75°C. Selanjutnya disaring menggunakan penyaring Buchner dan residu yang dihasilkan dicuci dengan aquades. Serbuk hasil demineralisasi dikeringkan dalam oven sampai kering⁹.

c. Deasetilasi

Serbuk hasil deproteinasi ditambah dengan NaOH 60% dengan perbandingan 1:10 (b/v) kemudian diaduk pada suhu 100°C selama 30 menit. Endapan yang diperoleh dicuci dan dikeringkan¹⁰.

2. Karakterisasi

a. Kadar air¹¹

Sebanyak 1 g kitosan dimasukkan kedalam cawan porselin yang diketahui berat kosongnya. Kitosan kemudian dioven pada suhu 105°C selama 2 jam, dimasukkan dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang. Perlakuan ini dilakukan hingga beratnya konstan. Kadar air dihitung menggunakan persamaan berikut :

$$kadar\ air = \frac{B1-B2}{Bs} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan :

- B1 = Berat awal (g)
- B2 = Berat akhir setelah kering (g)
- Bs = Berat sampel (g)

b. Kadar Abu¹¹

Sebanyak 2 g kitosan dimasukkan kedalam cawan porselin yang telah diketahui berat kosongnya. Kitosan dipijarkan dalam tanur hingga 500°C selama 30-45 menit kemudian dinaikkan menjadi 900°C selama 60-90 menit. Kitosan yang telah diabukan dimasukkan kedalam desikator hingga suhu ruang lalu ditimbang beratnya. Kadar abu dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$kadar\ abu = \frac{B1-B2}{Bs} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan :

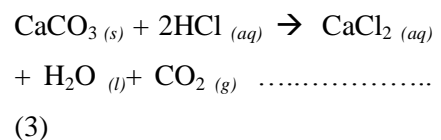
- B1 = Berat cawan kosong (g)
- B2 = Berat (sampel+cawan) setelah diabukan (g)
- Bs = Berat sampel (g)

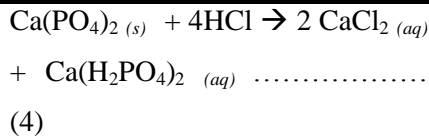
HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pembuatan kitosan

a. Demineralisasi

Cangkang kerang darah mengandung garam anorganik, sehingga proses demineralisasi dilakukan untuk menghilangkan garam anorganik atau mineral-mineral yang terkandung didalamnya. Mineral yang banyak terkandung pada cangkang kerang darah adalah Ca₃(PO₄)₂ dan CaCO₃¹². Proses demineralisasi menghasilkan 19,18 g dari 50 g sampel. Penggunaan HCl dilakukan untuk melarutkan ion Ca²⁺ dalam bentuk CaCO₂, sehingga menghasilkan CaCl₂ yang larut air dengan produk samping gas CO₂ dan air. Proses ini menghasilkan buih dari reaksi :

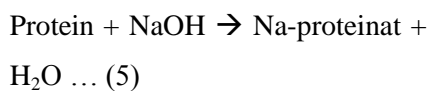




Untuk mempercepat proses rusaknya mineral, pemanasan pada proses demineralisasi dilakukan¹³. Selain itu, pengadukan diperlukan untuk menghindari meluapnya gas CO₂ selama proses demineralisasi berlangsung. Pencucian dilakukan selain untuk menetralkan pH residu juga dilakukan untuk melarutkan CaCl₂ dan H₃PO₄.

b. Deproteinasi

Tahap pertama yaitu deproteinasi. Merupakan proses untuk menghilangkan protein yang masih terdapat dalam kulit kerang. Protein dapat dihilangkan dengan adanya NaOH secara bertahap dan pemanasan. Protein akan terlepas dan membentuk natrium proteinat yang dapat larut dan hilang selama proses pencucian dan penyaringan. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut :



Semakin rendah kadar nitrogen total yang diperoleh, menunjukkan semakin banyak ikatan peptida yang terputus.

Tahap berikutnya yaitu dilanjutkan dengan proses Depigmentasi. Sampel

ditambahkan dengan larutan kaporit 0,315%, dilanjutkan dengan larutan direfluks pada suhu 40°C. Tujuan dari proses ini adalah untuk menghilangkan warna pada kitin. Warna serbuk kulit kerang yang semula berwarna putih kecoklatan menjadi putih keabuan.

c. Deasetilasi

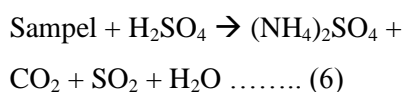
Proses deasetilasi dilakukan secara bertahap dengan penambahan NaOH NaOH 60% dan dipanaskan pada suhu 100°C. Tujuan dari proses ini adalah untuk memecah gugus asetil (-CH₃CO) pada kitin menjadi gugus amina (NH₂). Pada tahap ini, penambahan NaOH menyumbangkan gugus hidroksil yang tersedia untuk terjadinya proses hidrolisis, sehingga memperbesar kemungkinan terjadinya elimiasi pada gugus karbonil yang disebabkan terjadinya adisi oleh hidroksil, sehingga terbentuklah gugus amina. Konsentrasi NaOH dan suhu tinggi yang digunakan pada proses deasetilasi dapat menyebabkan derajat deasetilasi kitosan semakin tinggi. Konsentrasi NaOH yang tinggi menyebabkan reaksi substitusi gugus asetil menjadi optimum. Suhu yang tinggi menyebabkan gugus asetil terlepas

dari struktur kitin sehingga menyisakan gugus amina bebas yang akan berikatan dengan hydrogen¹⁴.

2. Karakterisasi chitosan

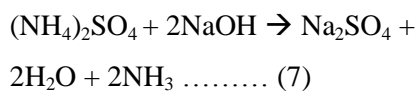
a. Kadar Nitrogen

Penentuan kadar nitrogen ini menggunakan metode Kjeldahl. Metode ini terdiri dari 3 tahap, yaitu digesi, destilasi, dan titrasi. Ketika ditambahkan asam sulfat, campuran tersebut berubah warna menjadi hitam pekat yang kemudian berubah menjadi larutan berwarna hijau jernih. Selain itu, ketika dipanaskan larutan mengeluarkan asap. Ini terjadi karena terbentuknya CO₂ akibat dekomposisi organik berdasarkan reaksi berikut :



Ammonium sulfat yang terbentuk ditambahkan dengan NaOH pada proses destilasi untuk menetralkan H₂SO₄.

Penambahan tersebut akan mengakibatkan (NH₄)₂SO₄ berubah menjadi ammonia yang bebas (NH₃), menurut reaksi :



Ammonia yang terbentuk akan ditangkap oleh HCl berlebih. Selanjutnya HCl sisa yang tidak

bereaksi dititrasi dengan larutan NaOH. Setelah dilakukan perhitungan didapat kadar nitrogen sebesar 1,244%. Pada penelitian oleh Sallyta (2014) kadar nitrogen pada kitosan berbahan dasar tutut sebesar 5,33%. Hal ini disebabkan oleh perbedaan banyaknya kadar gugus -NH₂ yang terkandung dalam sampel yang terbentuk pada proses deasetilasi.

b. Kadar abu dan kadar air

Kadar air dan kadar abu merupakan parameter yang dijadikan standar mutu kitosan. Kadar air yang tinggi menyebabkan kesegaran dan daya simpan kitosan menjadi lebih pendek. Kadar abu menunjukkan tingkat keberhasilan demineralisasi, sehingga rendahnya kadar abu menunjukkan kemurnian suatu kitosan. Penentuan kadar abu bertujuan untuk mengetahui kandungan mineral yang terdapat pada kerang darah. Selain itu, kadar abu juga dapat digunakan untuk mengukur kelarutan kitosan di dalam pelarut. Jika kadar abu tinggi, maka mineral yang terkandung masih tinggi dan jika kadar abu rendah, maka mineral yang terkandung pada sampel berjumlah sedikit.

Kitosan dapat dikatakan memiliki kualitas yang baik jika kadar abunya kurang dari 2%.

Pada penelitian ini terdapat kadar abu sebesar 3,4677%. Sementara untuk kadar air diperoleh hasil sebesar 8,7866%. Standar mutu kadar air dan kadar abu kitosan menurut Laboratorium Proteksi tanaman masing – masing $\leq 10\%$ dan $\leq 2\%$ untuk kadar air dan kadar abu. Pada penelitian ini nilai kadar abu sedikit diatas standar yang ditetapkan, hal ini menandakan proses demineralisasi belum sempurna.

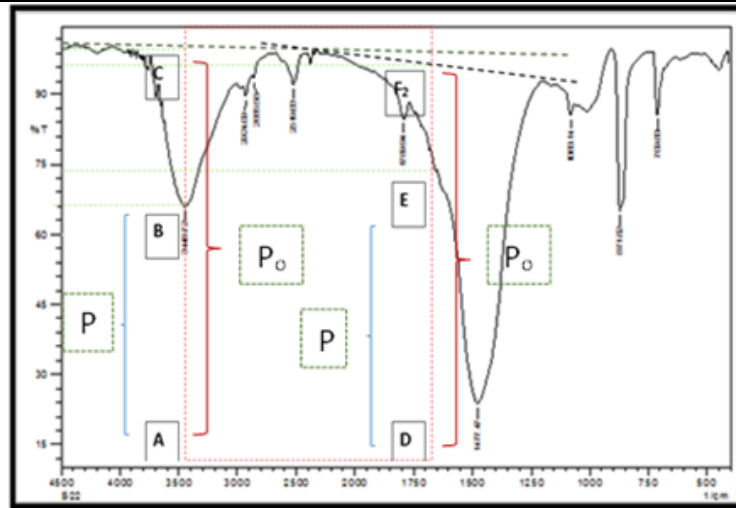
c. Penentuan Derajat Deasetilasi

Pada tahap ini digunakan spektrofotometer FTIR. Analisis spektrum FTIR untuk kitin dan kitosan dilakukan pada daerah gugus fungsi dan daerah sidik jari dengan frekuensi 4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1} . Derajat deasetilasi kitosan ditentukan dengan metode base line berdasarkan spektrum FTIR, dengan rumus:

$$DD = 100 - \left[\left(\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \right) \times \frac{100}{1,33} \right] \dots\dots\dots (7)$$

Dengan A_{1655} menunjukkan serapan pada pita amida, A_{3450} menunjukkan serapan pada pita hidroksil, dan faktor 1,33 menunjukkan nilai rasio A_{1655} / A_{3450} untuk sepenuhnya derajat deasetilasi kitosan.

Sebelum dianalisis, sampel harus dijadikan pellet. Pellet sampel dibuat bening agar dapat menerima interaksi dengan sinar infra merah yang ditembakkan. Pembuatan pellet ini dibantu dengan dicampurnya KBr pada sampel. Fungsi dari penambahan KBr ini agar pellet yang dihasilkan menjadi bening. Alasan digunakannya KBr yaitu karena zat tersebut tidak menghasilkan serapan pada IR sehingga yang teramati oleh alat hanya sampel saja.



Gambar 1. Penentuan A1655 dan A3450 Menggunakan Metode Baseline

Hasil dari penentuan derajat deasetilasi kitosan hasil isolasi didapat nilai 50,9849%. Penentuan ini dihasilkan menggunakan metode baseline, yaitu dengan menyeleksi pita absorpsi yang dianalisa tidak jatuh kembali pada pita komponen yang dianalisis. Transmittan P_0 menunjukkan intensitas sinar yang didapat dengan cara menarik garis lurus tangensial pada kurva spektrum absorpsi pada pita absorpsi yang dianalisis. Transmittan P , diukur dari titik absorpsi maksimum. Kurva kalibrasi didapat dengan cara menyalurkan nilai $\log (P_0/P)$ terhadap konsentrasi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, kitosan berbahan dasar kulit kerang darah (*Anadara granosa*) memiliki sifat organoleptik berbentuk serbuk dan berwarna putih keabuan. karakteristik

kadar nitrogen sebesar 1,2440 %, kadar abu sebesar 3,4672%, kadar air sebesar 3,4677 dan derajat deasetilasi sebesar 50,9849%. Dapat disimpulkan bahwa kitosan hasil isolasi ini merupakan kitosan dengan kelompok derajat deasetilasi rendah, Sedangkan untuk saran sebaiknya pada proses deasetilasi, digunakan NaOH dengan konsentrasi yang lebih tinggi dari 50% dan pemanasan lebih dari 1 jam agar derajat deasetilasi yang dihasilkan dapat meningkat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Afranita, G, Anita dan Hanifah, Potensi Abu Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) sebagai Adsorben Ion Timah Putih. Pekanbaru: Universitas Riau. 2013.
2. Direktorat Jendral Perikanan Tangkap. Statistik Perikanan Tangkap Indonesia 2011. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2012.
3. Kusuma, E. W. *Pemanfaatan Limbah Kulit Kerang sebagai Bahan Campuran Pembuatan Paving Block*.

- Program Studi Teknik Lingkungan. Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan. Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jawa Timur. Surabaya, 2012.
4. Harini. N, Winarni. S, dan Setyaningsih, E., Pemanfaatan Teknologi Pengolahan Lombeh Kulit/Kepala Udang Menjadi Chitosan Untuk Ingredient Pembuatan Permen di Home Industri Kebon Agung Kepanjen Malang. *Jurnal Dedikasi. 2004: 1(2:) 1-17*
 5. Wiyarsi A dan Priyambodo E. Pengaruh Konsentrasi Kitosan dari Cangkang Udang Terhadap Efisiensi Penjerapan Logam Berat. [Skripsi]. Yogyakarta: Jurusan Kimia FMIPA UNY, 2011.
 6. Xie, W., P. Xu, W. Wang, dan Q. Liu. Preparation and Antibacterial Activity of a water-soluble Chitosan Derivative, *Carbohydrate Polymer*, 2002; 50: 35-40.
 7. Winarti Z., Ariesta A., Salmalah E., Karakterisasi Mutu dan Kelarutan Kitosan dari Ampas Silase Kepala Udang Windu (*Panaeus monodon*). Buletin Teknologi Hasil Pertanian, 2008; Vol XI Nomor 2.
 8. Zuni Nur rochmawati, faradhina Nabila, Cicik Ainurrohman, Karakterisadi kitosan yang diisolasi dari cangkang internal cumi-cumi, *Journal sains dan teknologi*, 2018: 16 (1) 105-12.
 9. Arif, Abdur Rahman. Isolasi Kitin dari Limbah Udang Putih (*Panaeus merguensis*) Secara Enzimatis. Makassar: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, 2013.
 10. Purwanti, Ani.. Evaluasi Proses Pengolahan Limbah Kulit Udang untuk Meningkatkan Mutu Kitosan yang Dihasilkan. Yogyakarta: Institut Sains & Teknologi AKPRIND, 2014.
 11. Association of Official Analitical Chemist [AOAC]. Official Method of Analyst of Association of Official Analyst Chemist. Virginia USA. Association of Official Analitical Chemist Inc, Arlington, 1995.
 12. Rachmania, Desie. Karakteristik Nano Kitosan Cangkang Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan Metode Gelasi Ionik. Skripsi. Bogor: IPB, 2011.
 13. Peter, Martin G. (1995). Application and Environmental Aspects of Chitin and Chitosan. *Journal of Pure and Appl. Chem.* 1995:629-39.
 14. Mekawati, Fachriyah, E. dan Sumardjo, D. (2000). Aplikasi Kitosan Hasil tranformasi Kitin Limbah Udang (*Panaeus merguensis*) untuk Adsorpsi Ion Logam Timbal. Jurnal Sains and Matematika, FMIPA Undip, Semarang, 2000: 8 (2): 51-5.