

Isolation of Chitosan from Lake Toba Freshwater Lobster Shells (*Cherax quadricarinatus*)

Novita Yulianti Sinaga
Ridwanto Ridwanto*
Anny Sartika Daulay
Haris Munandar Nasution

Faculty of Pharmacy, Universitas
Muslim Nusantara Al-Washliyah,
Garu II A, Harjosari 1, Sumatera
Utara, 20147, Indonesia
*email: ridwanto@umnaw.ac.id

Keywords:

Chitosan
Freshwater lobster
FTIR spectrophotometry

Received: January 2024

Accepted: Februari 2024

Published: April 2024

Abstract

Chitosan is an amine polysaccharide that is formed after chitin undergoes a deacetylation process. This compound has a significant role as a natural biopolymer which is polycationic. This research aims to make chitosan from freshwater lobster shells obtained from Lake Toba. The research method is experimental. Includes making chitosan from freshwater lobster shells. The process of making chitosan includes demineralization, deproteination and deacetylation stages. Chitosan was characterized by measuring water content, ash content, yield, solubility, and analysis using an FTIR spectrophotometer. Based on the results of research that has been carried out, it was found that the characteristics of chitosan have a yield value of 50.88%, water content 5.9%, ash content 0.67% and chitosan dissolves in glacial acetic acid. The results of the research show that chitosan has similar functional groups to standard chitosan and the degree of deacetylation is 80.25%. This research has met the chitosan standard (SNI 7949:2013) with a percentage of the degree of deacetylation of chitosan that meets the standard (>60%).

PENDAHULUAN

Limbah kulit udang lobster menyediakan potensi besar sebagai sumber kitin dan kitosan. Kitin dapat dihasilkan dari kulit udang lobster melalui proses isolasi dengan deproteinasi dan demineralisasi (1). Kedua polimer karbohidrat ini memiliki berbagai aplikasi, termasuk penggunaan sebagai bahan tambahan makanan untuk mempertahankan tekstur dan sebagai pengemulsi makanan (2). Di bidang kedokteran, mereka digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka, krim penghalus kulit, dan sebagai bahan untuk benang bedah (3).

Karapas lobster air tawar mengandung kitin dan kitosan yang memiliki nilai ekonomi tinggi, dan produknya dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan. Kitosan memiliki lebih banyak kegunaan dan manfaat dibandingkan kitin, dapat digunakan

dalam prosesing makanan, pengobatan, bioteknologi, serta sebagai material menarik dalam aplikasi biomedis, farmasi, dan kosmetik (4). Sifat kitosan yang tidak toksik, biodegradabel, dan dapat dimodifikasi secara kimia dan fisika menjadi keunggulannya (5).

Kitosan berasal dari limbah kulit hewan *Crustacea* (lobster, udang, kepiting, rajungan), alga, fungi dan ragi (6). Limbah cangkang lobster selama ini jarang dimanfaatkan dan tidak digunakan oleh masyarakat yang tinggal di daerah Danau Toba Khususnya Kab.Simalungun, sehingga dapat menimbulkan masalah pencemaran lingkungan bila tidak diolah dengan benar. Salah satu upaya pencegahannya yaitu dengan memanfaatkan limbah cangkang lobster agar memiliki nilai ekonomis tinggi dan daya guna dengan mengolahnya menjadi kitin dan kitosan.

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang Isolasi Cangkang Lobster Air Tawar (*Cherax quadricarinatus*) Dari Perairan Danau Toba Haranggaol, Sumatera Utara

METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah belender (philips), beaker glass (pyrex), batang pengaduk (pyrex), pipet tetes, tabung reaksi (pyrex), erlenmeyer (pyrex), batang pengaduk, corong (pyrex), ayakan mesh 40, oven, tanur, neraca analitik, magnetic stirer, hot plate, sentrifugasi, pH elektroda, autoclaf, oven. Bahan kimia yang digunakan diantaranya adalah Cangkang lobster air tawar diambil dari perairan Danau Toba, Kabupaten Simalungun, NaOH, HCL, asam asetat glasial.

Sampel

Lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari perairan Danau Toba, Kecamatan Haranggaol Horisan, Kabupaten Simalungun, Provinsi Sumatera Utara.

Pembuatan Kitosan

Demineralisasi

Demineralisasi (penghilangan mineral) Serbuk cangkang yang telah dihaluskan hingga berukuran 40 mesh kemudian ditimbang sebanyak 100 gram lalu ditambahkan larutan HCl 1,5 N dengan perbandingan 1:15 (b/v). Campuran dipanaskan pada suhu 40-50°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan dengan kecepatan 50 rpm kemudian dilakukan sentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 2000 rpm, sehingga diperoleh dalam bentuk supersedimen. Padatan yang diperoleh dicuci dengan aquades untuk menghilangkan HCl yang tersisa. Filtrat terakhir yang diperoleh diuji dengan larutan AgNO₃, bila sudah tidak terbentuk endapan putih maka sisa ion Cl⁻ yang terkandung

sudah hilang. Selanjutnya padatan dikeringkan pada oven dengan temperatur 80°C selama 24 jam (7)

Deproteinasi

Serbuk cangkang yang didapatkan dari hasil demineralisasi ditambahkan larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 1:10 (b/v) pelarut dengan sampel. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 40-50°C selama 4 jam sambil dilakukan pengadukan dengan kecepatan 50 rpm kemudian dilakukan sentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 2000 rpm, sehingga diperoleh padatan dalam bentuk supersedimen. Filtrat terakhir yang diperoleh diuji dengan indikator PP, bila tidak terjadi perubahan warna merah bata maka sisa ion OH⁻ yang terkandung sudah hilang. Selanjutnya padatan disaring dan didinginkan sehingga diperoleh kitin yang kemudian dicuci dengan aquades. Padatan yang diperoleh dikeringkan dalam oven 80°C selama 24 jam (8).

Deasetilasi

Hasil yang diperoleh dari proses demineralisasi dan deproteinasi dilanjutkan dengan proses deasetilasi dengan menambahkan NaOH 60% dengan perbandingan 1:20 (b/v). Campuran diaduk dan dipanaskan pada suhu 40-50°C selama 4 jam dengan kecepatan pengadukan 50 rpm kemudian dilakukan sentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 2000 rpm, sehingga diperoleh padatan dalam bentuk supersedimen. Padatan yang diperoleh dinetralkan dengan aquades sampai pH netral. Padatan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam (9).

Karakterisasi Kitosan

Pemeriksaan karakterisasi kitosan dari cangkang lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) meliputi; pemeriksaan organoleptis, rendemen, kadar air, larutan kitosan.

Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan terhadap kitosan dari cangkang lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) dengan cara memperhatikan bentuk, bau, warna, dan rasa (10).

Penetapan Kadar Abu

Sebanyak 2 g serbuk simplisia yang ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam kurs porselin yang telah dipijar dan ditara, lalu diratakan. Kurs dipijar pada suhu 600°C sampai arang habis, dinginkan, dan ditimbang sampai diperoleh bobot tetap, kadar abu dihitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (11).

Penetapan Kadar Air

Kadar air merupakan salah satu parameter yang sangat penting untuk menentukan mutu kitosan. Protan Biopolimer menetapkan standar mutu untuk kadar air kitosan adalah <10%. Pengujian kadar air dapat dilakukan dengan metode AOAC cara pemanasan. Timbang sampel sebanyak 0,5 gr dalam cawan porselin atau gelas arloji yang telah diketahui beratnya.

b) Masukkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 1-2 jam tergantung bahannya. Kemudian didinginkan dalam desikator selama kurang lebih 30 menit dan ditimbang. Panaskan lagi dalam oven, didinginkan dalam desikator dan diulangi hingga berat konstan (12).

Kelarutan Kitosan

Kelarutan kitosan merupakan salah satu parameter yang dapat dijadikan sebagai standar penilaian mutu kitosan. Semakin tinggi kelarutan kitosan berarti mutu kitosan yang dihasilkan semakin baik. Dalam hal ini kitosan dilarutkan pada asam asetat glasial dengan konsentrasi 2 % dengan perbandingan 1:100 (g/ml) (11).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Kitin dan Sintesis Kitosan

Demineralisasi

Proses demineralisasi ini bertujuan untuk menghilangkan garam-garam anorganik atau kandungan mineral yang ada pada kulit lobster. Kandungan mineral utamanya adalah CaCO_3 dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dalam jumlah kecil, mineral yang terkandung dalam kulit lobster ini lebih mudah dipisahkan dibandingkan dengan protein karena hanya terikat secara fisik. Pada proses demineralisasi, dari 100 g tepung kulit lobster yang digunakan setelah proses diperoleh kitin sebanyak 32,95 g. Proses yang terjadi pada tahap demineralisasi adalah mineral yang terkandung dalam kulit lobster bereaksi dengan HCl sehingga terjadi pemisahan mineral dari kulit lobster tersebut. Proses pemisahan mineral ditunjukkan dengan terbentuknya gas CO_2 berupa gelembung udara pada saat larutan HCl ditambahkan dalam sampel, sehingga penambahan HCl ke dalam sampel dilakukan secara bertahap agar sampel tidak meluap.

Deproteinisasi

Proses ini bertujuan untuk memisahkan atau melepaskan ikatan-ikatan protein dari kitin. Pada tahap deproteinasi, protein yang terkandung dalam kulit lobster larut dalam basa sehingga protein yang terikat secara kovalen pada gugus fungsi kitin akan terpisah. Penggunaan larutan NaOH dengan konsentrasi dan suhu yang tinggi semakin efektif dalam menghilangkan protein dan menyebabkan terjadinya proses deasetilasi. Proses pengadukan dan pemanasan bertujuan untuk mempercepat pengikatan ujung rantai protein dengan NaOH sehingga proses degradasi dan pengendapan protein berlangsung sempurna. Pada proses deproteinasi terjadi pengurangan massa dari 32,95 g kulit lobster bebas mineral menjadi 22,60 g kulit lobster tanpa protein yang digunakan setelah proses ini

diperoleh kitin sebanyak 22,60 g. Jadi pada penelitian ini diperoleh rendemen kitin sebesar 68,59 %.

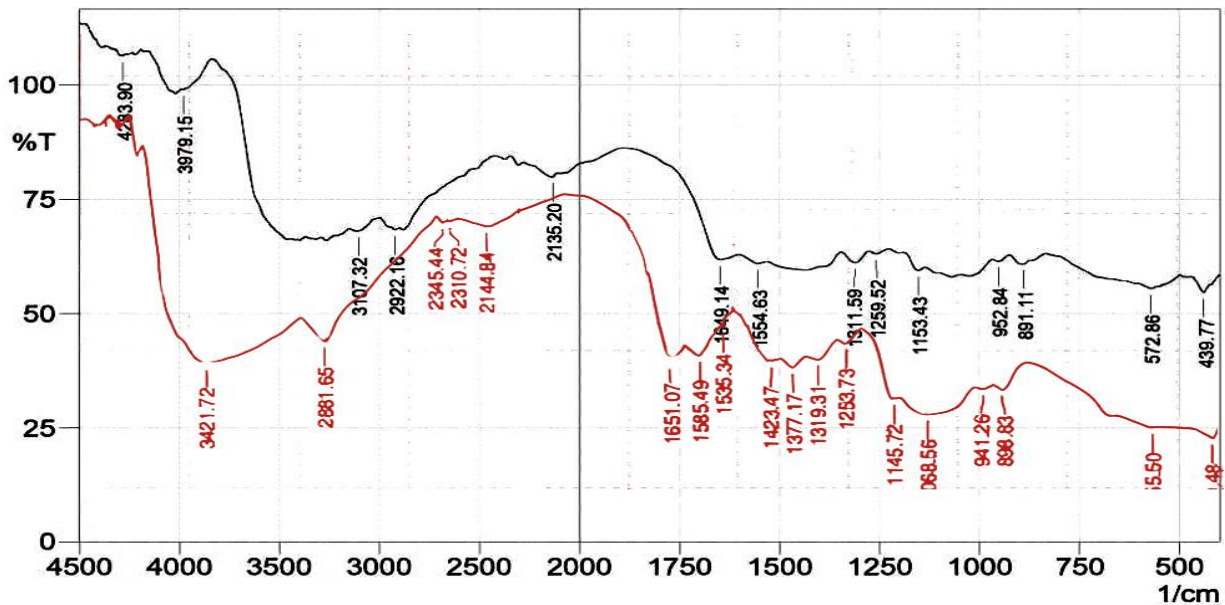
Deasetilasi

Transformasi kitin menjadi kitosan melalui proses deasetilasi. Proses deasetilasi merupakan proses penghilangan gugus asetil ($-\text{COCH}_3$) dari kitin dengan menggunakan larutan alkali agar berubah menjadi gugus amina ($-\text{NH}_2$). Kitin mempunyai struktur kristalin yang panjang dengan ikatan hidrogen yang kuat antara atom nitrogen dan gugus karboksilat pada rantai bersebelahan. Pemutusan ikatan antara gugus asetil dengan gugus nitrogen sehingga berubah menjadi gugus amina ($-\text{NH}_2$) perlu digunakan natrium hidroksida dengan konsentrasi 60%. Penggunaan larutan alkali dengan konsentrasi yang tinggi serta suhu tinggi selama proses deasetilasi dapat mempengaruhi besarnya derajat deasetilasi yang dihasilkan. Hal ini membuktikan bahwa semakin besar konsentrasi semakin banyak zat-zat yang bereaksi dan semakin besar kemungkinan terjadinya tumbukan. Proses deasetilasi dalam basa kuat dan panas menyebabkan hilangnya gugus asetil pada kitin mengakibatkan kitosan bermuatan positif sehingga dapat larut dalam asam organik seperti asam asetat ataupun asam formiat. Reaksi pembentukan kitosan dari kitin merupakan reaksi hidrolisis suatu amida oleh suatu basa. Kitin bertindak sebagai amida dan NaOH sebagai basanya. Mula-mula terjadi reaksi adisi, pada proses ini gugus-OH- masuk ke dalam gugus NHCOCH_3 kemudian

terjadi eliminasi gugus CH_3COO^- sehingga dihasilkan suatu amina yaitu kitosan. Kitosan yang dihasilkan sebanyak 11,5 g dari serbuk kitin awal yang digunakan pada proses . deasetilasi 22,60 g, terjadi pengurangan massa akibat mengalami proses deasetilasi sehingga diperoleh presentase transformasi kitin menjadi kitosan sebesar 50,88%.

Analisa Gugus Fungsi Menggunakan FTIR

Berdasarkan Spektra diatas dapat di analisa bilangan gelombang pada vibrasi pembengkokan O-H tumpang tindih Vibrasi peregangan simetris N-H adalah 3396,64 cm^{-1} . Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 2885,51 cm^{-1} menunjukkan vibrasi peregangan simetris C-H alifatik. Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1651,07 cm^{-1} menunjukkan vibrasi peregangan C=O [amida sekunder] . Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1560,41 cm^{-1} menunjukkan vibrasi peregangan C=O (protonasi amida sekunder). Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1413,81 cm^{-1} menunjukkan vibrasi peregangan C-H. Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1265,30 cm^{-1} menunjukkan vibrasi peregangan C-O. Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1205,51 cm^{-1} menunjukkan vibrasi peregangan C-N. Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1068,56 cm^{-1} menunjukkan vibrasi peregangan C-O-C. Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 866,04 cm^{-1} menunjukkan Vibrasi ulur β -1,4-glikosidik.



Gambar 1. Hasil analisa FTIR dari kitosan cangkang lobster

Karakterisasi Kitosan Dari Cangkang Lobster Air Tawar

Hasil Karakterisasi kitosan meliputi kadar air yang diperoleh sebesar 5,9 %,Kadar abu dari kitosan sebesar 0,67 %, Hasil Uji kelarutan kitosan menggunakan asam asetat glasial 2 % teridentifikasi larut, Tekstur dari kitosan yang diperoleh adalah berbentuk serbuk , warna dari kitosan yang diperoleh berwarna putih kekuningan dan aroma yang di hasilkan tidak berbau

Berdasarkan Uraian diatas, kitosan yang diperoleh telah memenuhi nilai standar sehingga dapat digunakan untuk berbagai aplikasi. Kitosan yang dihasilkan memiliki kadar air sebesar 5,9 %, hal ini menunjukkan bahwa kitosan yang dihasilkan telah memenuhi standar mutu kadar air kitosan yaitu <10 %. Kadar air pada kitosan dipengaruhi oleh proses

keberhasilan pada saat pengeringan, lama pengeringan yang dilakukan, jumlah kitosan yang dikeringkan dan luas permukaan tempat kitosan yang dikeringkan. Hasil kadar abu yang diperoleh yaitu 0,67 %, hal ini menunjukkan bahwa kitosan yang dihasilkan telah memenuhi standar mutu kadar abu kitosan yang telah ditetapkan oleh Protan Biopolimer yaitu sebesar ≤ 2 %.

Kelarutan Kitosan

Kitosan dalam asam asetat glasial merupakan salah satu parameter yang dapat dijadikan sebagai standar penilaian mutu kitosan. Semakin tinggi kelarutan kitosan dalam asam asetat glasial 2 % (2 gr/100 ml) berarti mutu kitosan yang dihasilkan semakin baik. Kitosan yang dihasilkan memiliki kelarutan yang sempurna dalam asam asetat glasial 2 %. Hasil kelarutan kitosan dari cangkang lobster air tawar dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil Kelarutan Kitosan

Pelarut	Derajat Kelarutan
Aquadest	Tidak larut
Aquadest dipanaskan	Tidak larut
Alkohol	Tidak larut
Asam asetat 2 %	Larut

KESIMPULAN

Cangkang lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) yang diperoleh dari perairan Danau Toba Haranggaol, Sumatera Utara dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan kitosan dan telah memenuhi standar kitosan (SNI 7949:2013) dengan persentase derajat deasetilasi kitosan yang memenuhi standar (>60%) yaitu 80,25 %

DAFTAR PUSTAKA

1. Rani Z, Nasution HM, Kaban VE, Nasri N, Karo NB. Antibacterial activity of freshwater lobster (*Cherax quadricarinatus*) shell chitosan gel preparation against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2023;13(2):146-53.
2. Nurhayati N, Ridwanto R, Daulay AS, Syahputra RA, Rani Z. Utilization Of Chitosan As A Natural Preservative Against Catfish. *International Journal of Science, Technology & Management*. 2022;3(5):1396-401.
3. Ridwanto R, Rosa VD, Rani Z, Fauzi ZPA. Utilization of Chitosan from Fresh Water Lobster (*Cherax quadricarinatus*) Shells in Anti-Acne Gel Preparations. *Trends in Sciences*. 2024;21(2):7243-7243.
4. Sepvina NI, Ridwanto R, Rani Z. Uji Toksisitas Kitosan Cangkang Kerang Bulu (*Anadara antiquata*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 2022;7(2):380-9.
5. Ariyanti A, Masruriati E, Imadahidayah T, Sulistianingsih EN. Pemanfaatan kitosan dari cangkang kerang bulu (*Anadara antiquata*) sebagai pengawet ikan pari (*Dasyatis sp.*) dan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Riset Informasi Kesehatan*. 2020;9(1):12-21.
6. Ridwanto R, Pratiwi A, Rani Z. Isolation and Toxicity Test of Chitosan from Green Mussels (*Perna viridis* L.) With Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2023;5(5):759-65.
7. Agustina S, Kurniasih Y. Pembuatan kitosan dari cangkang udang dan aplikasinya sebagai adsorben untuk menurunkan kadar logam Cu. In: *Prosiding Seminar Nasional MIPA*. 2013.
8. Rizki D, Rani Z. Isolasi Dan Identifikasi Kitosan Dari Cangkang Kerang Bulu (*Anadara antiquata*). *Media Farmasi*. 2023;19(2):74-80.
9. Ridwanto R, Saragih DS, Rani Z, Pulungan AF, Syahputra RA, Kaban VE, et al. TOXICITY TEST OF VANAME SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) SKIN CHITOSAN USING BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) METHOD. *Rasayan Journal of Chemistry*. 2023;16(4).
10. Aditia RP, Pratama G, Munandar A, Surilayani D, Haryati S, Rizky JA, et al. KARAKTERISASI KITOSAN KOMBINASI CANGKANG KERANG HIJAU (*Perna viridis*) DAN CANGKANG RAJUNGAN (*Portunus pelagicus*) ASAL BANTEN, INDONESIA. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 2023;12(2):173-85.
11. Agustina S, Swantara IMD, Suartha IN. Isolasi kitin, karakterisasi, dan sintesis

- kitosan dari kulit udang. *Jurnal Kimia*. 2015;9(2):271-8.
12. Arsyi NZ, Nurjannah E, Nurahlina D, Budiyati E. Karakterisasi nano kitosan dari cangkang kerang hijau dengan metode gelasi ionik. *Jurnal Teknologi Bahan Alam*. 2018;2(2):106-11.