

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KITIN DAN KITOSAN DARI KULIT UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) DENGAN SPEKTROSKOPI INFRAMERAH

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF CHITIN AND CHITOSAN FROM WINDU SHRIMP (*Penaeus monodon*) WITH INFRARED SPECTROSCOPY

Edward J. Dompeipen

Balai Riset dan Standarisasi Industri Ambon, Jl Kebun Cengkeh Ambon-97128

Email : dompeipenedward@yahoo.com

Received : 10/07/2017 ; revised : 19/07/2017 ; accepted : 07/08/2017 ;

Published online : 11/08/2017

ABSTRAK

Kitin dan kitosan merupakan biopolimer alami pada Krustasea dan Jamur. Kitosan digunakan secara ekstensif sebagai bahan baku di berbagai industri. Penelitian bertujuan untuk mengekstraksi kitin dan kitosan dari kulit udang windu melalui reaksi deproteinisasi, demineralisasi, dekolorisasi dan deasetilasi. Rendemen kitin dan kitosan yang dihasilkan secara berturut turut adalah 60,5% dan 63,0%. Derajat deasetilasi kitosan dari kulit udang windu adalah 37,88 % untuk kitin dan 53,25 % untuk kitosan. Hasil analisis terhadap spektrum FTIR kitin memperlihatkan beberapa puncak utama pada bilangan gelombang 3554,45 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi pembengkokan amida sekunder dan amina (NH) sekunder pada bilangan gelombang 1670,35 cm^{-1} serta 1427,32 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi peregangan CH. Hasil analisis spektrum FTIR kitosan menunjukkan adanya vibrasi peregangan simetris pada 3302,20 cm^{-1} akibat adanya tumpang tindih OH dan amina (NH), vibrasi peregangan 1577,71 cm^{-1} disebabkan oleh perambatan C = O peregangan (amida I) dan vibrasi peregangan 1666,30 cm^{-1} yang menunjukkan amida sekunder. Hasil karakterisasi dengan spektroskopi inframerah menunjukkan bahwa senyawa hasil ekstraksi adalah kitin dan kitosan.

Kata kunci : Isolasi, identifikasi, kulit udang windu, kitin, kitosan, spektroskopi inframerah.

ABSTRACT

Chitin and chitosan are natural biopolymers in crustaceans and fungi. Chitosan is used extensively as raw materials in various industries. The study aimed to extract chitin and chitosan from windu shrimp shells through deproteinization, demineralization, decolorization and deacetylation reactions. The yields of chitin and chitosan which were produced successively were 60,5 % and 63,0 %. The degree of deacetylation of chitosan from windu shrimp was 37,88 % for chitin and then 53,25 % for chitosan. The analysis of FTIR chitin spectrum showed some major peaks at wavelength 3554,45 cm^{-1} indicating secondary bending amide and secondary amine (NH) vibration at wave number 1670,35 cm^{-1} and 1427,32 cm^{-1} indicating stretch vibration of CH. The results of FTIR spectroscopy analysis showed a symmetrical stretch vibration at 3302,20 cm^{-1} due to overlapping of OH and amine (NH), stretching vibration 1577,71 cm^{-1} caused by propagation C = O stretching (amide I) and stretch vibration 1666,30 cm^{-1} indicating secondary amide. The results of characterization by infrared spectroscopy showed that the extraction compound was chitin and chitosan.

Key words : Isolation, identification, windu shrimp skin, chitin, chitosan, infrared spectroscopy.

PENDAHULUAN

Kulit udang pada umumnya termasuk udang windu mengandung protein (25 – 40 %), kitin (15 – 20 %) dan kalsium karbonat (45 – 50 %). Kandungan kitin pada limbah kulit udang sekitar 20 – 50 % berat kering (Suardi dalam Mardiyah K 2011). Senyawa kitin adalah biopolimer terbanyak setelah selulosa. Keberadaan kitin di alam mencapai 10^{11} ton/tahun dan merupakan senyawa organik terbanyak di dunia (Kurita 2006). Polimer kitin

tersusun dari monomer-monomer; 2-asetamida-2-deoksi-D-Glukosa (N-asetil glukosamin) (Horton 2002). Ikatan antara monomer kitin adalah ikatan glikosida pada posisi β - (1-4). Kitin menjadi salah satu potensi yang layak untuk dikembangkan karena potensi pemanfaatannya yang besar dalam dunia industri. Kendala utama di industri adalah kitin kurang dapat dimanfaatkan karena sifat fisiknya yang sukar larut dalam air dan kereaktifannya yang rendah, untuk mengatasinya kitin dapat diubah secara kimia menjadi kitosan dengan menggunakan

larutan basa kuat. Struktur kimia senyawa kitin disajikan pada Gambar 1 Sintesis kitosan meliputi penghilangan protein (deproteinisasi) dan kandungan mineral (demineralisasi), yang masing-masing dilakukan dengan menggunakan larutan basa dan asam.

Produk kitosan hasil sintesis diperoleh setelah melalui proses deasetilasi dengan cara dipanaskan dalam larutan basa (Tolaimatea *et al.* 2003; Mardiyah 2011). Kitosan merupakan polimer yang tersusun dari kopolimer dari glukosamin dan N-asetilglukosamin. Struktur kitosan diilustrasikan pada Gambar 2. Kitosan disebut juga poli (1,4)-2-amina-2-deoksi- β -D-glukosa.

Kitosan telah banyak diaplikasikan diberbagai bidang industri seperti kedokteran, farmasi, dan pengolahan pangan. Kitosan pertama kali ditemukan pada tahun 1859 oleh Rouquet dengan cara mendidihkan kitin dalam larutan potasium hidroksida (Li *et al.* 1997).

Kitosan [poli-(2-amino-2-deoksi- β -(1-4)-D-glukopiranososa)] adalah merupakan senyawa poli aminosakarida yang disintesis melalui penghilangan sebagian gugus 2-asetil dari kitin [poli(2-asetamido-2-deoksi- β -(1-4)-D glukopiranososa)], biopolimer linear dengan 2000-5000 unit monomer, saling terikat dengan ikatan glikosidik β -(1-4). Kitosan (C₆H₁₁NO₄)_n adalah senyawa yang berbentuk padatan amorf berwarna putih kekuningan, bersifat polielektrolit. Umumnya larut dalam asam organik, pH sekitar 4 – 6,5; tidak larut pada pH yang lebih rendah atau lebih tinggi. Kelarutan dipengaruhi oleh bobot molekul dan derajat deasetilasi (Mima *et al.* 1983).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi senyawa kitin dan kitosan dari kulit udang windu serta melakukan identifikasi senyawa kitin dan kitosan dengan menggunakan spektroskopi inframerah.

METODE PENELITIAN

Ruang lingkup

Penelitian ini dilakukan dengan metode observatif dan eksperimental yang meliputi: isolasi senyawa kitin dan kitosan dan identifikasi sifat kimiawi senyawa kitin dan kitosan dengan menggunakan spektroskopi inframerah. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Proses, Balai Riset dan Standarisasi Industri Ambon dan Laboratorium Instrumen, Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong.

Bahan dan Alat

Bahan penelitian yang digunakan adalah : Bahan baku : limbah kulit udang windu

dari PT Wahana Lestari Investama, Kecamatan Wahai, Kabupaten Maluku Tengah, NaOCl teknis, NaOH, HCl teknis, dan akuades.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Ekstraktor, neraca timbang, pH meter, spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*).

Isolasi kitin dan kitosan dari limbah kulit udang windu. (Metode Hong) (Salami 1998)

Proses isolasi senyawa kitin dan kitosan dengan menggunakan metode Hong (Salami 1998) dengan prosedur sebagai berikut ; limbah kulit udang dicuci dengan air hingga bersih, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari, kemudian dihaluskan (dicacah) untuk mendapatkan ukuran sebesar 50 mesh.

Deproteinasi. (Metode Hong) (Salami 1998)

Alat ekstraksi diisi dengan kurang lebih 7 Kg limbah kulit udang yang telah ditambahkan larutan NaOH 3,5 % dengan perbandingan 10 : 1 (v/b), kemudian dipanaskan dalam ekstraktor selama 2 jam pada suhu 65 °C. Setelah dingin, disaring dan dinetralkan dengan akuades. Padatan yang diperoleh dikeringkan dalam ekstraktor tanpa pelarut pada suhu 60 °C hingga kering.

Demineralisasi. (Metode Hong) (Salami 1998)

Kulit udang produk hasil deproteinasi 4,2 kg ditambah larutan asam kuat, HCl 1 N dengan perbandingan 15 : 1 (v/b) dimasukkan dalam ekstraktor pada suhu 60 °C selama 30 menit, kemudian didinginkan. Proses selanjutnya disaring dan padatan dinetralkan dengan akuades, kemudian dikeringkan dalam ekstraktor tanpa pelarut pada suhu 60 °C.

Dekolorisasi. (Metode Hong) (Salami, 1998)

Reaksi dekolerasi dilakukan dengan larutan NaOCl 0,315 % ditambahkan kedalam produk hasil demineralisasi dengan perbandingan 10 : 1 (v/b) dalam ekstraktor selama 1 jam pada suhu 40 °C, kemudian padatan disaring dan dinetralkan dengan akuades. Padatan hasil penetralan dikeringkan pada ekstraktor pada suhu 80 °C sampai berat tetap.

Deasetilasi (Metode Knorr) (Salami, 1998)

Reaksi isolasi kitosan selanjutnya adalah proses deasetilasi 2,70 kg kitin dengan mengikuti metode Knorr (Salami 1998) yaitu dengan menambahkan NaOH 60 % dengan perbandingan 20 : 1 (v/b) dan dimasukkan kedalam ekstraktor pada suhu 80 – 100 °C selama 1 jam. Setelah dingin disaring dan

padatan yang diperoleh dinetralkan dengan akuades. Padatan kemudian dikeringkan dalam ekstraktor tanpa larutan pada suhu 80 °C selama 24 jam dan kitosan siap dianalisis.

Penentuan Derajat Deasetilasi (DD) berdasarkan Spektrum FTIR (Metode Domszy dan Robers) (Khan 2002) .

Metode kuantitatif menggunakan spektrofotometri infra merah dapat dilakukan dengan cara menghitung % transmisi atau absorbansi. Perhitungan derajat deasetilasi (DD %) dari spektra infra merah pada kitin dan kitosan dapat dilakukan dengan cara membandingkan absorbansi pada bilangan gelombang untuk gugus amida-NH (1650-1500) cm^{-1} (A 1655) dengan absorbansi pada bilangan gelombang untuk gugus amina primer (3500-3200) cm^{-1} (A 3450), dengan nilai absorbansi 1,33 pada proses deasetilasi sempurna (Bastaman 1989)

Persamaan yang dipakai adalah sbb :

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

Dimana :

A1665 = Absorbansi pada bilangan gelombang 1665 cm^{-1}

A3450 = Absorbansi pada bilangan gelombang 3450 cm^{-1}

1,33 = Tetapan yang diperoleh dari perbandingan A1665/A3450 untuk kitosan dengan asetilasi penuh

Identifikasi senyawa kitin dan kitosan secara kimia

Identifikasi senyawa kitin dan kitosan secara kimia meliputi analisis secara instrumentasi kimia yaitu dengan menggunakan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi kitin dari limbah kulit udang

Sumber utama bahan baku untuk produksi kitin adalah kutikula dari berbagai jenis krustasea, terutama kepiting dan udang. Pada krustasea atau kerang yang lebih spesifik, kitin ditemukan sebagai penyusun jaringan kompleks dengan protein dimana deposit kalsium karbonat membentuk tempurung yang kaku. Interaksi antara kitin dan protein sangat intim dan ada juga sebagian kecil protein yang terlibat dalam kompleks protein polisakarida (Jonson *et al.* 1989; Islem *et al.* 2015).

Dengan demikian, isolasi kitin dari kulit udang memerlukan pengeluaran dua penyusun utama kulit, yaitu protein melalui deproteinisasi dan kalsium karbonat anorganik melalui demineralisasi, bersamaan dengan sejumlah kecil pigmen dan lipid yang umumnya dikeluarkan selama dua tahap sebelumnya.

Dalam beberapa kasus, langkah dekolourisasi tambahan diterapkan untuk menghilangkan sisa pigmen. Banyak metode telah diusulkan dan digunakan selama bertahun-tahun untuk menyiapkan kitin murni; Namun, tidak ada metode standar yang diterapkan. Baik deproteinisasi dan demineralisasi dapat dilakukan dengan menggunakan metode kimiawi atau enzimatik. (Islem *et al.* 2015)

Isolasi kitin yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode Hong (Salami 1998), meliputi deproteinasi, demineralisasi dan dekolourisasi. Tahapan deproteinasi dilakukan dengan menambahkan NaOH encer, protein akan larut dengan adanya NaOH

Deproteinisasi (Metode Hong) (Salami 1998)

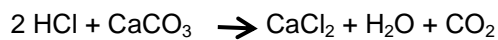
Proses deproteinisasi memiliki tingkat kesulitan karena terkait kuatnya ikatan kimia antara kitin dan protein. Deproteinisasi dilakukan secara heterogen dengan menggunakan bahan kimia yang juga mendepolimerisasi biopolimer. Pengambilan protein secara keseluruhan sangat penting untuk aplikasi biomedis, karena persentase populasi manusia alergi terhadap kerang, penyebab utamanya adalah komponen protein (Percot *et al.* 2003; Islem 2015).

Proses kimia adalah pendekatan pertama yang digunakan dalam deproteinisasi. Berbagai bahan kimia telah diuji sebagai *reagen* deproteinisasi adalah NaOH, Na_2CO_3 , NaHCO_3 , KOH, K_2CO_3 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, Na_2SO_3 , NaHSO_3 , CaHSO_3 , Na_3PO_4 dan Na_2S . Kondisi reaksi sangat bervariasi dalam setiap penelitian. NaOH adalah pereaksi preferensial dan diaplikasikan pada konsentrasi mulai dari 0,125 sampai 5,0 M, pada suhu yang bervariasi (sampai 160 °C) dan lama proses (dari beberapa menit sampai beberapa hari). Selain deproteinisasi, penggunaan NaOH selalu menghasilkan deasetilasi parsial kitin dan hidrolisis penurunan biopolimer (Islem *et al.* 2015).

Pada penelitian ini proses deproteinisasi dilakukan dengan menggunakan pelarut NaOH 3,5 % direaksikan dalam ekstraktor selama 2 jam pada suhu reaksi 65 °C. Protein yang dapat dikeluarkan dari kulit udang adalah sebesar 30 % dari 7 Kg kulit udang.

Demineralisasi

Pada tahapan demineralisasi, produk hasil deproteinisasi direaksikan kembali dengan larutan HCl 1 N selama 30 menit pada suhu 60 °C. Demineralisasi bertujuan untuk penghilangan mineral, terutama kalsium karbonat. Demineralisasi umumnya dilakukan dengan perlakuan asam dengan HCl, HNO₃, H₂SO₄, CH₃COOH dan HCOOH (Percot *et al.* 2003; Islem *et al.* 2015). Di antara asam ini, pereaksi preferensial adalah asam hidroklorida encer. Demineralisasi mudah dicapai karena melibatkan dekomposisi kalsium karbonat ke dalam garam kalsium yang larut dalam air dengan pelepasan karbon dioksida seperti yang ditunjukkan pada persamaan berikut:



Gelembung gas CO₂ dalam proses reaksi merupakan indikator berlangsungnya reaksi HCl dengan garam mineral yang terdapat dalam limbah kulit udang yang masih melewati proses deproteinisasi. Selanjutnya terbentuk banyak buih dan gelembung udara dengan volume yang cukup besar, dan hal ini berlangsung selama kurang lebih 5 - 10 menit. Hal ini disebabkan oleh terbentuknya gas CO₂ dan H₂O di permukaan larutan berdasarkan reaksi demineralisasi. (Bastaman 1989).

Sebagian besar mineral lainnya ada dalam kulit udang bereaksi dan menjadi garam terlarut dengan adanya asam. Kemudian, garam terlarut dapat dengan mudah dipisahkan dengan menggunakan proses penyaringan fasa padat kitin diikuti dengan pencucian dengan menggunakan air. (Shahidi *et al.* 2001)

Rendemen produk hasil demineralisasi adalah sebesar 60,5 %. Rendemen limbah kulit udang yang telah mengalami demineralisasi menunjukkan nilai yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan tepung kulit udang windu (48,57 % b/b) (Saleh *et al.* 1999). Pada penelitian yang dilakukan oleh Minda Azhar dkk, rendemen kitin yang diperoleh adalah sebesar 20,72 %. (Minda *et al.* 2010).

Hal ini kemungkinan disebabkan perbedaan lamanya pemanasan selama proses demineralisasi dan suhu reaksi. Keduanya dilarutkan masing-masing dalam larutan asam klorida 1 N, setelah itu dipanaskan pada suhu berbeda pada 60 °C, penelitian ini dan pada penelitian Minda Azhar dkk direndam dalam larutan Na₂S₂O₄ tanpa pemanasan selama tiga jam. Selama proses demineralisasi, senyawa kalsium akan bereaksi dengan asam klorida yang larut dalam air (Bastaman 1989).

Protein, lemak, fosfor, magnesium dan besi turut terbuang dalam proses ini.

Dekolorisasi Kitin

Senyawa karoten, beberapa komponen astacene, asthaxantin, chataxanthin dan lutein, merupakan pembentuk warna kulit udang (Robert 1992), Senyawa ini dihilangkan dari kulit udang dengan *bleaching* dengan Na₂S₂O₄ atau dengan NaOCl. Pada penelitian ini dilakukan proses dekolerasi dengan menggunakan larutan NaOCl 0,31 % direndam pada suhu kamar selama 1 jam. Proses selanjutnya adalah gugus asetil pada kitin dilepaskan yang dikenal dengan reaksi deasetilasi kitin.

Deasetilasi

Asam atau alkali dalam pandangan kimia dapat digunakan untuk reaksi deasetilasi kitin. Namun, ikatan glikosidik sangat rentan terhadap asam, oleh karena itu, reaksi deasetilasi dengan alkali lebih sering digunakan (Hajji *et al.* 2014). Reaksi deasetilasi kitin dilakukan melalui cara heterogen, atau homogen (Chang *et al.* 2004; Hajji *et al.* 2014). Reaksi deasetilasi kitin pada dasarnya adalah merupakan reaksi pengubahan gugus asetil (-NHCOCH₃) pada kitin menjadi gugus amina (-NH₂). (Minda *et al.* 2010)

Pada penelitian ini, reaksi deasetilasi kitin dilakukan dengan menggunakan larutan basa kuat NaOH 60 %, dengan variasi waktu deasetilasi selama 1; 1,5 dan 2 jam dengan suhu reaksi 80 °C. Rendemen kitosan dihitung berdasarkan berat kitosan yang dihasilkan dibagi dengan berat kitin yang dipergunakan pada awal reaksi. Rendemen kitosan yang diperoleh sebesar 63,0 %.

Mekanisme reaksi deasetilasi kitin yang terjadi pada larutan basa. Karbon karbonil suatu senyawa ester dalam larutan basa dapat diserang oleh suatu nukleofil yang baik tanpa protonasi sebelumnya (Minda 2010). Proses deasetilasi gugus asetil pada asetamida kitin dapat dijelaskan sebagai berikut: gugus karbon karbonil diserang oleh nukleofil OH⁻, akibatnya terjadi reaksi adisi sehingga terbentuk zat antara. Zat antara ini selanjutnya mengalami reaksi eliminasi sehingga gugus asetil pada asetamida kitin lepas membentuk asetat (Minda *et al.* 2010)

Karakterisasi Kitin dan Kitosan dengan spektroskopi infra merah

Kitin dan kitosan hasil dari ekstraktor dapat diidentifikasi dengan menggunakan spektroskopi inframerah yang bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi karakteristiknya.

Spektroskopi inframerah (IR) adalah salah satu teknik analisis yang penting dan telah banyak digunakan. Tersedia untuk ilmuwan yang mengerjakan analisis senyawa bahan alam seperti kitin dan kitosan.

Spektroskopi infra merah didasarkan pada vibrasi atom dalam suatu molekul. Spektrum inframerah diperoleh dengan melewati radiasi elektromagnetik inframerah melalui sampel yang memiliki momen dipol permanen atau diinduksi dan menentukan fraksi apa yang ada dalam sampel berdasarkan radiasi penyerapan pada energi dengan panjang gelombang tertentu (Stuart *et al.* 2004; Jolanta 2010).

Energi setiap puncak pada spektrum penyerapan sesuai dengan frekuensi vibrasi molekul, sehingga memungkinkan untuk mengidentifikasi kualitatif jenis ikatan tertentu dalam sampel. Spektrometer infra merah biasanya mencatat energi radiasi elektromagnetik yang ditransmisikan melalui sampel sebagai fungsi dari panjang gelombang atau frekuensi spektrum total dianalisis dengan proses interferensi dan diubah menjadi rentang frekuensi atau panjang gelombang dengan proses matematika yang dikenal sebagai Transformasi Fourier.

Spektroskopi infra merah Fourier-Transform (FTIR) telah meningkatkan secara dramatis kualitas spektrum inframerah dan meminimalkan waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan data (Smith *et al.* 1996; Jolanta 2010).

Spektrum FTIR biasanya tercatat di tengah inframerah (4000 cm^{-1} sampai 400 cm^{-1}) dengan resolusi dari 4 cm^{-1} dalam mode absorbansi untuk 8 sampai 128 pemindaian pada suhu kamar. Sampel untuk FTIR disiapkan dengan cara menggiling bubuk campuran kering dengan bubuk KBr, seringkali dengan perbandingan 1 : 5 (Contoh : KBr) lalu ditekan untuk membentuk cakram.

Identifikasi senyawa kitin

Produk hasil kitin yang diperoleh setelah kulit udang melewati proses reaksi deproteinisasi, demineralisasi dan dekolorisasi, dikarakterisasi dengan menggunakan spektroskopi infra merah (FTIR) dan kemudian dibandingkan dengan spektrum FTIR kitin standar (Gambar 4).

Spektrum FTIR dari kitin standar mengandung sepuluh puncak utama pada kisaran 690,99; 752,33; 896,28; 1026,33; 1073,93; 1418,74; 1661,50; 2886,81; 2961,32; 3268,63; dan $3436,35\text{ cm}^{-1}$ (Gambar 4); Sedangkan spektrum FTIR hasil penelitian ini

juga mencatat jumlah puncak yang sama yang berada di antara $834,54$ dan $3554,45\text{ cm}^{-1}$ (Gambar 3).

Menurut Burner dkk, kitin alami terbentuk terutama sebagai α -kitin dan β -kitin. Deskripsi dan penafsiran spektrum infra merah senyawa kitin ini telah banyak dipublikasikan para ilmuwan (Bruner *et al.* 2009). Spektrum inframerah kitin menampilkan serangkaian pita serapan sempit, khas dari kristal sampel polisakarida. Daerah vibrasi peregangan C = O pada bagian amida, antara bilangan gelombang 1700 dan 1500 cm^{-1} , menghasilkan pita serapan yang berbeda untuk α -kitin dan β -kitin. Untuk α -kitin, pita amida I terpecah menjadi dua komponen pada 1660 dan 1630 cm^{-1} (karena pengaruh ikatan hidrogen atau adanya bentuk enol dari bagian amida (Burner *et al.* 2009), sedangkan untuk β -kitin pada 1630 cm^{-1} . Pita amida II diamati pada kedua spektrum kitin: pada 1558 cm^{-1} untuk α -kitin dan 1562 cm^{-1} untuk β -kitin (Focher *et al.* 1992; Jolanta *et al.* 2010).

Penanda karakteristik lainnya adalah deformasi C-H dari ikatan β -glikosidik. Pita ini bergeser dari 890 cm^{-1} pada β -kitin menjadi 895 cm^{-1} pada α -kitin. Spektrum inframerah β -kitin mengungkapkan dua ikatan tambahan untuk deformasi CHx sekitar 1455 dan 1374 cm^{-1} dan sejumlah besar pita yang lebih sempit di daerah vibrasi peregangan C-O-C dan C-O (1200 - 950 cm^{-1}) tidak diamati pada β -kitin, seperti ditunjukkan pada Gambar 3, spektrum FTIR dari kitin yang diisolasi dari kulit udang pada penelitian ini, mengkonfirmasi bahwa kitin ini menyerupai β -kitin daripada α -kitin.

Karakteristik pita pada spektrum inframerah kitin hasil penelitian dan kitin standar ditampilkan pada Tabel 1. Perbandingan nilai absorbansi untuk pita spektrum inframerah pada bilangan gelombang $1670,35\text{ cm}^{-1}$ pada spektrum kitin hasil ekstraksi dengan $1661,50\text{ cm}^{-1}$ pada spektrum kitin standar, menunjukkan adanya vibrasi peregangan ikatan N-H yang mengindikasikan gugus amina sekunder. Silverstein menjelaskan bahwa salah satu serapan karakteristik untuk senyawa kitin adalah adanya serapan peregangan lemah pada daerah 1650 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C = O pada ikatan (-NHCOCH₃) (Silverstein 1986).

Pita serapan pada bilangan gelombang $3554,45\text{ cm}^{-1}$ pada spektrum kitin hasil ekstraksi merupakan vibrasi pembengkokan ikatan N-H yang mengindikasikan adanya gugus amida sekunder. Pola pita serapan ini sama dengan yang diperlihatkan pada spektrum kitin standar yaitu pada bilangan gelombang $3436,35\text{ cm}^{-1}$.

Pita serapan pada $2879,72\text{ cm}^{-1}$ pada kitin hasil ekstraksi dan $2886,81\text{ cm}^{-1}$ pada kitin standar menunjukkan adanya vibrasi peregangan simetri ikatan C-H alifatik. Penanda karakteristik lainnya adalah pita serapan pada bilangan gelombang $1427,32\text{ cm}^{-1}$ pada spektrum inframerah kitin hasil penelitian ini menunjukkan adanya vibrasi peregangan ikatan C-N yang mengindikasikan adanya gugus amina alifatik. Pada spektrum kitin standar juga menunjukkan penyerapan pada daerah panjang gelombang yang sama yaitu $1418,74\text{ cm}^{-1}$. Menurut silverstein salah satu serapan karakteristik untuk senyawa kitin adalah adanya serapan peregangan pada daerah 1310 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C - N pada ikatan (-NHCOCH₃) (Silverstein 1986)

Adanya ikatan C-O pada kitin hasil ekstraksi dapat ditunjukkan dengan adanya vibrasi ulur pada bilangan gelombang $1096,57\text{ cm}^{-1}$, pada spektrum kitin standar juga menunjukkan pola penyerapan yang sama pada bilangan gelombang $1073,93\text{ cm}^{-1}$. Adanya ikatan C-O-C pada spektrum kitin hasil ekstraksi dinyatakan dengan vibrasi regangan pada daerah bilangan gelombang $896,90\text{ cm}^{-1}$. Pola yang sama juga terjadi pada spektrum kitin standar, adanya vibrasi regangan pada daerah bilangan gelombang $896,28\text{ cm}^{-1}$.

Salah satu tanda bahwa senyawa kitin adalah adanya vibrasi ulur pada daerah bilangan gelombang $834,54\text{ cm}^{-1}$, yang mengindikasikan ikatan β -1,4-glikosidik. Pada spektrum kitin standar juga menunjukkan pola yang sama. Dengan adanya penyerapan spektrum utama pada daerah bilangan gelombang tertentu yang menunjukkan adanya gugus fungsi tertentu yang mengindikasikan bahwa senyawa hasil ekstraksi adalah kitin.

Identifikasi senyawa kitosan

Produk hasil kitosan yang diperoleh setelah kitin melewati proses reaksi deasetilasi, dikarakterisasi dengan menggunakan spektroskopi infra merah (FTIR) dan kemudian dibandingkan dengan spektrum inframerah kitosan standar (Gambar 6).

Spektrum inframerah kitosan standar menunjukkan dua belas puncak utama pada kisaran $897,41$; $1026,63$; $1077,93$; $1154,64$; $1259,54$; $1422,73$; $1587,94$; $1660,55$; $2361,41$; $2922,85$; $2922,85$ dan $3377,95\text{ cm}^{-1}$; sedangkan sampel kitosan dari hasil penelitian mencatat puncaknya mulai dari panjang gelombang $854,97$; $1045,42$; $1132,23$; $1161,56$; $1255,56$; $1382,13$; $1577,71$; $1666,30$; $2013,58$; $2801,50$; $3064,89$ dan sampai 3302 cm^{-1} .

Karakteristik pita serapan spektrum inframerah senyawa kitosan hasil penelitian dan kitosan standar ditunjukkan pada Tabel 2. Pita serapan dari spektrum inframerah kitosan hasil penelitian pada bilangan gelombang $3302,20\text{ cm}^{-1}$, menunjukkan adanya vibrasi pembengkokan gugus OH dan NH. Pada spektrum inframerah kitosan standar juga terdapat serapan di bilangan gelombang $3377,95\text{ cm}^{-1}$.

Vibrasi peregangan pada bilangan gelombang $1666,30\text{ cm}^{-1}$ merupakan pita serapan gugus ikatan C=O yang menunjukkan adanya gugus amida sekunder, sedangkan pita serapan $3064,89\text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi pembengkokan gugus OH dan gugus NH₂. Pola pita serapan ini sama dengan yang diperlihatkan pada spektrum kitosan standar yaitu pada bilangan gelombang $1660,55\text{ cm}^{-1}$ dan $2922,85\text{ cm}^{-1}$. Menurut silverstein dkk, salah satu serapan karakteristik untuk senyawa kitosan adalah adanya serapan peregangan lemah pada daerah 1650 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C = O pada ikatan (-NHCOCH₃) (Silverstein *et al.*1989)

Pita serapan pada $2801,50\text{ cm}^{-1}$ pada kitosan hasil ekstraksi dan $2922,85\text{ cm}^{-1}$ pada kitosan standar menunjukkan adanya vibrasi peregangan simetris ikatan C-H. Pita serapan pada bilangan gelombang $1577,71\text{ cm}^{-1}$ pada spektrum inframerah kitosan hasil penelitian menunjukkan adanya vibrasi peregangan ikatan C=O yang mengindikasikan adanya gugus karbonil. Pada spektrum kitosan standar juga menunjukkan penyerapan pada daerah bilangan gelombang yang sama yaitu $1587,94\text{ cm}^{-1}$.

Adanya ikatan antara C-O pada kitosan hasil ekstraksi dapat ditunjukkan dengan adanya vibrasi peregangan simetris pada bilangan gelombang $1255,56\text{ cm}^{-1}$ dan $1132,23\text{ cm}^{-1}$. Pada spektrum kitosan standar juga menunjukkan pola penyerapan yang sama pada bilangan gelombang $1154,64\text{ cm}^{-1}$ dan $1077,93\text{ cm}^{-1}$. Salah satu tanda bahwa senyawa kitosan adalah adanya vibrasi ulur pada daerah bilangan gelombang $854,97\text{ cm}^{-1}$, yang mengindikasikan adanya ikatan β -1,4-glikosidik. Pada spektrum kitin standar juga menunjukkan adanya vibrasi ulur pada bilangan gelombang $897,41\text{ cm}^{-1}$.

Berdasarkan analisis karakteristik spektrum inframerah yang dibandingkan dengan spektrum kitosan standar menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua spektrum. Adanya spektrum utama pada daerah panjang gelombang tertentu yang menunjukkan adanya gugus fungsi utama yang mengindikasikan bahwa senyawa hasil reaksi deasetilasi dalam penelitian adalah kitosan.

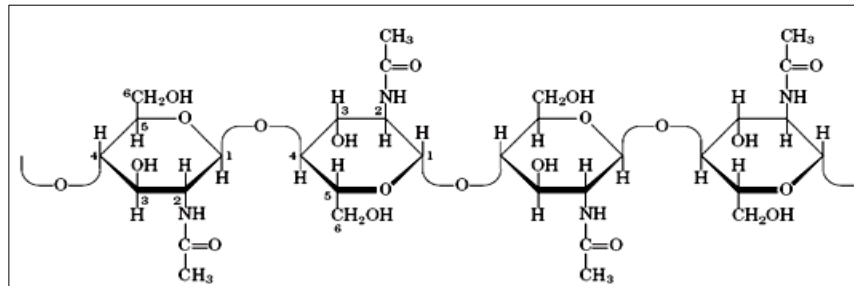
Berdasarkan spektrum inframerah dapat diperkirakan bahwa telah terjadi perubahan senyawa kitin menjadi kitosan. Spektrum kitosan yang diperoleh diperlihatkan pada Gambar 6. Spektrum kitosan menginformasikan adanya pita serapan pada bilangan gelombang $3302,20\text{ cm}^{-1}$ sebagai hasil dari vibrasi pembengkokan gugus OH. Lebarnya serapan dan pergeseran bilangan gelombang gugus OH ini disebabkan adanya tumpang tindih dengan gugus NH dari amina. Serapan pada bilangan gelombang $2801,50\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan gugus C-H dari alkana yaitu menunjukkan vibrasi peregangan gugus CH_2 . Hilangnya gugus metil (CH_3) yang terikat pada amida (NHCOCH_3) dapat diketahui dari hilangnya serapan pada bilangan gelombang $2982,65\text{ cm}^{-1}$ serta hilangnya gugus C=O suatu amida (NHCO) diketahui dari hilangnya pita serapan yang terdapat pada bilangan gelombang $1670,35\text{ cm}^{-1}$. Serapan khas kitosan terlihat pada bilangan gelombang $1666,30\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi peregangan N-H dari amida (Silverstein *et al.*1989).

Perbedaan spektra FTIR antara kitin hasil penelitian dan kitin standar sebagai berikut : Terjadinya kenaikan intensitas pada bilangan gelombang $3489,23\text{ cm}^{-1}$ yang dapat diartikan terjadinya penurunan pada serapan OH intermolekuler, hal ini dikarenakan konsentrasi dari OH intermolekuler semakin lemah.

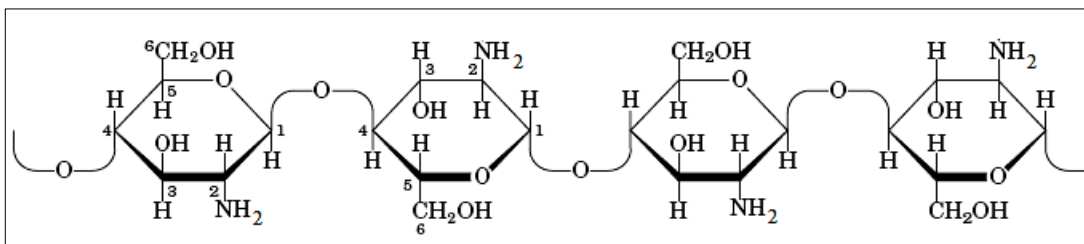
Adanya pergeseran daerah serapan vibrasi rentangan NH amida pada bilangan gelombang $3554,45\text{ cm}^{-1}$ dikarenakan adanya ikatan hidrogen di dalam molekul sehingga ikatan NH semakin panjang yang mengakibatkan bilangan gelombang bergeser ke kanan.

Bergesernya serapan gugus karbonil C=O amina sekunder pada bilangan gelombang $1670,35\text{ cm}^{-1}$ dikarenakan Ikatan hidrogen yang terjadi memperpanjang ikatan O-H yang asli, akibatnya ikatan C=O semakin panjang sehingga bilangan gelombang bergeser kekanan.

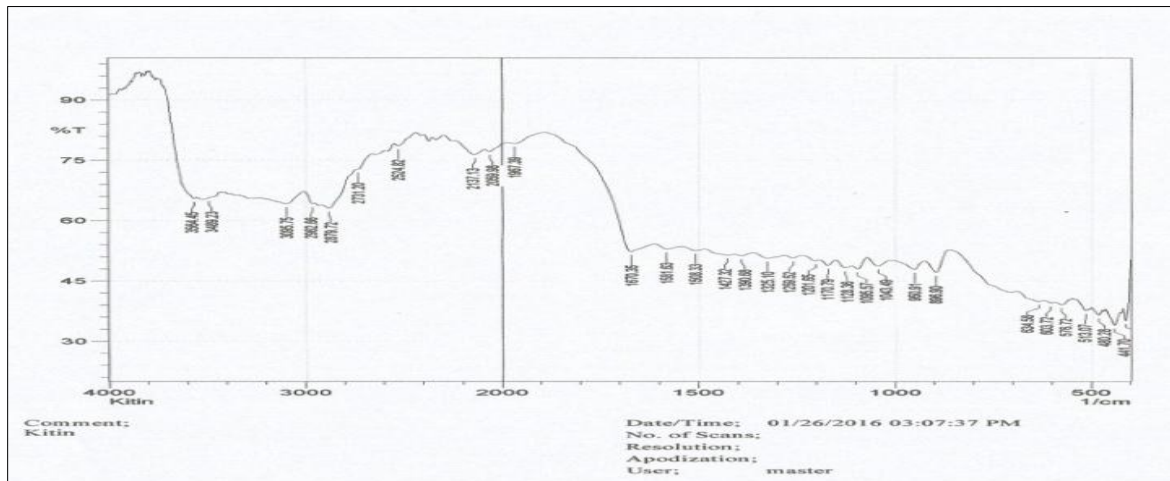
Adanya vibrasi NH amina primer pada bilangan gelombang $1043,49\text{ cm}^{-1}$ menyebabkan terbentuknya gugus amina primer. Tidak adanya serapan NH amina sekunder pada bilangan $1670,35\text{ cm}^{-1}$ merupakan akibat dari proses deproteinasi dengan larutan NaOH.



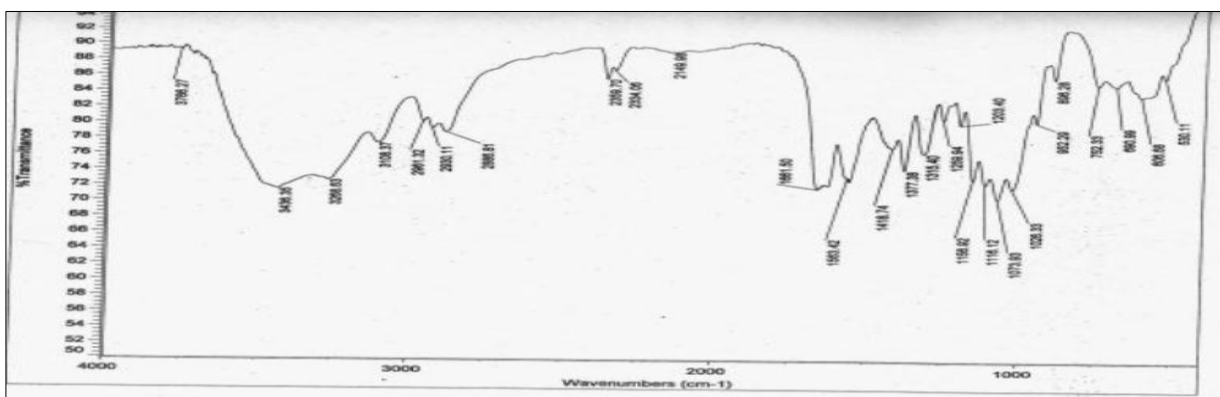
Gambar 1. Struktur molekul Kitin



Gambar 2. Struktur molekul Kitosan



Gambar 3. Spektrum FTIR Kitin

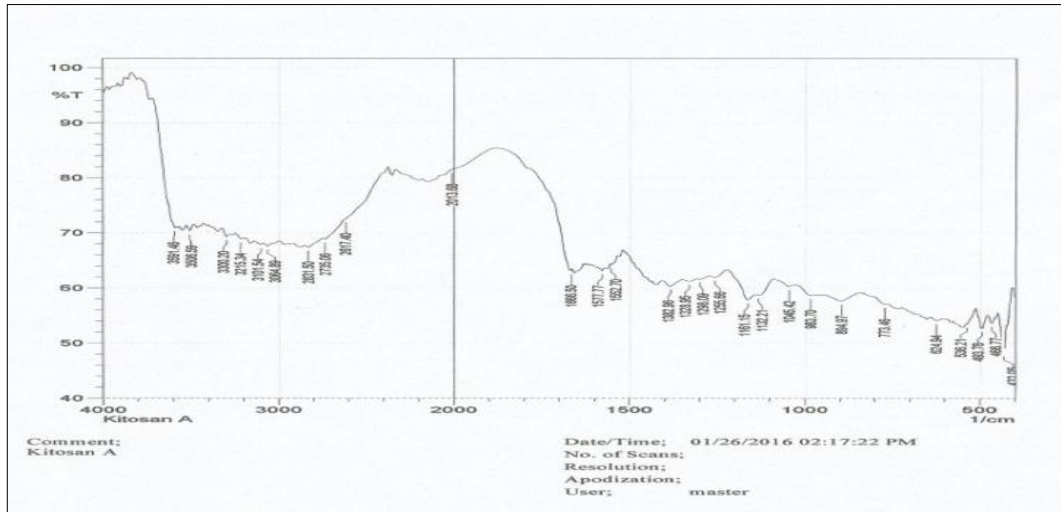


Gambar 4. Spektrum FTIR Kitin Standar

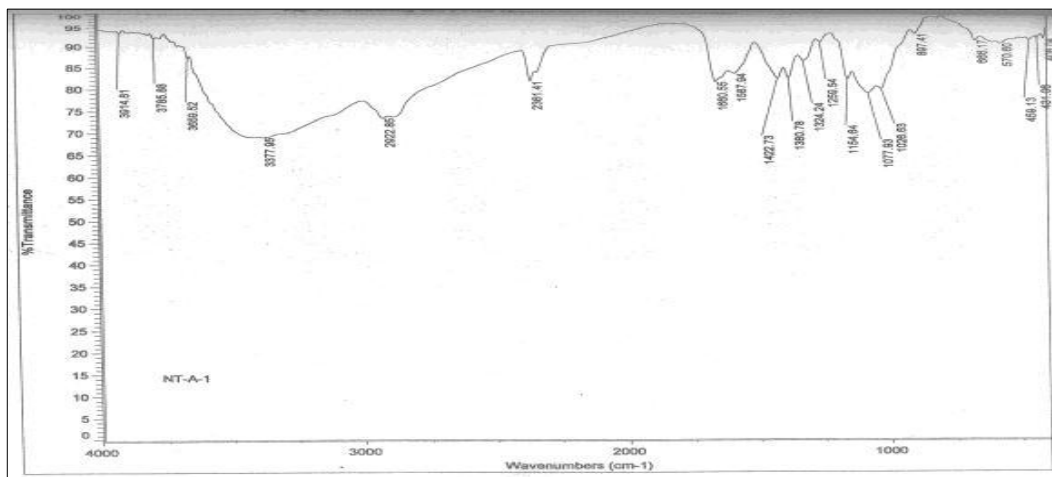
Tabel 1. Karakterisasi FTIR Kitin

No.	Gugus fungsi	Bilangan Gelombang, cm^{-1}	
		Kitin Standar	Kitin
1.	(vb) amida	3436,35	3554,45
2.	(vb) tumpang tindih OH	3268,63	3489,23
3.	(vs) CH alifatik	2961,32	2982,65
4.	(vs) CH alifatik	2886,81	2879,72
5.	(v) NH_2 [amina sekunder]	1661,50	1670,35
6.	(v) C-N [amina]	1418,74	1427,32
7.	(ω) C-O	1073,93	1096,57
8.	(v) NH [Amina primer]	1026,33	1043,49
9.	(v) C-O-C	896,28	896,90
10.	(ω) β -1,4-glikosidik	752,33	834,58

Keterangan: vb=vibrasi pembengkokan, vs=vibrasi peregangan simetri, v=vibrasi peregangan, ω = vibrasi ulur



Gambar 5. Spektrum FTIR kitosan



Gambar 6. Spektrum FTIR Kitosan Standar

Tabel 2. Karakterisasi Spektrum FTIR Kitosan

No.	Gugus fungsi	Bilangan Gelombang, cm^{-1}	
		Kitosan Standar	Kitosan
1.	(vb) O – H tumpang tindih (vs) N – H	3377,95	3302,20
2.	(vb) C – H alifatik	2922,85	3064,89
3.	(vs) C – H alifatik	2922,80	2801,50
4.	(vs) C-H aromatik	2361,41	2013,58
5.	(v) C = O [Amida sekunder]	1660,55	1666,30
6.	(v) C=O) Protonasi Amida sekunder	1587,94	1577,71
7.	(v) C – H	1422,73	1382,13
8.	(vs) C-O	1259,54	1255,56
9.	(vs) C–O	1154,64	1161,55
10.	v(C–O–C)	1077,93	1132,23
11.	v(C–O–C)	1026,63	1045,42
12.	ω β -1,4-glikosidik	897,41	854,97

Keterangan : v : vibrasi peregangan, vs: vibrasi peregangan simetris, vb : vibrasi pembengkokan, ω : vibrasi ulur

Derajat Deasetilasi (DD) Kitin dan Kitosan

Proses terjadinya reaksi deasetilasi kitin menjafi kitosan dapat dihitung berdasarkan spektra infra merah. Perhitungan derajat deasetilasi dari spektra infra merah kitin dan

kitosan dilakukan dengan cara membandingkan absorbansi pada bilangan gelombang untuk gugus amida $-\text{NHCO}$ (1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1}) dengan absorbansi pada bilangan gelombang untuk gugus amina primer $-\text{NH}_2$ (3500 cm^{-1} -

3200 cm⁻¹). Pada proses deasetilasi kitin yang sempurna, nilai absorbansi (A) untuk vibrasi gugus amida adalah 1,33 (Bastaman 1989).

Pada penelitian ini berdasarkan perbandingan tersebut diperoleh derajat deasetilasi kitin sebesar 37,88 % dan derajat deasetilasi kitosan sebesar 53,25 %. Menurut Baxter dkk (1992) dalam Duarte dkk (2005), menjelaskan bahwa jika derajat deasetilasi < 60 %, maka polimer disebut kitin dan apabila derajat deasetilasi > 60 %, maka polimer disebut kitosan.

Pendapat lain disampaikan oleh Brugnerotto dalam Duarte dkk. 2002, menyatakan bahwa; kitin terdeasetilasi < 50 % dan apabila > 50 % maka disebut kitosan. Derajat deasetilasi hasil isolasi kitosan dari kulit udang windu adalah 37,88 % untuk kitin dan 53,25 % untuk kitosan, dengan demikian hasil penelitian ini sudah sesuai dengan pernyataan diatas untuk kitin, sedangkan untuk kitosan sesuai dengan pernyataan Brugnerotto (2001).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penelitian ini telah berhasil mengisolasi senyawa kitin dan kitosan dari kulit udang melalui proses reaksi deproteinisasi dengan NaOH, demineralisasi dengan HCl, dekolonisasi dengan NaOCl dan deasetilasi dengan NaOH. Rendemen kitin dan kitosan yang dihasilkan secara berturut turut 60,5 % dan 63,0 %. Derajat deasetilasi hasil isolasi kitosan dari kulit udang windu adalah 37,88 % untuk kitin dan 53,25 % untuk kitosan. Hasil karakterisasi dengan spektroskopi inframerah menunjukkan bahwa senyawa hasil ekstraksi adalah kitin dan kitosan.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang karakterisasi senyawa kitin dan kitosan dengan menggunakan instrumentasi kimia lainnya seperti ¹H NMR, ¹³C NMR untuk memperoleh data struktur molekul kitin dan kitosan yang lebih valid.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Balai Riset dan Standarisasi Industri Ambon yang telah memberikan dana untuk pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Bastaman. 1989. *Studies on degradation and extraction of chitin and chitosan from*

prawn shells. England : The Queen University of Belfast.

Baxter, A., Dillon, M., Taylor, KD., Roberts, GAF. 1992. *Improved method for IR determination of the degree of N-acetylation of chitosan*. *Int J Biol Macromol* 14 : 166–169.

Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goyoolea, F., Arguelles-Monal, W., Desbrieres, J., Rinaudo, M. 2001. *An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization*. *Polymer* 42 : 3569–3580.

Brunner, E., Ehrlich, H., Schupp, P., Hedrich, R., Hunoldt, S., Kammer, M., Machill, S., Paasch, S., Bazhenov, V.V., Kurek, D.V., Arnold, T., Brockmann, S., Ruhnnow, M., Born, R. 2009. *Chitinbased scaffolds are an integral part of the skeleton of the marine demosponge *Lanthella basta**. *J.Struct. Biol* 168 : 539–547.

Chang, M. Y., Juang, R. S. 2004. *Adsorption of tannic acid, humic acid and dyes from water using the composite of chitosan and activated clay*. *Journal of Colloid and Interface Science* 278 : 18–25.

Duarte, M., Ferreira, M., Marvão, M., Rocha, J. 2002. *An optimized method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIR spectroscopy*. *Int J Biol Macromol* 31 : 1–8.

Fitri, K. 2005. Kajian adsorpsi dan desorpsi Ag (S₂O₃)₂³⁻ dalam limbah fotografi pada dan dari adsorben kitin dan asam humat terimobilisasi pada kitin, Tesis. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Indonesia

Focher, B., Naggi, A., Torri, G., Cosani, A., Terbojevich, M. 1992. *Structural differences between chitin polymorphs and their precipitates from solutions-evidence from CP-MAS 13CNMR, FT-IR and FT-Raman spectroscopy*. *Carbohydr Polym* 17 : 97–102.

Hajji, S., Younes, I., Ghorbel-Bellaaj, O., Hajji, R., Rinaudo, M., Nasri, M., Jellouli, K. 2014. *Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources*. *Int. J. Biol. Macromol* 65 : 298–306.

- Horton, R.H., Moran, L.A., Ochs, R.S., Rawn, J.D., Scrimgeour, K.G. 2002. *Principles of biochemistry*. Third edition. New York : Prentice-Hall, Inc.
- Islem, Y., Marguerite, R. 2015 *Chitin and chitosan preparation from marine sources. structure, properties and applications. Mar. Drugs* 13 : 1133-1174.
- Johnson, E.L., Peniston, Q.P. 1982. *Utilization of shellfish waste for chitin and chitosan production*. In *Chemistry & Biochemistry of Marine Food Products*; Martin, R.E., Flick, G.J., Hebard, C.E., Ward, D.R., Eds.; AVI Publishing Co.: Westport, CT, USA, 1982; Chapter 19, p. 415.
- Jolanta, K., Małgorzata, M., Zbigniew, K., Anna B., Krzysztof, B., Jorg, T., and Piotr, S. 2010. *Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. Mar. Drugs* 8 : 1567-1636.
- Jothi Na And Kunthavai Nachiyar Rb. 2014. Isolation and identification of chitin and chitosan from cuttle bone of *sepia prashadi* winckworth. *Int J Curr Sci* 11 : 18-25.
- Kurita K., Sugita, K., Kodaira, N., Hirakawa, M., Yang, Y. 2006. *Preparation and evaluation of trimethylated chitin as a versatile precursor for facile chemical modifications. Biomacromol* 6 : 1414-1418.
- Li, J., Du, Y.M., Liang, H.B., Yao, P.J., Wei, Y.A. 2006. *Effect of immobilized neutral protease on the preparation and physicochemical properties of low molecular weight chitosan and chito oligomers. J. Appl. Polym. Sci* 102 : 4185-4193.
- Mardiyah Kurniasih, Dwi Kartika. 2011. Sintesis dan karakterisasi fisika-kimia kitosan. *Jurnal Inovasi* 5 (1) : 42
- Mima, S., Miya, M., Iwamoto, R. and Yoshikawa, S. 1983. *J Appl Polym Sci.* 28 (6): 1909-1917
- Minda, A., Jon Efendi, Erda Syofyeni, Rahmi Marfa Lesi, dan Sri Novalina. 2010. Pengaruh konsentrasi NaOH dan KOH terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang. *Eksakta* 1 (11).
- Negreaa, P., Cauniib, A., Saracc, I., Butnariuc, M. 2015. *The study of infrared spectrum of chitin and chitosan extract as potential sources of biomass. Digest Journal Of Nanomaterials And Biostructures* 10 (4) : 1129 – 1138.
- Percot, A., Viton, C., Domard, A. 2015. *Characterization of shrimp shell deproteinization. Biomacromolecules* 4 : 1380-1385.
- Robert, G.A.F. 1992. *Chitin Chemistry*. London : The Macmillan Press Ltd.
- Salami, L. 1998. Pemilihan Metode isolasi kitin dan ekstraksi kitosan dari limbah kulit udang windu (*Peneaus monodon*) dan aplikasinya sebagai bahan koagulasi limbah cair industri tekstil. Skripsi Jurusan Kimia FMIPA UI. Jakarta.
- Saleh M, Agustin TA, Suptijah P, Heruwati ES. 1999. Pembuatan khitosan dari kulit udang windu (*Penaeus monodon*) dan uji koagulasi proteinnya. *JPPi* (3) : 72-77.
- Shahidi, F., Arachchi, JKV., Jeon, Y-J. 1999. *Food Applications of Chitin and Chitosans. Trends in Food Sci and Technol* 10.
- Silverstein, RM., Francis, XW., David, JK. 1989. *Spectrometric identification of organic compound*. Seventh Edition.
- Smith, B.C. 1996. *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA.
- Stuart, B.H. 2004. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications (Analytical Techniques in the Sciences (AnTs) *)*; Chichester, UK : John Wiley & Sons Ltd.
- Suhardi. 1993. *Kitin dan Kitosan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Yogyakarta : UGM.
- Tolaimate, A., Desbrieres J, Rhazi M, Alagui A 2003. *Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physic-chemical properties. Poly* 44 : 7939 - 7952.